

12. Luglio

Approccio optogenetico wireless nella terapia della vescica iperattiva

*In principio non c'era nulla.
Dio disse: 'Sia la luce!' E la luce fu.
Non c'era ancora niente,
ma si vedeva molto meglio.*
Ellen DeGeneres

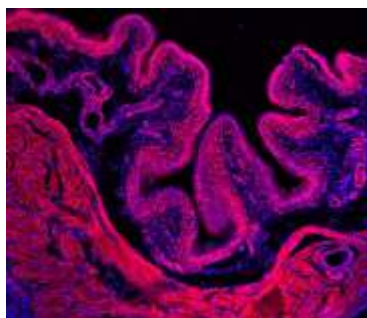
La maggior parte dei ricercatori concorda sul fatto che il principale ostacolo alla ricerca di trattamenti più efficaci per la **sindrome della vescica iperattiva** è che la diagnosi è molto confusa: anziché un singolo disturbo, si tratta di un gruppo di sintomi vaghi che possono essere causati da molte condizioni diverse, dal **morbo di Parkinson** alla **lesione del midollo spinale**, **al diabete**, a **nessuna delle precedenti**.

Tuttavia i casi spesso vengono raggruppati insieme e discussi come se fossero tutti la stessa condizione.



Aaron Mickle del *Medical College of Wisconsin* sta studiando come diverse condizioni influenzano la mucosa della vescica, **l'urotelio**, uno strato di tessuto morbido e auto-rinnovabile che può allungarsi e appiattirsi per adattarsi ai cambiamenti del volume della vescica.

Sebbene gli scienziati un tempo considerassero **l'urotelio** una barriera passiva che rende le pareti della vescica a tenuta stagna, ora è chiaro che svolge un ruolo chiave nel segnalare lo stiramento della vescica mentre si riempie.



Uno dei motivi per cui **l'urotelio** è così sensibile è che molte delle sue cellule contengono **diversi tipi di canali ionici** attivati meccanicamente, proteine che si trovano nelle membrane cellulari e funzionano come canali nella cellula.



Kate Poole, fisiologa presso l'Università del Nuovo Galles del Sud in

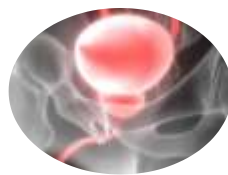
Aallungata, haspinta dimostrato altriamenti
deformata, questi canali si aprono, consentendo agli ioni caricati positivamente di fluire all'interno della cellula,

The Diverse Physiological Functions of Mechanically Activated Ion Channels in Mammals.

**ANNUAL REVIEW OF PHYSIOLOGY
Volume 84, 2022**

I neuroni sensoriali che si estendono **nell'urotelio** contengono questi canali di rilevamento della forza; quando l'afflusso di ioni positivi raggiunge una certa soglia in questi nervi, comunicano direttamente con i nervi nella spina dorsale e nel cervello attraverso impulsi elettrici. Curiosamente, tuttavia, le cellule non neuronali nell'urotelio contengono anche una varietà di canali ionici attivati meccanicamente, il che suggerisce che anche loro possono segnalare la pienezza della vescica.

Nel 2023, il **team di Mickle** ha utilizzato **l'optogenetica**, in cui **la scarica di un raggio laser** attiva o disattiva da remoto cellule selezionate negli animali, per stimolare selettivamente alcune di queste cellule uroteliali non neuronali. Ciò è stato sufficiente per attivare i neuroni sensoriali e innescare le contrazioni della vescica.

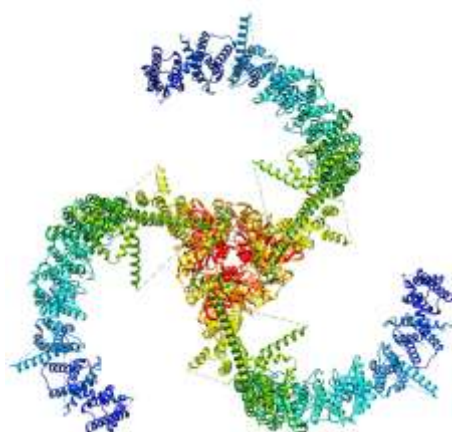


Mickle spera di sviluppare un **sistema optogenetico wireless** che monitori e modifichi costantemente l'attività di specifici tipi di cellule della vescica nelle persone. (Sebbene la tecnica optogenetica sia stata finora utilizzata principalmente negli animali da laboratorio, i ricercatori stanno ora esplorando il suo utilizzo negli esseri umani.)

Altri gruppi stanno studiando come i farmaci colpiscono i canali di rilevamento della forza nelle cellule della vescica, così come altri canali che si aprono in risposta a varie sostanze chimiche e ormoni di segnalazione nervosa.

Le molecole di mecano-trasduzione e i tipi di cellule che funzionano come rilevatori primari di stiramento e pressione nel tratto urinario rimangono per lo più sconosciuti, in particolare l'espressione del **canale ionico mecano-sensibile PIEZO2** nei tessuti del tratto urinario inferiore,

dove è necessario per il rilevamento dello stiramento della vescica a bassa soglia e per i riflessi della minzione uretrale.



Numerose evidenze riportano che **PIEZO2** agisce come sensore sia nell'urotelio della vescica che nei neuroni sensoriali che innervano. Gli esseri umani e i topi privi di **PIEZO2** funzionale hanno un controllo della vescica compromesso e gli esseri umani privi di **PIEZO2** funzionale riportano una sensazione di riempimento della vescica carente. Complessivamente **PIEZO2** è un **meccanosensore chiave** nella funzione urinaria.

I ricercatori del **Howard Hughes Medical Institute, Dipartimento di Neuroscienze, Dorris Neuroscience Center, The Scripps Research Institute**, La Jolla



nel report :

Marshall KL et al.

PIEZO2 in sensory neurons and urothelial cells coordinates urination.

Nature. 2020 Dec;588(7837):290-295.

ha dimostrato che oltre ad altri deficit profondi, come difficoltà a camminare, le persone con una rara mutazione che colpisce i canali Piezo2, hanno difficoltà a percepire il riempimento della vescica. Alcuni devono urinare secondo un programma stabilito o premere fisicamente sulla vescica per urinare.

L'interesse per i canali Piezo2 è che sono "**intrinsecamente farmacologici**", il che significa che i ricercatori possono spesso trovare piccole molecole che li accenderanno o spegneranno anche se normalmente rispondono a stimoli meccanici.

Ma c'è anche un aspetto negativo: come altri canali ionici che i ricercatori hanno cercato di colpire nella vescica, i **canali Piezo2** si trovano in tutto il corpo, compresi polmoni, articolazioni e cuore. Di conseguenza, qualsiasi farmaco che agisca sui canali nella vescica probabilmente colpirà altre parti del corpo, causando problemi di sicurezza.

Mickle indica una sperimentazione clinica per un farmaco che ha funzionato su un altro tipo di canali ionici nella vescica, quelli che lasciano entrare gli ioni potassio nelle cellule, ma che ha dovuto essere interrotto perché si è scoperto che causava problemi al fegato.

C'è almeno un modo per superare quell'ostacolo, almeno in teoria: **terapie geniche** che prendono di mira specificamente il tessuto della vescica perché sono state iniettate direttamente nel muscolo detrusore o sono state infuse tramite catetere nell'uretra.

Nel 2023, gli scienziati hanno pubblicato dati preliminari ma incoraggianti da una sperimentazione clinica con 67 pazienti di una terapia genetica che prende di mira i canali del potassio della vescica. Sebbene gli scienziati che si concentrano sulla vescica e sul tratto urinario abbiano tradizionalmente lavorato separatamente da coloro che studiano il midollo spinale e il cervello, questi campi a lungo isolati stanno iniziando a collegarsi e collaborare, mettendo insieme più pezzi del puzzle cervello-vescica.

Mickle, sta attualmente collaborando con un laboratorio di neuroimaging che lo aiuterà a osservare come il cervello di un topo risponde alla **stimolazione optogenetica** delle sue cellule uroteliali.

XENOTRAPIANTI

Una battuta di arresto

Lisa Pisano, una paziente che ha ricevuto un trapianto di rene di maiale presso la NYU Langone Health di New York, è stato rimosso, il 31 maggio, dopo 47 giorni a causa di complicazioni.

Il cuore e i polmoni della signora Pisano hanno iniziato a cedere quando i chirurghi della New York University Langone hanno proceduto a inserire una pompa cardiaca meccanica insieme al rene di maiale, per vedere se le sue condizioni sarebbero migliorate, ma la combinazione dei due ha presentato "sfide uniche" per la donna. paziente, secondo Robert Montgomery, MD, direttore del Transplant Institute della NYU Langone. Tuttavia, a causa di "lesioni significative" dovute a un flusso sanguigno insufficiente, il rene del maiale è stato rimosso. Il paziente è stabile dopo la rimozione, secondo la NYU Langone. Ora tornerà in dialisi.

Richard Slayman, un paziente del Massachusetts General Hospital di Boston, è stato il primo paziente a ricevere un rene di maiale. Morì a maggio, quasi due mesi dopo l'intervento iniziale.

Le équipe chirurgiche della NYU Langone Health hanno già eseguito alcune prime operazioni al mondo di trapianti di organo da maiale ad essere umani

I team chirurgici della NYU Langone Health hanno eseguito i primi trapianti di rene di maiale geneticamente modificato al mondo in un corpo umano a settembre e novembre 2021, e poi hanno trapiantato due cuori di maiale nell'estate del 2022. Queste procedure sono state eseguite su pazienti dichiarati morti in base a criteri neurologici (deceduti) e mantenuti sotto ventilazione con il consenso delle loro famiglie. A dimostrazione dei progressi del campo, nell'aprile 2024 la NYU Langone ha trapiantato un rene di maiale in un paziente vivente.

Ora due nuove analisi, una pubblicata il **21 maggio su Med** e l'altra pubblicata online il **17 maggio su Nature Medicine**, rivelano cambiamenti a livello di singole cellule negli organi e nei corpi dei riceventi prima, durante e subito dopo gli interventi di xenotrapianto nei defunti. Team di scienziati hanno lavorato a fianco dei chirurghi, prelevando campioni di sangue e tessuti per analizzare i cambiamenti in decine di migliaia di cellule raccolte.

MED e NATURE MEDICINE

Guidato dai ricercatori della NYU Grossman School of Medicine e del Broad Institute del MIT e della Harvard University, il documento Med ha tracciato l'attività genetica e cellulare nei due reni di maiale trapiantati in esseri umani e li ha confrontati con campioni di reni di maiale che non erano stati trapiantati. Per farlo, il team di ricerca ha utilizzato diverse tecniche, tra **cui il sequenziamento dell'RNA a cellula singola**, che ha determinato l'ordine (sequenza) delle lettere molecolari che compongono i geni di maiale e umani attivi in vari tipi di cellule durante le procedure.

Lo studio ha dimostrato che i reni di maiale trapiantati, sebbene non siano stati rigettati direttamente dai corpi dei riceventi (non c'è stata un'insufficienza renale immediata), hanno causato una forte reazione nelle cellule mononucleari del sangue periferico umano (PBMC), un insieme di cellule immunitarie che attaccano gli organi trapiantati (estranei) proprio come attaccano gli invasori stranieri, come i virus. Mentre non è stato osservato un rigetto immediato, in parte a causa del trattamento con farmaci che lo sopprimono, il nuovo studio ha trovato prove di reazioni più sottili che potrebbero causare il fallimento degli xenotrapianti nel tempo.

Nello specifico, è stato osservato che i reni di maiale innescano un **"rigetto mediato da anticorpi"** a livello molecolare. Quando il corpo sviluppa proteine immunitarie chiamate anticorpi specifici per un organo trapiantato, reclutano cellule natural killer, macrofagi e cellule T che possono danneggiarlo. Il team ha anche osservato un aumento nei reni di maiale dei meccanismi di riparazione dei tessuti, in cui alcune cellule si moltiplicano come parte della crescita coinvolta nella guarigione. Anche le cellule normali che si trasformano in cellule cancerose crescono in modo aggressivo, quindi il meccanismo merita di essere osservato.

"Abbiamo descritto in dettaglio i meccanismi cellulari che determinano come le cellule immunitarie umane reagiscono a uno xenotrapianto a breve termine", ha affermato Jef D. Boeke, PhD, coautore senior di entrambi gli studi e direttore dell'Institute for Systems Genetics presso la NYU Grossman School of Medicine. "Questi risultati ci offrono nuove intuizioni su come potremmo ulteriormente progettare organi di maiale per il trapianto o adattare i trattamenti di immunosoppressione per migliorare la tolleranza di un organo estraneo".

Monitorando l'interazione tra i reni e il sistema umano più volte al giorno, i ricercatori hanno scoperto che le cellule immunitarie degli organi di maiale guidavano le reazioni subito dopo il trapianto, ma che le cellule immunitarie umane si infiltravano negli organi di maiale entro 48 ore per dominare la segnalazione. Misurare il grado in cui le cellule immunitarie di maiale innescano la prima ondata di attacco immunitario ai trapianti (xenotrapianti) modellerà gli sforzi per prevenire danni cellulari irreversibili a loro in futuro, affermano gli autori dello studio.

L'altro nuovo articolo, pubblicato su **Nature Medicine**, presentava un'analisi "multiomica" dei cuori di maiale e delle cellule umane circostanti nei defunti. Ciò includeva analisi ogni sei ore dopo il trapianto dell'attività genica (trascrittomica), nonché proteine (proteomica), lipidi e metaboliti (intermedi nei percorsi biologici) presenti nelle cellule.

Rapidi e massicci aumenti del numero di determinati tipi di cellule sono stati osservati anche nei defunti che avevano ricevuto cuori di maiale. In D1, uno dei defunti umani, ma non nell'altro, le popolazioni di cellule T e cellule natural killer (NK) attivate all'interno del gruppo PBMC sono aumentate da circa l'1 per cento 30 ore dopo il trapianto a oltre il 20 per cento dell'intera popolazione PBMC 66 ore dopo la procedura. Questa drammatica reazione immunitaria all'organo, una complicazione chiamata disfunzione xenotrapianto cardiaca perioperatoria (PCXD), è stata accompagnata da un'ondata dannosa di cellule immunitarie (infiammazione) e da tentativi di guarigione malfunzionanti (rimodellamento dei tessuti) che ispessiscono i tessuti e possono ostacolarne la funzionalità.

I peggiori risultati sperimentati dal defunto potrebbero essere in parte dovuti al fatto che questo cuore era più piccolo del previsto per le dimensioni del ricevente e ha richiesto una procedura extra per compensarlo, hanno affermato i ricercatori. Questi fattori potrebbero aver interrotto il flusso di sangue e ossigeno al cuore per un periodo più lungo, il che è noto per causare danni da ischemia-riperfusion quando l'apporto viene ripristinato. Il team di ricerca ha osservato che i cambiamenti immunitari correlati al PCXD sono peggiorati in presenza di danni da riperfusion. *"Questo studio ha dimostrato che la multiomica può essere utilizzata per rivelare un quadro generale di ciò che accade nel ricevente di uno xenotrapianto", ha affermato Brendan Keating, PhD, coautore senior di entrambi gli studi e membro della facoltà del Dipartimento di Chirurgia presso la NYU Grossman School of Medicine. "Il team che ha eseguito lo xenotrapianto aveva diverse teorie sul perché il primo defunto avesse più problemi, ma la multiomica ha contribuito a definire le complicazioni e potrebbe essere utilizzata per contrastarle in futuro".*