Il rimodellamento epiteliale nell'asma e nella Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO)

Giuseppina Chiappara
Paola Dino
Claudia Sangiorgi
Elisabetta Pace

Il rimodellamento delle vie aeree è un termine usato per descrivere le alterazioni strutturali che si riscontrano in determinati quadri patologici e che riflettono un processo dinamico di ristrutturazione nel corso di un processo di riparazione tissutale. Le evidenze scientifiche sin qui accumulate dimostrano un ruolo rilevante del rimodellamento epiteliale nella patogenesi e nel danno riscontrato in patologie infiammatorie e ostruttive delle vie aeree come l'asma bronchiale e la Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO).

Asma

Le strutture delle vie aeree coinvolte nel processo di rimodellamento sono diverse ed è possibile osservare: alterazioni epiteliali con massivo distacco dello strato superficiale (*shedding*), attivazione dei processi di transizione epitelio-mesenchimale con ispessimento della membrana basale, iperplasia e ipertrofia delle *goblet cells* e delle fibrocellule muscolari, neoangiogenesi. Le evidenze scientifiche degli ultimi anni hanno sempre più consolidato il concetto che le alterazioni epiteliali sono responsabili dei cambiamenti che subiscono le altre componenti tissutali coinvolte nel processo di rimodellamento. Nell'asma le alterazioni strutturali e funzionali dell'epitelio di rivestimento sono caratterizzate sia da un incremento dell'espressione di marcatori infiammatori sia dal rilascio di chemiochine e citochine pro-infiammatorie. L'**infiammazione nell'asma** è caratterizzata dal reclutamento e dall'attivazione di cellule infiammatorie all'interno delle vie aeree. Il contributo dell'epitelio nell'attivazione dei fenomeni infiammatori è fondamentale. In soggetti asmatici, specialmen-

Istituto per la Ricerca e l'Innovazione Biomedica (IRIB), Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Palermo, *giuseppina.chiappara@irib.cnr.it, elisabetta.pace@irib.cnr.it*

te se gravi, l'epitelio bronchiale esprime fattori di trascrizione pro-infiammatori, quali NF-κB e CREB. Entrambi i fattori di trascrizione inducono l'acetilazione della cromatina e la trascrizione dei geni pro-infiammatori, portando a un'infiammazione persistente. L'aumentata espressione di CREB fosforilato (p), quindi attivato, è presente nell'epitelio bronchiale ed è positivamente correlata con l'infiltrazione dei leucociti all'interno dei bronchi (cellule CD45RB+), pertanto l'attivazione dell'epitelio bronchiale gioca un ruolo cruciale nel reclutamento e nell'attivazione dei leucociti all'interno delle vie aeree. Inoltre, la maggiore espressione del p-CREB nelle cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) di soggetti asmatici, non trattati e gravi, suggerirebbe che alcuni degli eventi molecolari, coinvolti nella patogenesi dell'asma, possano essere valutati anche nei compartimenti sistemici[1]. Fra i leucociti reclutati un ruolo determinante nel danno è promosso dagli eosinofili che rilasciano mediatori direttamente coinvolti sia nel danno che nel rimodellamento (TGF-β) delle vie aeree.

L'insulto infiammatorio innescato dall'esposizione ad agenti esogeni (allergeni, inquinanti e irritanti) è amplificato e perpetuato dall'attivazione pro-infiammatoria dell'epitelio determinando quindi un danno che promuove fenomeni riparativi epiteliali.

La **riparazione dell'epitelio bronchiale** dagli effetti nocivi è supportata dall'osservazione morfologica delle biopsie che consente di individuare le "cellule epiteliali residuali", le quali non sono desquamate e appaiono strutturalmente adese alla membrana basale; una sorta di "cellula staminale", con il ruolo di attivare il ciclo di riparazione cellulare conseguente a un danno verificatosi dopo un insulto infiammatorio[2]. Queste analisi morfologiche hanno mostrato che il numero delle cellule epiteliali apoptotiche è molto esiguo; infatti, nell'epitelio di soggetti asmatici e normali le cellule epiteliali residuali, che non sono desquamate, non mostrano una cospicua trasformazione in cellule apoptotiche. Questo è in accordo con la esigua espressione del **p53**, una molecola pro-apoptotica espressa nell'epitelio di soggetti normali e asmatici. La positività della p53, in ***imbalance*** con una elevata espressione del **Bcl-2**, molecola caratterizzata da proprietà anti-apoptotiche, gioca un ruolo fondamentale nello sviluppo, nella sopravvivenza e nel differenziamento cel-

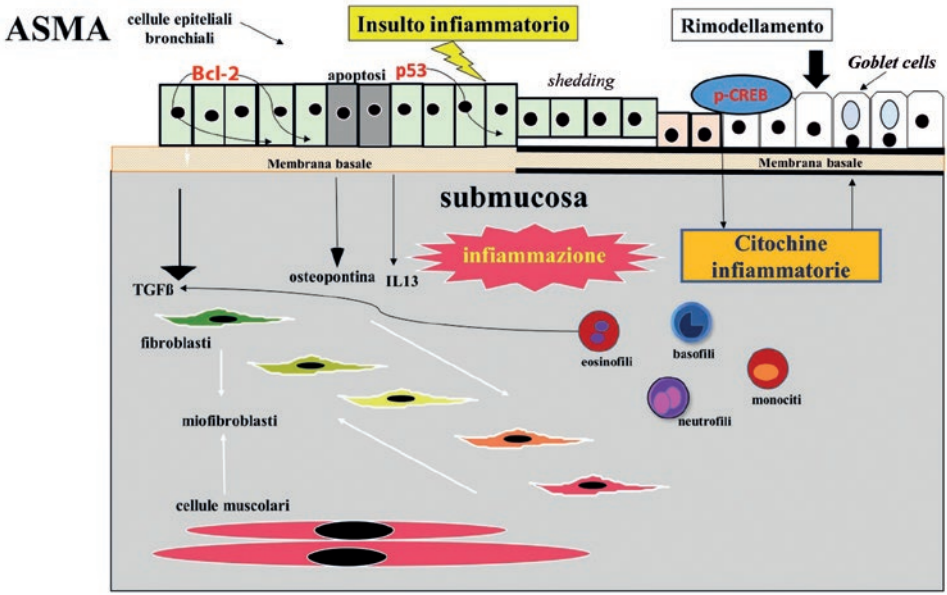

Figura 1. Rimodellamento epiteliale nell'asma bronchiale. L'insulto infiammatorio provoca a livello dell'epitelio delle vie aeree distacco di elementi cellulari (*shedding*), aumento della espressione di molecole anti-apoptotiche (Bcl-2) e riduzione di molecole pro-apoptotiche (p53) con conseguente alterazione della sopravvivenza e del differenziamento cellulare (incremento di *goblet cells*). Il rilascio del TGF-β e di IL13, dall'epitelio a seguito di un danno, conduce all'attivazione dei fibroblasti. L'espressione del fattore trascrizionale p-CREB contribuisce al reclutamento di leucociti nella sottomucosa e al rilascio di citochine infiammatorie. Inoltre, tra i leucociti reclutati, gli eosinofili contribuiscono a un ulteriore rilascio di TGF-β nel distretto della sottomucosa.

lulare. Nei soggetti trattati con corticosteroidi inalatori (ICS) e in soggetti asmatici dipendenti dai corticosteroidi sistemici, si osserva un incremento dell'espressione del Bcl-2 distribuito, omogeneamente, nello strato dell'epitelio bronchiale. L'epitelio a seguito di un danno, inoltre, rilascia diversi mediatori come TGF-β, IL-13, osteopontina e altri mediatori che attivano l'unità trofica epitelio-mesenchimale con attivazione dei fibroblasti e deposizione di matrice extracellulare. Tuttavia, questi meccanismi protettivi potrebbero non essere sempre sufficienti e potrebbero permanere inopportunamente attivi portando al rimodellamento delle vie aeree dei soggetti asmatici[2]. Il rimodellamento delle vie aeree nell'asma, pertanto, può considerarsi il fallimento dell'efficienza dei fenomeni riparativi epiteliali cui conseguirebbe un'alterazione della funzione di barriera dell'epitelio che favorirebbe un più massivo accesso ad allergeni e ad agenti infettanti con ulteriore amplificazione dell'infiammazione e del danno.

In Figura 1 sono riportati gli eventi molecolari prima descritti sul ruolo delle alterazioni epiteliali nella patogenesi dell'asma bronchiale.

BPCO

Nella BPCO l'epitelio bronchiale ha altresì un ruolo fondamentale nel coordinare le principali risposte osservate agli stimoli

esogeni fra cui principalmente il fumo di sigaretta. Questo, oltre a promuovere una risposta infiammatoria correlata a elevato *stress* ossidativo, innesca anomalie nella differenziazione dell'epitelio[3].

Le alterazioni dell'epitelio nelle vie aeree, tra cui la metaplasia a cellule squamose, la iperplasia a cellule *goblet* e basali, sono spesso presenti nei fumatori con e senza BPCO. In particolare, la metaplasia è degna di attenzione in quanto è considerata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) una lesione pre-invasiva del cancro al polmone. La differenziazione nei diversi tipi di tessuto, come nell'epitelio squamoso, è associata a un'alterata espressione della **molecola p21Waf1** che gioca certamente un ruolo di sensore per lo *stress* ossidativo indotto dal fumo di sigaretta. Nelle vie aeree dei fumatori, con e senza BPCO, l'espressione e la distribuzione sub-cellulare del p21 possono quindi giocare un ruolo importante nel "***remodelling* cellulare**", determinato dallo squilibrio tra apoptosi, proliferazione e differenziazione cellulare, conducendo a una conseguente trasformazione dell'epitelio bronchiale verso la metaplasia squamosa, nella quale il p21 si identifica come un marcatore pre-oncogenico[3].

La localizzazione intracellulare del **p21** (**nucleare** o **citoplasmatico**) esercita delle funzioni diverse in quanto l'attività del **p21 nucleare** induce l'arresto del ciclo cellulare, bloccando la replicazione del DNA e legandosi all'antigene nucleare della proliferazione cellulare (PCNA), mentre l'at-

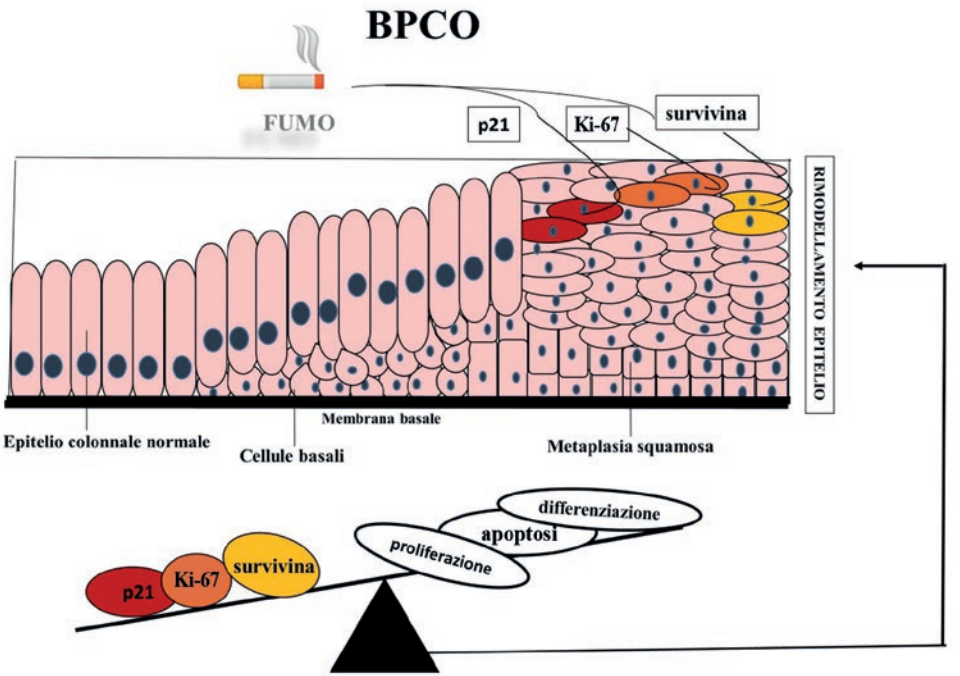

Figura 2. Rimodellamento epiteliale nella BPCO. Il fumo di sigaretta sull'epitelio bronchiale aumenta l'espressione del p21 (anti-apoptotico), della survivina e del Ki-67 (marcatori correlati a patologie neoplastiche). La proliferazione cellulare incontrollata delle cellule danneggiate, in assenza di una adeguata apoptosi (morte cellulare), rimodella morfologicamente l'epitelio bronchiale in metaplasia squamosa.

tività del **p21 citoplasmatico** può essere sia pro-apoptotica che anti-apoptotica, secondo i diversi fenotipi cellulari. Tuttavia, nella BPCO sembra prevalere il ruolo anti-apoptotico del p21 anche se i meccanismi molecolari attraverso i quali questa molecola antagonizza l'apoptosi sono ancora sconosciuti[3]. Il fumo di sigaretta in questo contesto potrebbe svolgere un ruolo determinante. Infatti, i macrofagi alveolari e le cellule epiteliali bronchiali dei fumatori esprimono una ridotta apoptosi e un'aumentata espressione del p21 citoplasmatico[3]. Dati ottenuti *in vitro*, su una linea di cellule epiteliali bronchiali, hanno dimostrato che l'estratto del fumo di sigaretta (CSE) aumenta l'espressione del p21 nucleare e citoplasmatico, non induce espressione di caspase-3 (apoptosi cellulare) e incrementa la survivina, con conseguente riduzione della proliferazione cellulare. L'**epitelio squamoso metaplastico** di fumatori e fumatori BPCO ha una incrementata immunoreattività del p21 citoplasmatico, p21 nucleare e della survivina; di contro, la immunoreattività del PCNA è ridotta. Esiste una correlazione negativa tra il p21 nucleare e il marcatore di proliferazione cellulare PCNA, mentre vi è una correlazione positiva tra il p21 citoplasmatico e il marcatore Ki-67, il quale è spesso correlato a patologie neoplastiche. In Figura 2 sono riportate le alterazioni epiteliali sopra descritte e rilevanti nella patogenesi della BPCO.

Prospettive future

Nell'asma grave, la regolazione di fattori di trascrizione come CREB, che amplificano il danno tissutale per il persistere dell'infiammazione, appare necessaria. L'inibizione del CREB potrebbe essere mediata o attraverso l'impiego di piccole molecole con funzione antagonista come il KG-501 o anche tramite l'uso di microRNA regolatori che ne inibiscono l'espressione e l'attività[4]. Questo approccio, tuttavia, dovrà essere validato in futuro in studi *in vivo* dedicati a forme severe di asma bronchiale.

Nell'ambito della BPCO, potrebbero essere innovativi nuovi metodi di attenuazione dei livelli della proteina p21. Gli inibitori della piccola molecola di p21, come sorafenib[5] o UC2288, godono di alcune proprietà, quali la permeabilità cellulare, la maggiore stabilità, la facilità di produzione e la somministrazione per via orale. Gli effetti esercitati da questi composti, sembrano essere indipendenti dal p53, una proprietà che potrebbe essere clinicamente rilevante, poiché i livelli e la funzione del p53 verrebbero preservati, essendo il p53 il "guardiano del genoma"[5]. Le future applicazioni degli inibitori (UC2288 e tigeciclina) della molecola del p21 potrebbero quindi apportare nuovi vantaggi clinici, in soggetti fumatori, nella BPCO e nella fibrosi polmonare idiopatica (IPF).

Bibliografia

1) Chiappara G, Chanez P, Bruno A, et al. *Variable p-CREB expression depicts different asthma phenotypes*. Allergy 2007;62:787-94.
2) Vignola AM, Chiappara G, Siena L, et al. *Proliferation and activation of bronchial epithelial cells in corticosteroid dependent asthma*. J Allergy Clin Immunol 2001;108:738-46.
3) Chiappara G, Gjomarkaj M, Virzì A, et al. *The role of p21 Waf1/Cip1 in large airway epithelium in smokers with and without COPD*. Biochim Biophys Acta 2013;1832:1473-81.
4) Steven A, Seliger B. *Control of CREB expression in tumors: from molecular mechanisms and signal transduction pathways to therapeutic target*. Oncotarget 2016;7:35454-65.
5) Liu R, Wettersten HI, Park SH, Weiss RH. *Small-molecule inhibitors of p21 as novel therapeutics for chemotherapy-resistant kidney cancer*. Future Med Chem 2013;5:991-4.