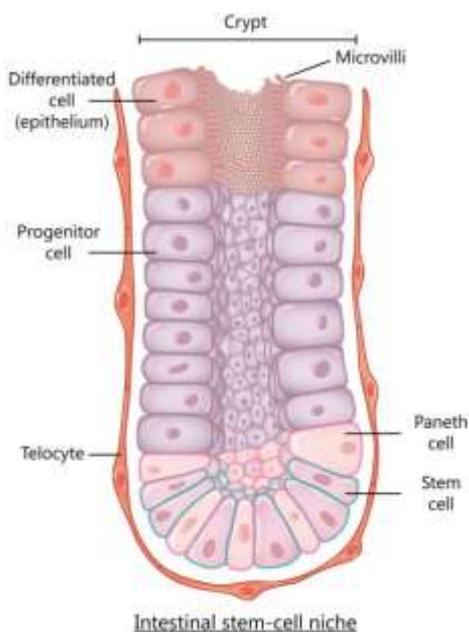


4. Dicembre

Il “meccanosensing PIEZO” regola il differenziamento nelle nicchie staminali intestinali

*La meccanica è il paradiso della matematica perché qui se ne possono cogliere i frutti.
Non c'è certezza nella scienza se la matematica non può esservi applicata,
o se non vi è comunque in relazione
Leonardo da Vinci*

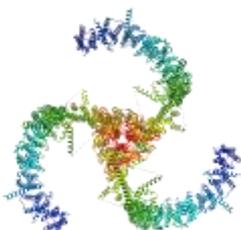
Il turnover e la rigenerazione dei tessuti sono orchestrati da cellule staminali che si differenziano e si auto-rinnovano. L'epitelio intestinale ha un continuo rinnovamento e una notevole capacità di rigenerarsi dopo lesioni acute e croniche.



Le **cellule staminali intestinali dei mammiferi (ISC)** si trovano in una struttura simile a una tasca chiamata cripta e rispondono ai segnali all'interno del loro microambiente per mantenere l'equilibrio di auto-rinnovamento, proliferazione e impegno di lignaggio. È quindi essenziale capire come le cellule staminali integrano i segnali di nicchia per mantenere l'omeostasi.

Oltre ai fattori biochimici, la **nicchia delle cellule staminali** è anche soggetta a segnali fisici che potrebbero influenzare il comportamento delle ISC. Tuttavia, il modo in cui le ISC integrano i segnali meccanici dalla loro nicchia in vivo rimane poco chiaro.

Le **cellule staminali** percepiscono e rispondono a segnali meccanici attraverso l'attivazione integrata di diversi percorsi di segnalazione. Questo **processo di mecano-trasduzione** porta a cambiamenti nella forma cellulare, nell'espressione genica e nel destino cellulare.



I canali ionici **PIEZO, PIEZO1 e PIEZO2**, sono importanti recettori di segnalazione mecano-sensibili. Questi canali si aprono in risposta a stimoli meccanici,

consentendo al calcio di fluire nella cellula, attivando percorsi di segnalazione a valle. *Piezo1* e *Piezo2* sono altamente espressi nelle cellule epiteliali intestinali dei mammiferi, il che rende i canali PIEZO forti candidati per la meccano-trasduzione di segnali estrinseci nelle ISC.



Pochi giorni fa il *Department of Molecular Genetics, University of Toronto* ha pubblicato il report

Baghdadi MB et al.

PIEZO-dependent mechanosensing is essential for intestinal stem cell fate decision and maintenance.

Science. 2024 Nov 29;386(6725):eadj7615.

Per definire i ruoli specifici dei **canali PIEZO** nelle **ISC**, è stato eseguito un'ablazione genetica condizionale in vivo dei **geni Piezo** nell'epitelio intestinale.

I topi con doppio knockout Piezo 1 e Piezo2 presentano una perdita di staminalità, che porta a una rapida letalità.

Attraverso l'analisi del **trascrittoma a singola cellula** delle cripte intestinali isolate dai topi con **knockout Piezo**, è stato dimostrato che le **ISC perdono la loro staminalità e acquisiscono un fenotipo altamente proliferativo che porta alla loro deplezione**. Inoltre, le cellule preesistenti multipotenti di amplificazione del transito si differenziano preferenzialmente **in progenitori assorbenti**, il che porta a una **carezza di cellule secretorie**.

Per definire i meccanismi sottostanti, è stata eseguita un'analisi di **sequenziamento dell'RNA a singola cellula (scRNA-seq) combinata con una coltura di organoidi tridimensionali (3D)** e dimostrato l'iperattivazione di NOTCH e l'inibizione della segnalazione WNT quando l'attività PIEZO è stata bloccata.

In questo modo sono stati identificati diversi **stimoli meccanici extracellulari** a monte che attivano **i canali PIEZO** nelle **ISC**.

La misurazione della rigidità della membrana basale nell'intestino tenue del topo **mediante microscopia a forza atomica** ha mostrato che le **ISC** sperimentano un microambiente più rigido sul fondo della cripta rispetto alle cellule nella parte superiore.

Monostrati di organoidi 2D coltivati su substrati bioingegnerizzati di rigidità variabili hanno mostrato che la **rigidità** regola il comportamento delle **ISC tramite PIEZO**.

Analogamente, la modulazione della tensione tissutale mediante monostrati 2D su un dispositivo di stretching ha rivelato che lo **stretching aumenta il numero di ISC**.

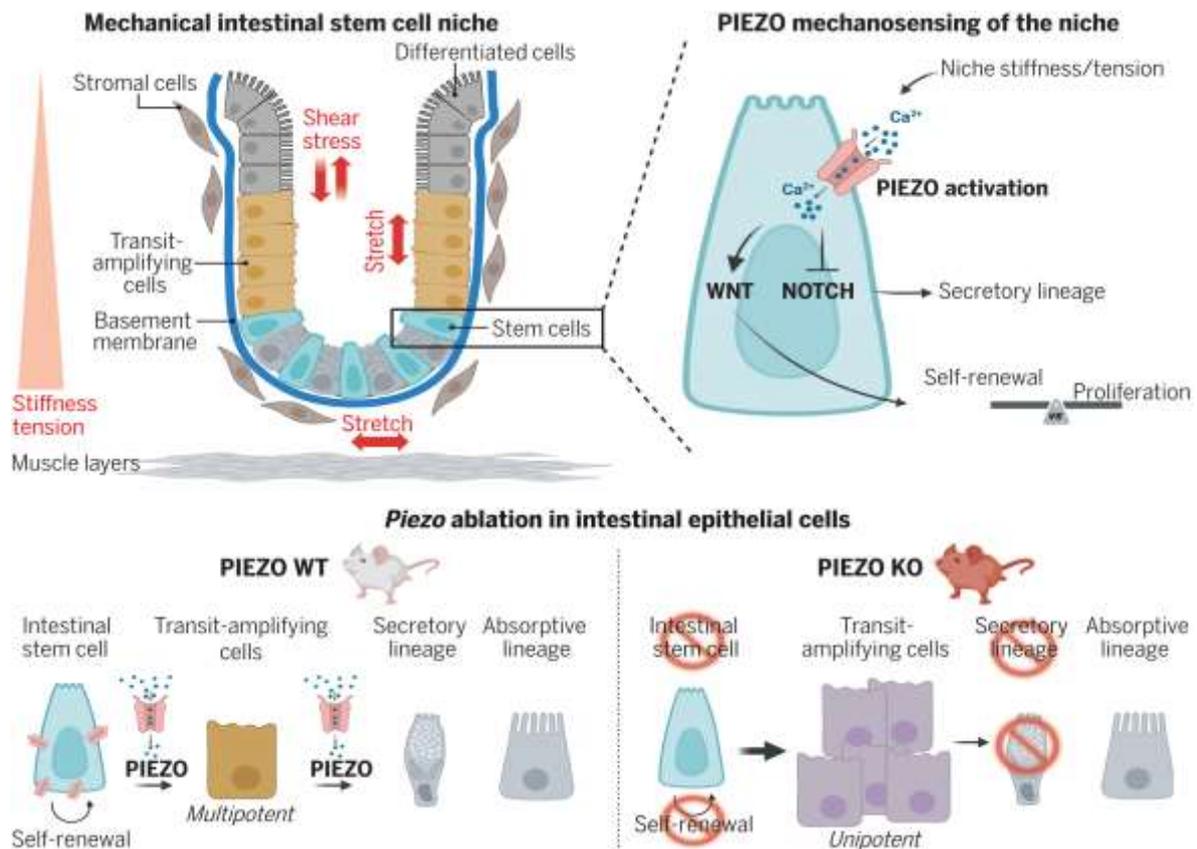
Conclusioni

Gli autori propongono un modello completo per la **meccanosensing PIEZO** della **nicchia ISC**.

Il **knockout** condizionale di **PIEZO** nelle cellule epiteliali intestinali induce difetti di auto-rinnovamento e specificazione del lignaggio, portando alla **perdita di ISC** e **cellule secretorie**.

Meccanicisticamente, all'attivazione di **PIEZO** tramite rigidità e/o tensione della nicchia, viene generato un afflusso intracellulare di Ca^{2+} , che successivamente reprime il pathway NOTCH per indurre la differenziazione delle cellule secretorie e modula la segnalazione WNT per mantenere un equilibrio appropriato tra auto-rinnovamento e proliferazione.

Questi dati dimostrano che le **ISC** trasducono cambiamenti meccanici del microambiente attraverso **canali meccanosensibili PIEZO** per regolare le loro decisioni di auto-rinnovamento e lignaggio in base alle proprietà biomeccaniche della nicchia delle cellule staminali.



Modello per la meccanosensibilizzazione PIEZO della nicchia ISC.

I canali PIEZO trasducono stimoli meccanici dalla nicchia extracellulare per regolare il rinnovamento delle cellule staminali e le decisioni sulla linea evolutiva. L'ablazione di *Piezo* nelle cellule epiteliali intestinali induce la perdita di ISC e di cellule secretorie. Meccanicisticamente, all'attivazione di PIEZO da parte della rigidità e/o tensione della nicchia ISC, viene generato un afflusso intracellulare di Ca^{2+} , inibendo la segnalazione NOTCH per la specificazione delle cellule secretorie e modulando la segnalazione WNT per il mantenimento di ISC. WT, wild-type; KO, knockout. [Figura creata con BioRender.com]

In sintesi

La misurazione in vivo della rigidità della membrana basale ha mostrato che le ISC risiedono in un microambiente più rigido sul fondo della cripta. Sistemi organoidi tridimensionali e bidimensionali combinati con substrati bioingegnerizzati e un dispositivo di allungamento hanno rivelato che i canali PIEZO percepiscono gli stimoli meccanici extracellulari per modulare la funzione delle ISC. Questo studio delinea la cascata meccanicistica dell'attivazione PIEZO che coordina la decisione del destino delle ISC e il mantenimento.