

# DOTTORATO DI RICERCA IN BIOLOGIA CELLULARE E DELLO SVILUPPO

## Proposta di progetto per una borsa Dottorato Sapienza Linea di ricerca principale

**Titolo della ricerca: Studio dei meccanismi molecolari di trasduzione degli stimoli intestinali responsabili della regolazione dell'espressione della virulenza di *Shigella***

**Docente guida: Gianni Prosseda**

### DESCRIZIONE DELLA RICERCA

#### Obiettivi della ricerca

I batteri patogeni intestinali attraversano il sistema gastro-intestinale incontrando condizioni fisiche e chimiche molto differenti. L'intestino, in particolare, è un complesso ambiente chimico che varia le proprie caratteristiche lungo il suo percorso.

La pancreaticina e i sali biliari, ad esempio, caratterizzano il tratto del piccolo intestino mentre i derivati metabolici dell'attività del microbiota intestinale caratterizzano la porzione del grande intestino e, in particolare, del colon.

Molti batteri patogeni intestinali sfruttano questa differente distribuzione chimica al fine di ottimizzare la loro fitness nell'ospite e di coordinare e massimizzare l'espressione dei fattori di virulenza nel sito preferenziale di infezione (Kitamoto et al. 2016; PMID:27175113).

*Shigella* è un batterio Gram-negativo responsabile della dissenteria bacillare umana (shigellosi), una malattia trasmissibile per via oro-fecale, caratterizzata da un'inflammatione intestinale acuta e da un danno alla mucosa del colon e del retto con conseguente diarrea, febbre e crampi addominali. La stima degli episodi di shigellosi nel mondo è di circa 150 milioni all'anno e il numero dei morti è circa 1,1 milioni (Kotloff et al., 1999; PMID:10079856).

Studi recentemente condotti nel nostro laboratorio hanno messo in evidenza che *Shigella* risponde alla differente distribuzione e concentrazione degli acidi grassi a catena corta (SCFA, proprionato, acetato e butirato) nel grande intestino per massimizzare l'espressione del sistema di virulenza in corrispondenza del colon distale. Infatti, la concentrazione relativa di butirato, che ha un effetto di induzione del sistema di virulenza in *Shigella*, è massima nel colon distale mentre si riduce risalendo il lumen a favore del proprionato che invece mostra un effetto repressivo sulla virulenza (Zennaro et al. in prep).

Altre molecole che caratterizzano il colon sono state saggiate al fine di verificare l'influenza sull'espressione del sistema di virulenza in *Shigella*. Tra queste, quelle prodotte dal microbiota intestinale (oltre agli SCFA) come il fucosio, la vitamina B12, le poliammine, i sali biliari secondari e l'etanolammina, mentre tra quelle prodotte dall'ospite sono state analizzati gli ormoni epinefrina, norepinefrina e l'istamina mentre si analizzeranno in seguito i peptidi antimicrobici (AMP) e le proteine leganti il peptidoglicano (PGRPs).

Questa linea di ricerca si propone di investigare e caratterizzare i sistemi batterici responsabili della trasduzione del segnale chimico associato alle molecole segnale dell'ambiente intestinale e che determinano la regolazione genetica dei fattori di virulenza

in *Shigella*. Alcuni di questi sono stati individuati ma non ancora caratterizzati, come quelli responsabili della modulazione genica in risposta alla presenza dell'epinefrina e della norepinefrina, oppure quelli responsabili dell'induzione dell'espressione della virulenza in risposta al butirrato. Sono invece da identificare quelli coinvolti nella repressione indotta dal proprionato e dalla vitamina B12. Lo scopo finale è quello ideare e individuare molecole in grado di simulare l'effetto degli stimoli inibitori della virulenza o di contrastare quello di induzione agendo come farmaci di antivirulenza.

## Stato delle conoscenze

Gli organismi animali, non ultimo l'uomo, possiedono una serie di difese che hanno la funzione di prevenire le infezioni intestinali da batteri patogeni. Tra queste difese è di grande interesse la "colonization resistance". Si tratta della capacità che il microbiota intestinale ha di proteggere l'intestino attraverso meccanismi che vanno dalla competizione per gli elementi nutrizionali alla sintesi e secrezione di batteriocine attive contro i microrganismi (Libertucci and Young, 2019; PMID:30546094). Il microbiota intestinale è costituito da miliardi di microrganismi commensali ospitati nel lumen intestinale, principalmente nel grande intestino e, in maniera massiccia nel colon. È stato dimostrato che il microbiota intestinale fornisce al suo ospite la protezione verso numerosi agenti patogeni, tra cui *Salmonella*, *Clostridium difficile*, gli *Escherichia coli* enteropatogeni e *Vibrio cholerae*. Allo stesso tempo, però, i batteri patogeni hanno evoluto sistemi che gli permettono di sfruttare la presenza del microbiota intestinale e del suo metabolismo al fine di ottimizzare il processo infettivo.

In particolare, alcune molecole frutto del metabolismo del microbiota come gli acidi grassi a catena corta (SCFA), il succinato, gli acidi biliari secondari, l'autoinduttore AI-2, il fucosio e l'etanolamina sono state riconosciute essere in grado di influenzare la crescita e la virulenza dei batteri patogeni (Vogt et al. 2015; PMID:25958185).

Gli SCFA per esempio, in particolare il proprionato, sono responsabili da una parte della repressione del sistema di virulenza di *Salmonella* (Hung et al., 2013; PMID:23289537), dall'altra sono utilizzati come molecole segnale per la espressione coordinata e efficace dei fattori di virulenza degli *E. coli* Enteroemorragici (EHEC). (Tobe et al., 2011; PMID:21149585). Il gradiente di concentrazione degli acidi biliari tra il lumen intestinale e la prossimità alla mucosa intestinale, invece, modula l'espressione e l'attività della tossina colerica (Chatterje et al. 2007; PMID:17261615). Il fucosio, rilasciato dalla mucina che ricopre la mucosa intestinale ad opera di certi batteri commensali, mostra anch'esso un gradiente che decresce in concentrazione dal lumen alla mucosa. Anche in questo caso, questo gradiente mantiene represso il sistema di virulenza degli EHEC fintanto che questi non guadagnano l'accesso alla mucosa intestinale, dove la concentrazione di fucosio è bassa e quindi l'espressione dei geni di virulenza degli EHEC è de-repressa (Pacheco et al. 2012; PMID:23160491).

Ad oggi il numero delle molecole segnale in ambiente intestinale in grado di influenzare la virulenza dei patogeni intestinali è decisamente sottostimato e il loro ruolo ancora da definire. La comprensione di questi meccanismi aprirà nuove intriganti opportunità per la realizzazione di probiotici e approcci terapeutici per la prevenzione e il trattamento delle infezioni intestinali.

## Lavori pubblicati negli ultimi 5 anni dai docenti richiedenti la borsa:

- Pasqua M, Grossi M, Scinicariello S, Aussel L, Barras F, Colonna B, **Prosseda G**. The MFS efflux pump EmrKY contributes to the survival of *Shigella* within macrophages. *Sci Rep*. 2019 Feb 27;9(1):2906. doi: 10.1038/s41598-019-39749-3.
- Pasqua M, Michelacci V, Di Martino ML, Tozzoli R, Grossi M, Colonna B, Morabito S, **Prosseda G**. The Intriguing Evolutionary Journey of Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) toward Pathogenicity. *Front Microbiol*. 2017 Dec 5;8:2390. doi: 10.3389/fmicb.2017.02390. eCollection 2017. Review.
- Leuzzi A, Grossi M, Di Martino ML, Pasqua M, Micheli G, Colonna B, **Prosseda G**. Role of the SRRz/Rz1 lambdoid lysis cassette in the pathoadaptive evolution of *Shigella*. *Int J Med Microbiol*. 2017 Jun;307(4-5):268-275. doi: 10.1016/j.ijmm.2017.03.002. Epub 2017 Mar 28.
- Di Martino ML, Romilly C, Wagner EG, Colonna B, **Prosseda G**. One Gene and Two Proteins: a Leaderless mRNA Supports the Translation of a Shorter Form of the *Shigella* VirF Regulator. *MBio*. 2016 Nov 8;7(6). pii: e01860-16. doi: 10.1128/mBio.01860-16.
- Di Martino ML, Falconi M, Micheli G, Colonna B, **Prosseda G**. The Multifaceted Activity of the VirF Regulatory Protein in the *Shigella* Lifestyle. *Front Mol Biosci*. 2016 Sep 29;3:61. eCollection 2016. Review.
- Michelacci V, **Prosseda G**, Maugliani A, Tozzoli R, Sanchez S, Herrera-León S, Dallman T, Jenkins C, Caprioli A, Morabito S. Characterization of an emergent clone of enteroinvasive *Escherichia coli* circulating in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2016 Mar;22(3):287.e11-9. doi: 10.1016/j.cmi.2015.10.025. Epub 2015 Nov 10.
- Leuzzi A, Di Martino ML, Campilongo R, Falconi M, Barbagallo M, Marcocci L, Pietrangeli P, Casalino M, Grossi M, Micheli G, Colonna B, **Prosseda G**. Multifactor Regulation of the MdtJI Polyamine Transporter in *Shigella*. *PLoS One*. 2015 Aug 27;10(8):e0136744. doi: 10.1371/journal.pone.0136744. eCollection 2015.
- Campilongo R, Di Martino ML, Marcocci L, Pietrangeli P, Leuzzi A, Grossi M, Casalino M, Nicoletti M, Micheli G, Colonna B, **Prosseda G**. Molecular and functional profiling of the polyamine content in enteroinvasive *E. coli*: looking into the gap between commensal *E. coli* and harmful *Shigella*. *PLoS One*. 2014 Sep 5;9(9):e106589. doi: 10.1371/journal.pone.0106589. eCollection 2014.
- Scribano D, Petrucca A, Pompili M, Ambrosi C, Bruni E, Zagaglia C, **Prosseda G**, Nencioni L, Casalino M, Polticelli F, Nicoletti M. Polar localization of PhoN2, a periplasmic virulence-associated factor of *Shigella flexneri*, is required for proper IcsA exposition at the old bacterial pole. *PLoS One*. 2014 Feb 27;9(2):e90230. doi: 10.1371/journal.pone.0090230. eCollection 2014.

**Informazioni sulla sostenibilità finanziaria della proposta PRIN 2017 grant prot. 20177J5Y3P**

- PTR-24-16
- FFABR 2018

**Collaborazioni del docente guida con laboratori nazionali ed internazionali rilevanti per questo progetto di ricerca**

- Stefano Morabito, Department of Veterinary Public Health and Food Safety, Istituto Superiore di Sanità, Italy. Istituto di microbiologia - Università cattolica del Sacro Cuore (Roma)
- Frédéric Barras, Laboratoire de Chimie Bactérienne, UMR7283 Aix-Marseille University and CNRS, Institut de Microbiologie de la Méditerranée, Marseille, France