

9. Novembre

Oltre gli anticorpi protettivi confidiamo nelle plasmacellule del midollo osseo a vita lunga (BMPC)

Il tempo scorre lentamente con una velocità impressionante.

Le **plasmacellule del midollo osseo a vita lunga (BMPC)** sono una fonte persistente ed essenziale di anticorpi protettivi. Gli individui che si sono ripresi da **COVID-19** hanno un rischio sostanzialmente inferiore di reinfezione da SARS-CoV-2. Tuttavia, è stato riportato che i **livelli di anticorpi sierici anti-SARS-CoV-2** diminuiscono rapidamente nei primi mesi dopo l'infezione, sollevando preoccupazioni sul fatto che le **BMPC** di lunga durata potrebbero non essere più generate e di conseguenza, **l'immunità umorale** contro SARS-CoV-2 potrebbe essere di breve durata e inefficace nei confronti di nuove varianti

Uno dei tratti distintivi di una risposta **immunitaria umorale efficace** è il progressivo aumento dell'affinità degli anticorpi nel tempo.

Questo aumento è il risultato **dell'ipermutazione somatica (SHM)** indotta dalla **citidina deaminasi (AID)** indotta dall'attivazione delle regioni variabili leganti l'antigene dei geni delle **immunoglobuline (Ig)**, meccanismo descritto dal premio Nobel **Cesar Milstein**, (il creatore degli anticorpi monoclonali) su Immunol.Rev - 1987 (**Mutation drift and repertoire shift in the maturation of the immune response**) ed è responsabile di generare un pannello di **cellule B mutate** che vengono successivamente a selezionarsi, in base alla loro affinità, per proliferare e differenziarsi in **plasmacellule secernenti anticorpi (PC)** e **cellule di memoria B (Bmem)**.



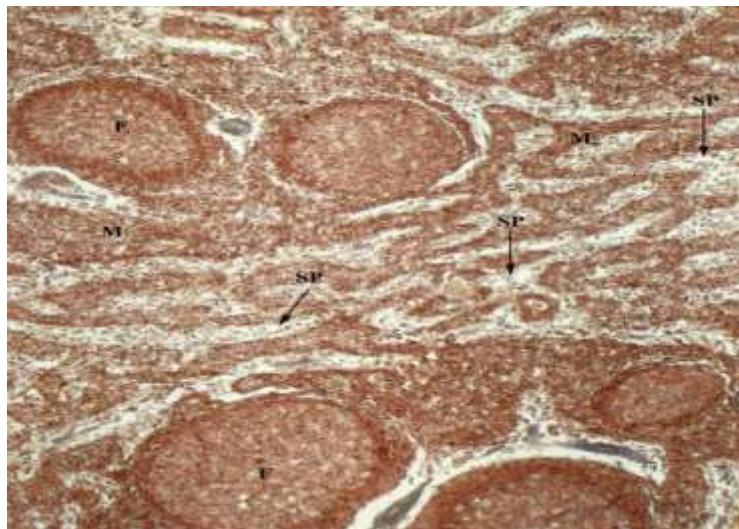
Questo articolato processo selettivo si verifica nei **centri germinali (GC)** presenti in diverse copie all'interno di organi linfoidi secondari in seguito all'esposizione all'antigene in seguito a infezione o immunizzazione.

In queste strutture, **i linfociti B** competono per una serie di segnali che vengono forniti in modo dipendente dall'affinità, in modo che i **linfociti B con recettori** delle **cellule B** ad affinità più elevata (**BCR, il complesso formato dall'immunoglobulina di superficie [slg] e dalle Igα e Igβ co-recettori**) "dovrebbero" progressivamente superare i linfociti B a bassa affinità.

La differenziazione nel tempo di *plasmacellule PC secernenti anticorpi* e *cellule Bmem* da questa popolazione in evoluzione determina l'aumento dell'affinità complessiva degli anticorpi sierici durante la risposta primaria e dopo la reimmunizzazione o reinfezione.

Una caratteristica fondamentale della “**reazione GC**” è la sua natura dinamica. A livello cellulare, le *cellule GC B* migrano costantemente tra i compartimenti microanatomici mentre subiscono cicli interattivi di *ipermutazione somatica SHM* e selezione e cercando di ottenere, da altre popolazioni cellulari residenti in **GC**, i segnali necessari per la loro sopravvivenza. L'espansione e la contrazione delle popolazioni clonali, in base alla loro relativa idoneità, segue una dinamica propria, molto simile a quanto avviene nella selezione darwiniana.

I **centri germinali (GC)** sono il sito della diversificazione degli anticorpi e della maturazione dell'affinità e come tali sono di vitale importanza per la stessa immunità umorale. Il report **Germinal Center B Cell Dynamics**. (*Immunity*. 2016 Sep 20;45(3):471-482.) del *Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge (USA)* è una perfetta descrizione di quanto avviene all'interno dei centri germinali.

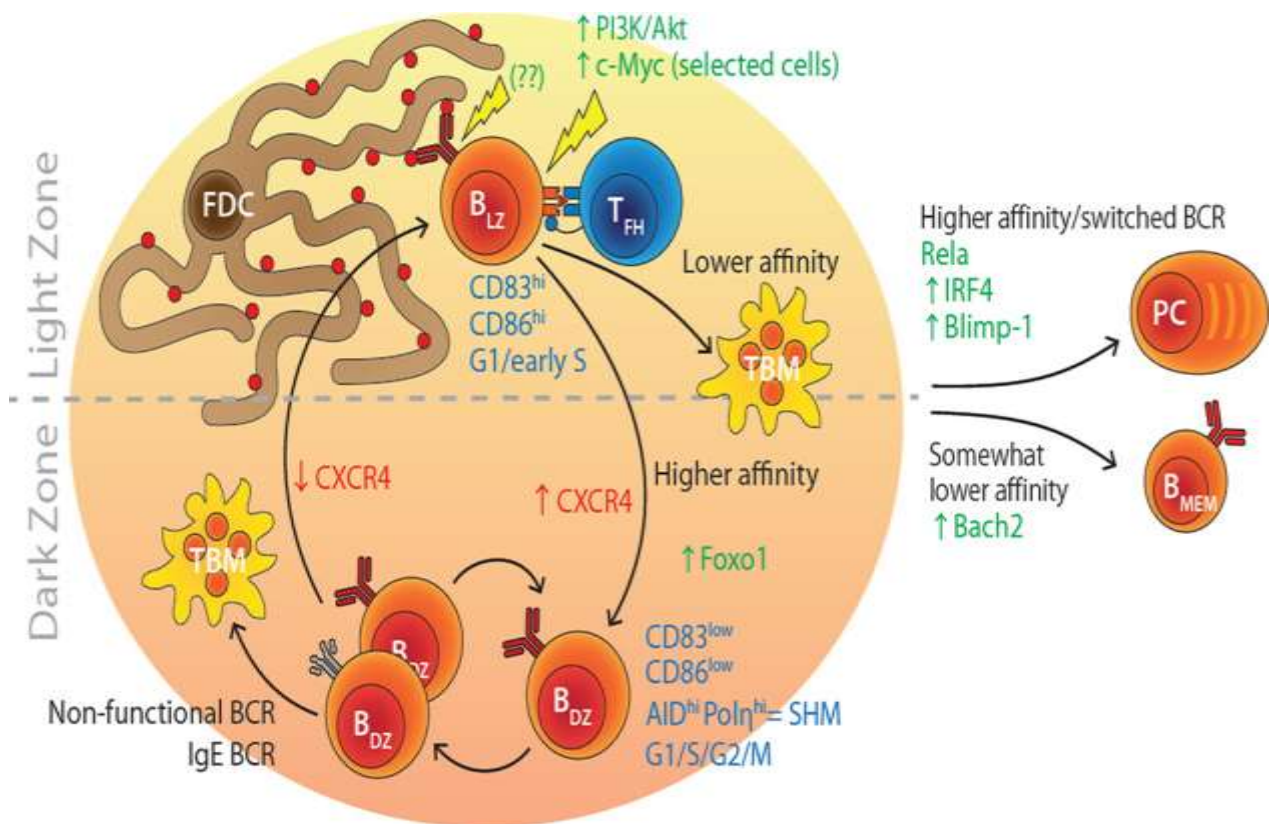


Quello che accade nei *centri germinativi* è l'acquisizione dell'antigene da parte dei *linfociti B* a riposo, seguita dalla loro migrazione al confine tra il follicolo dei *linfociti B* e la zona dei *linfociti T*, dove ricevono segnali co-stimolatori dai *linfociti T helper CD4*. Questa interazione innesca un periodo di intensa proliferazione in cui i *linfociti B* rispondenti si trovano preferenzialmente nel follicolo esterno dei *linfociti B*. Una frazione di queste cellule si unirà quindi in ammassi stretti nel centro del follicolo, in stretta apposizione con la rete FDC, dando origine al **GC precoce**.

Le cellule **GC B** sono tenute insieme da modulazioni nell'espressione di **diversi recettori** accoppiati a proteine **G (GPCR)**. Uno di questi è **Ebi2**, il recettore per il $7\alpha,25$ -diidrossicolesterolo, che normalmente attira le *cellule B naive* verso il follicolo esterno ma è fortemente sottoregolato nelle cellule **GC B**. Un secondo **GPCR** che contribuisce al raggruppamento delle cellule **GC B** è **S1P2**, uno dei cinque recettori per il lipide di segnalazione sfingosina-1-fosfato (S1P). S1P2 agisce attraverso le subunità della proteina **G inibitoria $G\alpha12$ e $G\alpha13$** per impedire alle cellule **GC B** e alle cellule *Tfh* di migrare verso le aree ricche di S1P nel follicolo. Nell'uomo, **S1P2** agisce di concerto con l'orfano GPCR P2YR8, che segnala anche attraverso $G\alpha13$.

Una caratteristica distintiva del **GC maturo** è la sua divisione in due compartimenti, o "zone" Il polo del **GC** più vicino alla zona dei **linfociti T** nei linfonodi e nella milza, e da cui le FDC sono in gran parte assenti, è indicato come zona oscura (DZ). Il polo distale alla zona T, più vicino alla capsula in LN o alla zona marginale nella milza, e ricco di FDC, è indicato come zona chiara (LZ).

L'origine di questi nomi è storica: la LZ appare "più chiara" in istologia, utilizzando le tradizionali colorazioni del DNA, a causa della distribuzione più sparsa dei nuclei dei linfociti dispersi in una rete stromale più abbondante



I modelli convenzionali suggeriscono che le risposte anticorpali a lungo termine sono mantenute dalla continua differenziazione dei **linfociti B di memoria** in plasmacellule che secernono anticorpi. Ciò si basa sull'idea che le plasmacellule sono di breve durata e devono essere continuamente reintegrate dai linfociti B della memoria

Mark Slifka del *Dipartimento di Microbiologia e Immunologia di Atlanta*



ha dimostrato che una frazione sostanziale di **plasmacellule** può sopravvivere e continuare a secernere anticorpi per lunghi periodi di tempo (> 1 anno) in assenza di cellule B di memoria rilevabili

*Slifka MK et al. Humoral immunity due to long-lived plasma cells. *Immunity*. 1998 Mar;8(3):363-72.*

Questo significa che le **cellule B della memoria** periferica e le plasmacellule che secernono anticorpi possono rappresentare popolazioni cellulari regolate in modo indipendente e possono svolgere ruoli diversi nel mantenimento dell'immunità protettiva.

*Amanna IJ et al. Duration of humoral immunity to common viral and vaccine antigens. *N Engl J Med*. 2007 Nov 8;357(19):1903-15.*

Il team del *Dipartimento di Patologia e Immunologia della Washington University* ha dimostrato che negli individui convalescenti che hanno avuto infezioni lievi da SARS-CoV-2 (n = 77), i livelli sierici di **anticorpi anti-SARS-CoV-2 spike protein (S)** sono diminuiti rapidamente nei primi 4 mesi dopo l'infezione e poi più gradualmente nei 7 mesi successivi, rimanendo rilevabile almeno 11 mesi dopo l'infezione.

I **titoli anticorpali anti-S** erano correlati alla frequenza delle plasmacellule S-specifiche negli aspirati del midollo osseo da 18 individui che si erano ripresi da COVID-19 da 7 a 8 mesi dopo l'infezione.

I BMPC specifici per S **non sono stati rilevati** negli aspirati di 11 individui sani senza storia di infezione da SARS-CoV-2.

Questo dato indica che i BMPC di legame S sono quiescenti, il che suggerisce che fanno parte di un compartimento "stabile". Costantemente, **cellule B di memoria** a riposo circolanti dirette contro SARS-CoV-2 S sono state rilevate negli individui convalescenti. Nel complesso, i risultati indicano che una lieve infezione da SARS-CoV-2 induce una robusta memoria immunitaria umorale antigene-specifica e di lunga durata negli esseri umani.

*Turner JS et al. SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans. *Nature*. 2021 Jul;595(7867):421-425.*

Tuttavia Sebbene sia evidente che le **plasmacellule a vita lunga** hanno origine preferenzialmente nei centri germinali (GC) e si trasferiscono in nicchie di sopravvivenza nel midollo osseo dove possono persistere per decenni, i problemi relativi ai tempi di un loro reclutamento ed alla loro conservazione rimangono incerti.

Pochi giorni fa il team di **Marcus Robinson** del *Department of Immunology and Pathology della Monash*



ha pubblicato su *Science immunology*. **Long-lived plasma cells accumulate in the bone marrow at a constant rate from early in an immune response**, un report che dà un grosso contributo al problema della longevità funzionale delle plasmacellule, ai loro siti di formazione, e alla cinetica del turnover nelle risposte immunitarie allergiche, con l'obiettivo di determinare i modi per migliorare le risposte anticorpali con approcci vaccinali.

Utilizzando un sistema di *timestamp genetico* ha dimostrato in un modello sperimentale murino che le plasmacellule persistenti si accumulano nel midollo osseo a una velocità approssimativamente costante di *una cellula all'ora* per un periodo che copre diverse settimane dopo una singola immunizzazione con un antigene modello.

La selezione, basata sull'affinità è evidente nelle plasmacellule persistenti, riflettendo una soglia di *affinità relativa e dinamica* piuttosto che assoluta

La *conclusione* è che la vita delle **plasmacellule del midollo osseo a vita lunga** è in parte intrinseca, preprogrammata e varia e che il loro numero finale è correlato alla durata della risposta in modo prevedibile.

Ciò implica la possibilità di modulare la somministrazione dei vaccini per estendere la durata della reazione a livello del centro germinativo migliorando l'immunità protettiva mediata da anticorpi.

Un anno fa... Baedeker/Replay del 9.Novembre

L'antivirale Pfizer PF-07321332 riduce i ricoveri per COVID-19

Pfizer ha riportato oggi risultati positivi per un trattamento orale di 5 giorni delle infezioni precoci con SARS-CoV-2. In uno studio che un gruppo di monitoraggio esterno ha interrotto presto perché il trattamento sembrava così promettente, in quanto il composto sperimentale dell'azienda ha ridotto i ricoveri dell' 89% tra quelli trattati entro 3 giorni dall'insorgenza dei sintomi e di quasi la stessa cifra tra le persone che hanno iniziato a prendere le pillole entro 5 giorni. L'antivirale Pfizer è un inibitore della proteasi, una classe di farmaci ben studiata che ha rivoluzionato la lotta contro l'HIV e mostra un alto grado di sicurezza. Se il trattamento di Pfizer si unirà all'attuale arsenale pandemico, potrebbe rapidamente diventare un'arma potente per prevenire i sintomi gravi di COVID-19 e aiutare i pazienti a eliminare più rapidamente il virus, riducendo anche la trasmissione. Sebbene lo studio riportato oggi abbia testato il farmaco solo su circa 1200 persone non vaccinate, può anche aiutare coloro che sono vaccinati e soffrono di una nuova infezione.

L'annuncio di Pfizer è stato una sorpresa. (Solo pochi giorni prima, martedì, la società ha riferito agli investitori che la sperimentazione era in corso.). In un comunicato stampa, Pfizer ha comunicato che solo tre delle 389 persone con COVID-19 confermato, o lo 0,8%, che hanno preso la sua terapia antivirale entro 3 giorni è stato ricoverato in ospedale, rispetto a 27 su 385, o 7%, nel gruppo placebo. Sette di quei pazienti che hanno ricevuto il placebo sono successivamente deceduti, nessuno che ha preso la pillola Pfizer è deceduto. Come è ormai di prassi per le aziende durante la pandemia, Pfizer non ha reso disponibili dati dettagliati, solo i risultati principali, e il lavoro non è stato ancora sottoposto a revisione paritaria o pubblicato. Ha ricevuto i risultati solo mercoledì, quando il comitato di monitoraggio ha allertato i funzionari dell'azienda e ha comunicato di voler richiedere l'autorizzazione all'uso di emergenza per il trattamento negli Stati Uniti e altrove il prima possibile. C'è un ampio accordo tra medici e ricercatori sul fatto che i farmaci che neutralizzano SARS-CoV-2 direttamente e all'inizio di un'infezione sono cruciali per aiutare a porre fine alla pandemia di COVID-19. (Sono pronti a sottolineare che tali trattamenti non dovrebbero sostituire i vaccini come il primo linea di difesa.) Per mesi, il trattamento per la malattia precoce è consistito nell'assistenza domiciliare di base come molti liquidi, riposo e antidolorifici da banco per alleviare i sintomi. Il vero approccio terapeutico sarebbe, potendo, utilizzare un antivirale diretto. Gli anticorpi monoclonali che bloccano le proteine di superficie del coronavirus possono rallentare l'infezione di nuove cellule con SARS-CoV-2, ma la loro applicazione è di fatto ostacolata dal costo, dalla disponibilità e dalla necessità di infonderle o iniettarle. Al contrario, il farmaco Pfizer è ingeribile e agisce all'interno di una cellula infetta; blocca le proteasi, che normalmente agiscono all'inizio del ciclo di vita di un virus per aiutarlo a replicarsi. Molti inibitori della proteasi sono stati approvati per il trattamento dell'HIV e il composto di Pfizer Attuale ha una storia di quasi 20 anni. I ricercatori Pfizer avevano già progettato una versione del composto nel 2003 per bloccare una proteasi nel coronavirus che causa la sindrome respiratoria acuta grave (SARS), un cugino di SARS-CoV-2. Quando la SARS è diminuita, Pfizer ha accantonato il prodotto.

L'anno scorso, l'azienda l'ha rispolverato ed ha scoperto che poteva impedire al SARSCoV-2 di replicarsi nelle cellule umane e ha iniziato a svilupparlo per COVID-19. Una prima versione, testata circa un anno fa, è stata somministrata per via endovenosa e successivamente l'azienda ha concentrato i suoi sforzi su una pillola più facile da somministrare. Il trattamento Pfizer in realtà consiste in due farmaci distinti: l'inibitore della proteasi SARS-CoV-2 progettato da Pfizer, (PF-07321332) e un farmaco generico per l'HIV vecchio di decenni chiamato Ritonavir che aumenta l'efficacia degli inibitori della proteasi. La società ha aggiunto Ritonavir al regime quando è passato da un trattamento endovenoso a una pillola. Questo perché, sotto forma di compresse, l'inibitore della proteasi viene metabolizzato troppo rapidamente, prima che possa disabilitare efficacemente il virus. Se assunti insieme, Ritonavir aiuta a evitare gli enzimi che distruggono l'antivirale Pfizer, mantenendolo integro in modo che abbia il tempo di svolgere la sua attività. Nello studio attuale, i pazienti hanno assunto sei pillole al giorno, due dell'antivirale di Pfizer e un Ritonavir al mattino e lo stesso dosaggio alla sera. Attualmente la sperimentazione prevede due ulteriori test. Uno è l'arruolamento di persone che hanno un rischio standard di sviluppare COVID-19 grave, compresi quelli che

sono vaccinati; l'altro utilizza le pillole come terapia preventiva alle persone che hanno avuto un membro della loro famiglia positivo al virus. Questi studi sono "work in progress" e Pfizer non ha ancora riportato i risultati. La notizia di oggi segna per la seconda volta in circa 1 mese che un antivirale COVID-19 sembra avere successo. Il 1 ° ottobre, Merck e Ridgeback Biotherapeutics hanno annunciato che il loro antivirale, chiamato Molnupiravir, ha dimezzato i ricoveri ospedalieri nei volontari dello studio. (Anche questo studio è stato interrotto presto a causa dell'efficacia del farmaco.) Ieri, i regolatori del Regno Unito hanno approvato Molnupiravir per le persone con COVID-19 lieve o moderato e almeno un fattore di rischio, come l'obesità. Un comitato consultivo della Food and Drug Administration degli Stati Uniti prenderà in considerazione la terapia alla fine di questo mese. Molnupiravir funziona in modo molto diverso da un inibitore della proteasi: inganna SARS-CoV-2 nell'incorporare il composto nelle sue informazioni genetiche, codificate dall'RNA, e così facendo muta il virus fino a un punto in cui può replicarsi più a lungo. Tuttavia alcuni esperti temono che, a lungo termine, l'uso diffuso del farmaco possa stimolare l'evoluzione di ulteriori varianti virali pericolose. Esistono anche preoccupazioni teoriche sul fatto che

(Per continuare vai all'originale)