

30. gennaio

Le “infedeltà infettive” guidano l'immunità innata

L'infedeltà è la rivincita della natura sulle leggi.
André Prévot

All'interno degli organismi multicellulari, ***i recettori innati per il riconoscimento del pattern immunitario (PRR)*** controllano le difese dell'ospite nei confronti delle infezioni.

Questi recettori sono attivati dai microbi, che facilitano la loro scomparsa producendo ***ligandi PRR*** chiamati ***modelli molecolari associati ai patogeni (PAMP)*** responsabili attivare le difese antimicrobiche.

Tutti i ***PRR***, operano seguendo due regole cellulari:

- ***attivare*** la segnalazione citosolica con una cinetica estremamente rapida (entro pochi secondi dal legame del ligando)
- ***sorvegliare*** più compartimenti cellulari, ma reclutare comunque un insieme comune di proteine di segnalazione a ciascuna posizione.

Jonathan Kagan *pediatra del Children Hospital di Boston*



ha nei giorni scorsi pubblicato su ***Science*** un intrigante report dal titolo:

Infection infidelities drive innate immunity.

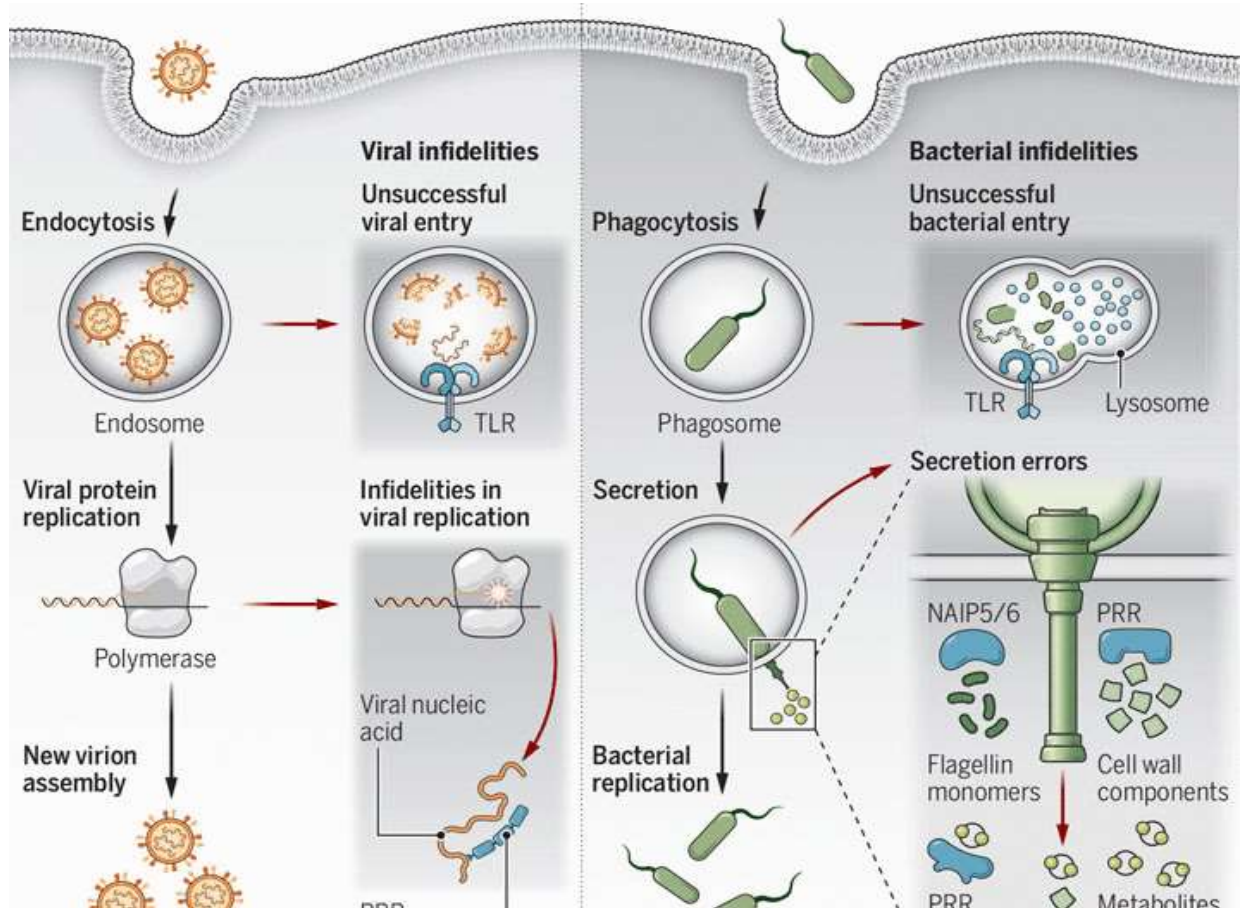
Science. 2023 Jan 27;379(6630):333-335.

in cui ipotizza che le attività patogene ***non riuscite (infedeli)*** possono essere la chiave per attivare le difese dell'ospite contro l'infezione, praticamente delle vittoriose sconfitte !

In queste condizioni i ***PRR*** rilevano i ***PAMP*** che vengono rilasciati dai microbi a seguito di infedeltà biochimiche, o errori, che si verificano durante l'infezione. Questi errori rendono gli individui all'interno di una popolazione altrimenti infettiva non infettivi ma immunostimolanti.

I microbi potrebbero così sviluppare strategie che aumentano la fedeltà delle loro strategie infettive per eludere i ***PRR***.

Queste attività imperfette consentono innovazioni biochimiche che assicurano la sopravvivenza della specie. Rilevando i ***PAMP*** che vengono rilasciati come risultato di attività biochimiche a bassa fedeltà, i ***PRR*** potrebbero, in effetti, prendere di mira proprio il processo di cui i microbi hanno bisogno per la sopravvivenza a lungo termine: l'evoluzione.

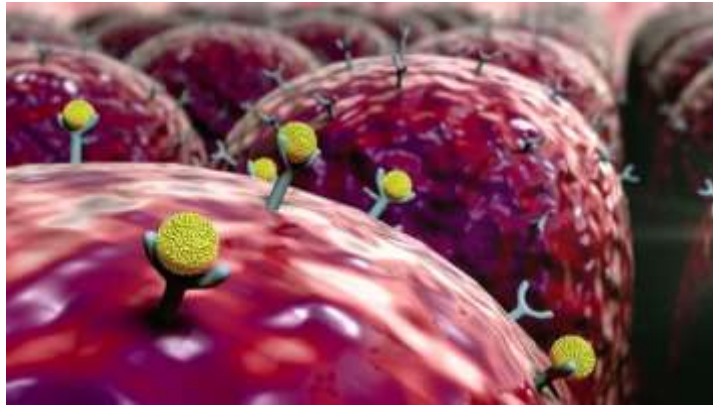


Le infezioni virali e batteriche riuscite non attivano i recettori di riconoscimento del modello (PRR) e le risposte immunitarie innate a valle.

Invece, le infedeltà nelle infezioni virali e batteriche possono creare ligandi per l'attivazione del PRR.

Ad esempio, gli acidi nucleici derivanti dalla degradazione dei patogeni negli endosomi e nei lisosomi possono attivare i recettori Toll-like (TLR). Gli errori nella replicazione virale possono anche attivare i PRR. Inoltre, i sistemi di secrezione batterica possono rilasciare erroneamente componenti della parete cellulare, metaboliti o monomeri di flagellina nel citosol, che stimolano i PRR, come la proteina 5 inibitoria dell'apoptosi della famiglia NLR (NAIP5).

Può essere utile rivedere i meccanismi alla base del funzionamento dei recettori dell' Immunità innata e dell'infiammazione



Recettori cellulari dell'immunità innata

I recettori cellulari sono proteine transmembrana (o talvolta anche citoplasmatiche) che hanno il di comunicazione cellulare con l'esterno, questo significa che il legame di un ligando con il recettore avvia una cascata del segnale che culmina con la trascrizione attiva di geni specifici o altre funzioni biologiche. Nello specifico i recettori cellulari dell'immunità innata inducono l'attivazione delle cellule del sistema immunitario e la conseguente trascrizione di geni per citochine pro-infiammatorie, la degranulazione dei granuli citoplasmatici o il movimento verso un gradiente di chemochine.

PAMPs Pathogen-Associated Molecular Patterns

I PAMPs sono strutture condivise da diverse classi di microbi ed indispensabili per la sopravvivenza del microorganismo. Queste loro particolarità li rendono bersagli ottimali per il riconoscimento da parte dei recettori. Esempi di PAMPs sono: gli RNA a doppia catena di origine virale, il lipopolisaccaride (LPS) e gli acidi lipoteicoici rispettivamente dei batteri Gram-negativi e Gram-positivi, proteine contenenti una N-formil-metionina tipica dei batteri e molti altri ancora.

DAMPs Damage-Associated Molecular Patterns

I DAMPs sono molecole endogene prodotte o rilasciate da cellule danneggiate o morte per via della necrosi. Possono essere il risultato di un danno cellulare di origine infettiva, non infettiva come un trauma fisico (ustioni, trami, tossine chimiche...) o ischemico.

Recettori della risposta infiammatoria

Questi recettori sono noti come recettori che riconoscono i profili molecolari (Pattern Recognition Receptors, PRR) e sono presenti sulle membrane cellulari, sulle membrane endosomiali oppure liberi nel citoplasma.

Sono presenti principalmente sulle cellule del sistema immunitario innato come: i macrofagi, i mastociti ed i granulociti polimorfonucleati e, in seguito alla loro attivazione, inducono la produzione di fattori pro-infiammatori.

Tuttavia anche i linfociti B ed alcune cellule non appartenenti al sistema immunitario come i fibroblasti, le cellule endoteliali ed i cheratinociti possono avere alcuni di questi recettori.

Toll-Like Receptors

I Toll-Like Receptors (TLRs) rappresentano un'importante famiglia di PRR espressi da molti tipi cellulari.

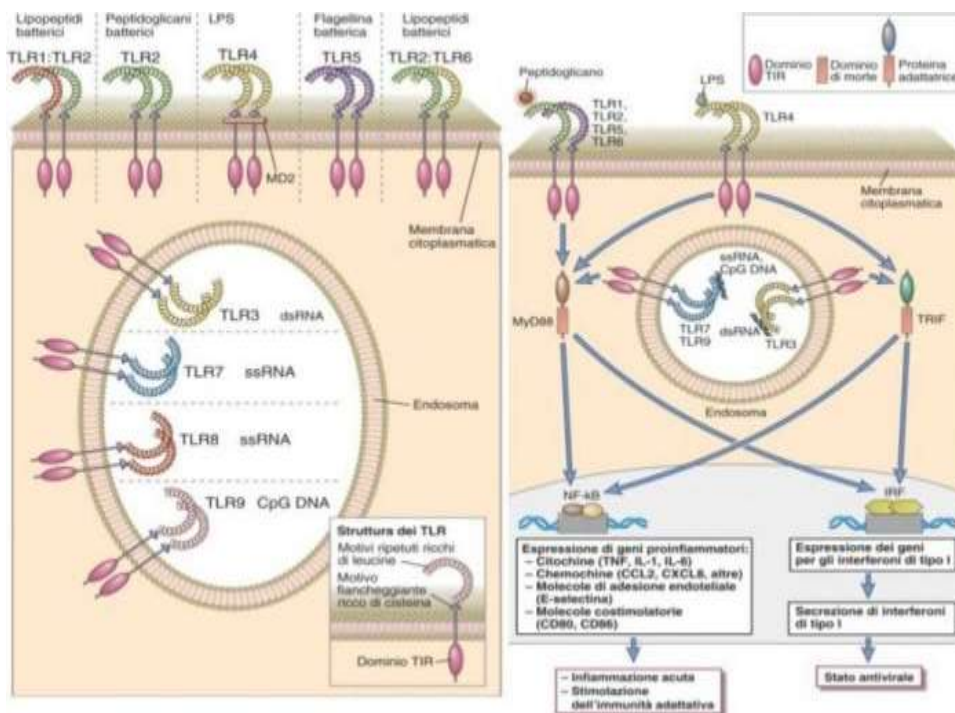
Sono glicoproteine di membrana conservate filogeneticamente e riconoscono prodotti di una grande varietà di microbi e molecole rilasciate da cellule danneggiate o morte.

Nell'uomo esistono 9 diversi TLRs, denominati TLR1-TLR9. I TLR si trovano sia sulle membrane cellulari come ad esempio i TLR 1, 2, 4, 5 e 6 che riconoscono PAMPs presenti nell'ambiente extracellulare; sia espressi sulle membrane endosomiali come i TLR 3, 7, 8, 9 che riconoscono come PAMPs gli acidi nucleici (tipici di microbi intracellulari).

La base strutturale della specificità dei TLRs risiede nei moduli extracellulari ripetuti ricchi di residui di leucina che riconoscono e legano i PAMPs direttamente o tramite l'aiuto di molecole adattatrici. Sono presenti 16-28 moduli ricchi di residui di leucina, ciascuno composto da 20-30 aminoacidi organizzati in motivi conservati LxxLxLxxN (dove L significa leucina, x un aminoacido qualsiasi ed N è un'asparagina). Il legame del PAMP ai domini ricchi di leucina causa l'interazione fisica e la dimerizzazione dei TLRs. Nella regione intracellulare è contenuto un dominio di omologia denominato TIR (Toll-IL-1 Receptor), essenziale per l'attivazione cellulare.

Quando i TLRs riconoscono i propri ligandi innescano diverse vie di trasduzione del segnale. Queste vie di trasduzione iniziano con la dimerizzazione ligando-dipendente dei TLRs causata dal legame con il PAMP. Questo porta i due domini TIR in stretto contatto ed induce il reclutamento di proteine adattatrici contenenti il dominio TIR che a loro volta reclutano ed attivano diverse proteine chinasi le quali, a loro volta, attivano diversi fattori trascrizionali.

Tra i principali fattori di trascrizione attivati dai TLRs troviamo: il fattore nucleare κB (Nuclear Factor- κB , NF- κB), la proteina di attivazione 1 (Activation Protein 1, AP-1) ed i fattori di risposta all'interferone 3-7 (Interferon Response Factor 3-7, IRF3 e IRF7). NF- κB ed AP-1 sono responsabili della produzione della maggior parte delle molecole necessarie per la risposta infiammatoria, tra cui le citochine e le chemochine. IRF3 e IRF7 promuovono invece la produzione di interferoni di tipo I (IFN- α e IFN- β), importanti nelle risposte antivirali.



NOD-Like Receptors

I NOD-Like Receptors (NLR) costituiscono una famiglia che comprende più di 20 proteine citosoliche, alcune delle quali riconoscono i PAMPs e i DAMPs citoplasmatici.

L'acronimo NOD sta a indicare proteine che contengono un dominio di oligomerizzazione nucleotidica (Nucleotide Oligomerization Domain-Containing Protein). Un tipico NLR è composto per lo meno da 3 diversi domini con struttura e funzioni caratteristiche.

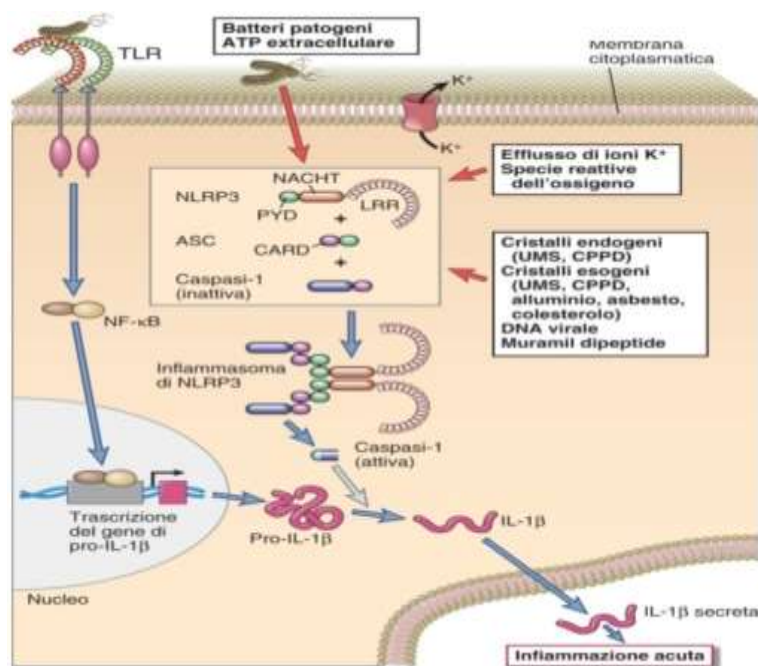
Un dominio che contiene residui ripetuti di leucina che è coinvolto nel riconoscimento del ligando (proprio come nei TLRs); un secondo dominio detto NACHT (Neuronal Apoptosis Inhibitory Protein, NAIP) che è responsabile dell'oligomerizzazione; infine vi è un dominio effettore che recluta altre proteine per formare i complessi di trasduzione del segnale. Il dominio effettore può essere di 3 tipi: i domini CARD (CASPase Recruitment Domain), il dominio pirina e dominio BIR. A seconda del dominio effettore utilizzato si identificano tre sottofamiglie di NLR.

NOD1 e NOD2, membri della sottofamiglia contenente il dominio CARD, sono espressi nel citosol di diversi tipi cellulari e rispondono ai peptidoglicani della parete batterica.

NOD1 riconosce l'acido diaminopimelico (DAP) derivato prevalentemente da batteri Gram-negativi, mentre NOD2 riconosce il muramil dipeptide (derivato del DAP) dei batteri Gram-negativi e Gram-positivi. Sia NOD1 sia NOD2 sono importanti per la risposta innata a patogeni batterici del tratto gastrointestinale come *Helicobacter pylori* e *Listeria monocytogenes*.

Quando gli oligomeri NOD riconoscono il proprio ligando avviene un cambiamento conformazionale che permette ai domini effettori CARD di reclutare numerose copie della chinasi RIP2, formando un complesso attivatorio definito "segnalosoma di NOD". Le chinasi RIP2 attivano NF- κ B, il quale promuove l'espressione di geni infiammatori. NOD2, inoltre, stimola anche la produzione delle defensine.

Una sottofamiglia di NOD-Like Receptors denominata NLRP risponde ai PAMPs e DAMPs citosolici formando complessi attivatori detti inflammasomi. Esistono 14 NLRP (NLR Family Pyrin-Domain-Containing Proteins), la maggior parte dei quali condivide un dominio effettore di tipo pirina. Un esempio è NLRP3 che, dopo aver riconosciuto il proprio ligando, interagisce con altre NLRP3 che interagiscono a formare un oligomero all'interno del quale ciascuno lega un adattatore denominato ASC. Gli adattatori legano quindi il precursore inattivo dell'enzima caspasi-1.

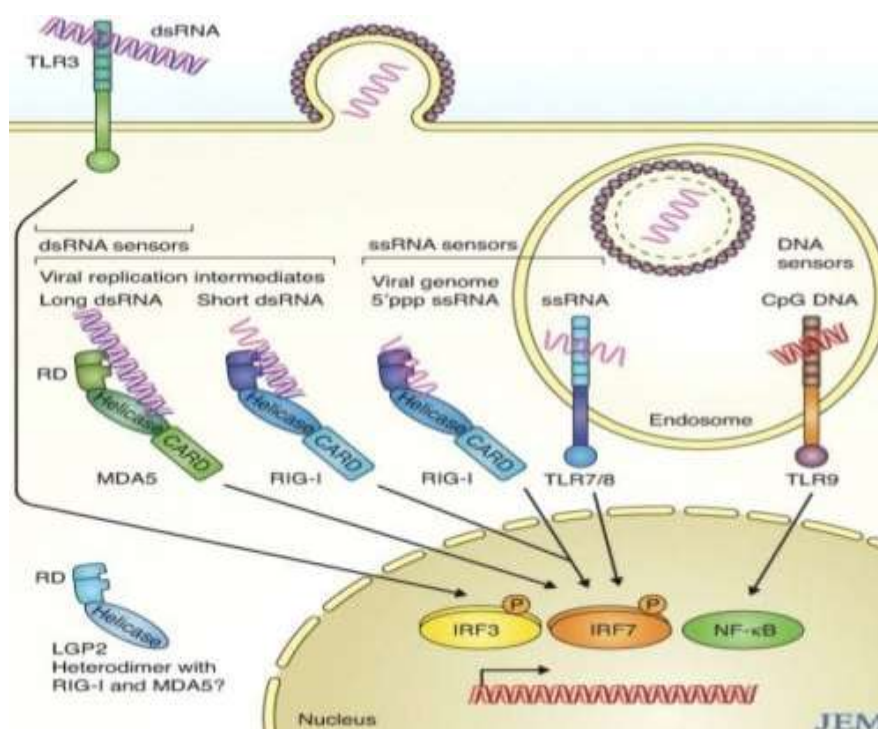


Le caspasi sono proteine con attività proteasica e la caspasi-1 diviene attiva solo dopo essere stata reclutata dal complesso dell'inflammasoma. La caspasi-1 attivata taglia i precursori di due citochine pro-infiammatorie formando IL-1 β e IL-18.

RIG-Like Receptors

I RIG-Like Receptors (RLR) sono sensori citosolici che riconoscono RNA a doppia elica ed eteroduplex di RNA-DNA (entrambi PAMPs di origine virale), e sono espressi da un'ampia varietà di tipi cellulari, in questo modo la maggior parte delle cellule bersaglio di virus a RNA possono contribuire ad innescare la risposta antivirale

I due RLR meglio caratterizzati sono RIG-I e MDA5. Entrambi contengono due domini N-terminali responsabili del reclutamento delle caspasi e altri due domini, una RNA elicasasi e uno C-terminale coinvolto nel riconoscimento dell'RNA.

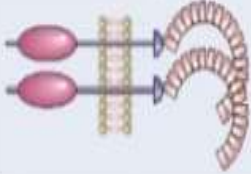


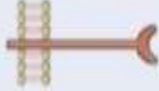



Dopo aver legato l'RNA virale gli RLR iniziano eventi di trasduzione del segnale che culminano con l'attivazione dei fattori di trascrizione IRF3 e IRF7 i quali inducono la produzione di interferoni di tipo I.

Recettori della fagocitosi

La fagocitosi è il processo attraverso il quale le cellule del sistema immunitario innato riescono ad eliminare, tramite ingestione, i microrganismi. Questo processo è avviato da specifici recettori di membrana definiti recettori fagocitici.

TABELLA 4-3 Molecole utilizzate dall'immunità innata per riconoscere i patogeni e il self danneggiato

PRR associati alla cellula	Localizzazione	Esempi specifici	Ligandi
Recettori Toll-like (TLR) 	Membrana plasmatica e membrane endosomiali di cellule dendritiche, fagociti, linfociti B, cellule endoteliali e molti altri tipi cellulari	TLR 1-9	Varie molecole microbiche, tra cui lipopolisaccaride e peptidoglicani batterici, acidi nucleici virali
Recettori NOD-like (NLR) 	Citoplasma di fagociti, cellule epiteliali e altre cellule	NOD1/2 Famiglia NALP (inflammasoma)	Peptidoglicani della parete batterica Flagelina, murami dipeptide, lipopolisaccaride, cristalli di urato; prodotti di cellule danneggiate
Recettori RIG-like (RLR) 	Citoplasma dei fagociti e di altre cellule	RIG-1, MDA-5	RNA virale
Recettori simili alle lectine di tipo C 	Membrane plasmatiche dei fagociti	Recettore del mannosio Dectine	Carboidrati di membrana dotati di residui di mannosio e di fruttosio Glucani presenti sulle pareti dei funghi
Recettori scavenger 	Membrane plasmatiche dei fagociti	CD36	Diacilgliceridi microbici

Recettori del mannosio

Il recettore del mannosio è una lectina di tipo-C di membrana coinvolta nel processo di fagocitosi. Questo recettore lega i carboidrati con un meccanismo Ca-dipendente e riconosce particolari zuccheri terminali come: D-mannosio, L-fucosio e N-acetil-D-glucosamina.

Tali zuccheri sono frequenti sulla superficie dei microrganismi e, per questo, gli zuccheri terminali possono essere definiti PAMPs. Il recettore del mannosio, una volta legato il microbo, rende possibile l'ingestione di questo da parte dei macrofagi e cellule dendritiche.

Recettori scavenger

I recettori scavenger comprendono un insieme di proteine di membrana in grado di legare molteplici tipi di PAMPs tra cui: LPS, acido lipoteicoico, acidi nucleici, β -glucano e proteine.

Alcuni recettori scavenger come SR-A e CD36, sono espressi dai macrofagi e sono coinvolti nella fagocitosi dei microrganismi. Inoltre, CD36 funziona come co-recettore per l'eterodimero TLR 2/6 nell'ambito della risposta agli acidi lipoteicoici.

Tuttavia è stato dimostrato che diversi fattori di virulenza microbici agiscono bloccando il riconoscimento e la fagocitosi mediata da questi recettori.

Recettori Fc γ

I recettori Fc γ (Fc γ R) sono espressi sulla superficie dei leucociti e legano le regioni costanti degli anticorpi che hanno opsonizzato un microbo. Questo legame determina l'attivazione del processo di fagocitosi tramite riorganizzazione del citoscheletro e una trasduzione del segnale necessaria per innescare l'attività microbicida ed infiammatoria.

I recettori Fc γ sono stati classificati in 3 gruppi: I, II e III, sulla base delle rispettive affinità per le catene pesanti delle diverse classi di IgG. In generale i complessi immuni contenenti IgG1 e IgG3 risultano più efficienti nell'indurre l'attivazione dei recettori Fc rispetto alla sottoclasse IgG2.

Tutti gli FcR risultano attivati in maniera ottimale solo dagli anticorpi complessati con l'antigene e non da quelli che circolano liberi in soluzione.

Recettori per le proteine del complemento

Il recettore per il complemento di tipo 1 (CR1 o CD35) recettore ad alta affinità per i frammenti C3b e C4b (derivanti dalla via del complemento) che svolge principalmente la funzione di promuovere la fagocitosi degli antigeni opsonizzati.

CR1 è espresso dalla maggior parte delle cellule ematopoietiche come: i neutrofili, i monociti, gli eosinofili ed i linfociti T e B. Sulla superficie dei fagociti, CR1 lega gli antigeni opsonizzati dal C3b e C4b e, oltre ad avviare la fagocitosi, avvia anche meccanismi microbicidi intracellulari associati alla fagocitosi.

Il recettore per il complemento di tipo 3 (CR3 o Mac-1) è un'integrina che agisce da recettore per il frammento iC3b generato dal taglio del C3b. È presente sulla membrana dei neutrofili, dei fagociti mononucleati, dei mastociti e delle cellule NK. Nei neutrofili e nei monociti, Mac-1 promuove la fagocitosi dei microrganismi opsonizzati dal frammento iC3b.

Conclusioni:

Il concetto di infedeltà dell'infezione offre l'opportunità di sviluppare farmaci anti-infettivi che sono anche immunoterapie. È possibile che i farmaci che interrompono i cicli vitali virali provochino, nelle cellule immunocompetenti, il rilascio di PAMP nel sistema immunitario dell'ospite. Allo stesso modo, gli antibiotici che prendono di mira le pareti cellulari batteriche possono causare il rilascio di componenti della parete cellulare o dinucleotidi ciclici che stimolano i PRR. L'integrazione dei test PRR nelle pipeline cliniche anti-infettive può quindi offrire opportunità per lo sviluppo di farmaci.

Martedì 31 gennaio

Anteprima da CELL .febbraio 2023



L'uomo "alfa" sconfitto dall'uomo "beta" precipita nella depressione: ovvero i tormenti della *habenula laterale*.

Neural mechanism underlying depressive-like state associated with social status loss

Cell 186. febbraio