

25.Febbraio

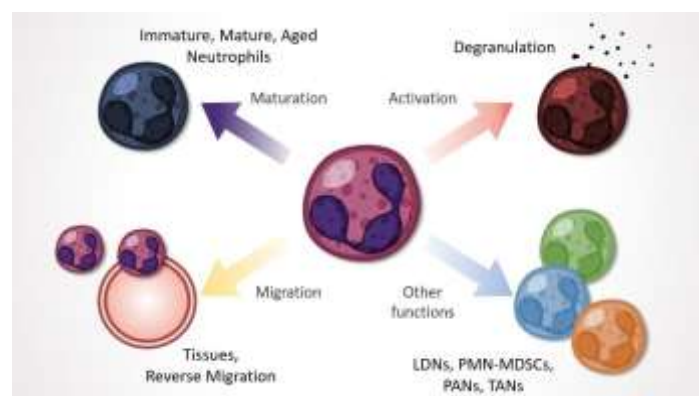
Neutrofili a bassa densità: quando l'eroe diventa il cattivo

*Un eroe è un normale essere umano
che fa la migliore delle cose
nella peggiore delle circostanze.*

Joseph Campbell

I neutrofili sono stati a lungo considerati una popolazione cellulare omogenea di breve durata, limitata al loro ruolo di primi soccorritori nell'immunità antibatterica e fungina.

Sebbene sia vero che **i neutrofili** sono i primi a infiltrarsi nel sito di infezione per eliminare i patogeni, prove crescenti suggeriscono che le loro funzioni potrebbero estendersi oltre quelle delle cellule immunitarie innate di base.



Insieme al loro ruolo consolidato nell'eliminazione dei patogeni, utilizzando funzioni effettrici come la *fagocitosi*, la *degranolazione* e il dispiegamento di **trappole extracellulari** di neutrofili (**NET**), è stato recentemente dimostrato che **i neutrofili** possiedono capacità di **presentazione dell'antigene**.

Inoltre, l'identificazione di diversi sottotipi di **neutrofili** indica una **popolazione cellulare eterogenea multifattoriale** con grande plasticità in cui alcuni sottoinsiemi hanno caratteristiche pro-infiammatorie potenziate, mentre altri sembrano comportarsi come **immunosoppressori**.

È interessante notare che la presenza aberrante di **neutrofili attivati** con un profilo pro-infiammatorio in diverse malattie autoimmuni sistemiche e organo-specifiche come il lupus eritematoso sistemico (LES), l'artrite reumatoide (RA), la sclerosi sistemica (SSc), la sclerosi multipla (SM), e il diabete di tipo 1 (T1D) potrebbe potenzialmente essere sfruttato in nuove strategie terapeutiche.

Tuttavia la piena portata del coinvolgimento dei neutrofili, e più specificamente quella dei loro vari sottotipi, nella fisiopatologia delle malattie autoimmuni deve ancora essere chiarita.

Bissenova S et al. *Neutrophils in autoimmunity: when the hero becomes the villain*. Clin Exp Immunol. 2022 Dec 15;210(2):128-140.

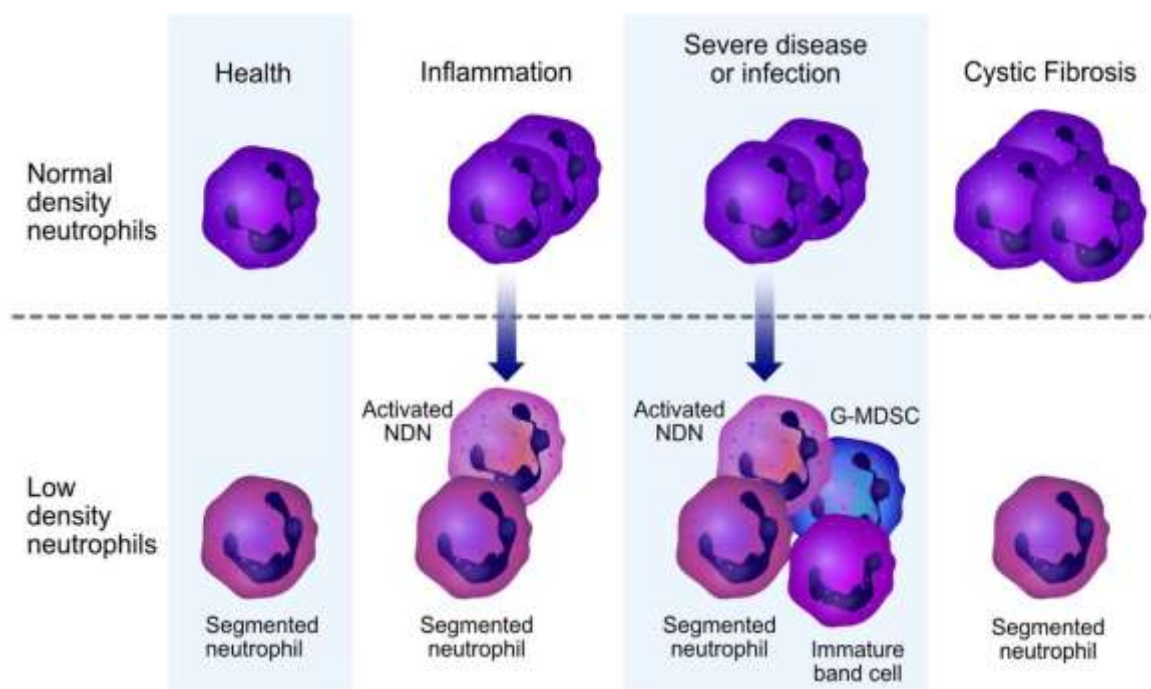
L'eterogeneità è una caratteristica delle popolazioni di **neutrofili umani**, cellule effettrici innate versatili essenziali per la difesa immunitaria ma anche responsabili dell'infiammazione patologica.

Questo duplice ruolo complica il targeting terapeutico. Tuttavia, né i *neutrofili* stessi né i meccanismi che impiegano nelle diverse forme di risposta immunitaria sono omogenei, offrendo la possibilità di intervento selettivo.

Grieshaber-Bouyer R et al . Neutrophil Heterogeneity as Therapeutic Opportunity in Immune-Mediated Disease. Front Immunol. 2019 Mar 4;10:346.

I *neutrofili a bassa densità (LDN)* sono una sottopopolazione suggerita di neutrofili, descritta per la prima volta nell'uomo con lupus eritematoso sistemico che può essere separata da altri granulociti mediante gradiente di densità discontinuo

Le *LDN* hanno una densità simile alle cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) e sono isolate accanto a queste cellule, in contrasto con i neutrofili a densità normale (NDN) che segregano con altre cellule polimorfonucleate (PMN) durante l'esclusione della densità



Liu L. Phenotypic and clinical characterization of low density neutrophils in patients with advanced lung adenocarcinoma. Oncotarget. 2017 Jun 28;8(53):90969-90978.

Gli LDN sono stati descritti in gravidanza malattie autoimmuni, cancro, infezioni e infiammazioni e si ipotizza che contribuiscano alla fisiopatologia . In questi studi, gli *LDN* non rappresentano una sottopopolazione discreta di neutrofili, ma piuttosto uno spettro di fenotipi multipli di neutrofili, che variano in morfologia, maturazione e attivazione a seconda del processo patologico sottostante.

Inoltre, le cellule soppressorie derivate da monociti (MDSC) precedentemente caratterizzate che sopprimono la funzione delle *cellule T* possono anche contribuire alla popolazione *LDN* complicando ulteriormente la descrizione di queste cellule tra gruppi di pazienti. Il semplice isolamento delle popolazioni *LDN* mediante l'esclusione della densità produce popolazioni miste di cellule e la mancanza di marcatori *LDN* coerenti significa che le tecniche di selezione delle cellule dal sangue intero non sono adatte.

Attualmente l'idea dominante è che l'aumento dei numeri di **LDN** nella malattia riflette la patologia specifica o l'ambiente infiammatorio e che la sola densità dei **neutrofili** è inadeguata per classificare popolazioni funzionali discrete di **neutrofili**.

Tuttavia oggi (23 febbraio) è stato pubblicato un report dal team di *Dipartimento di Chirurgia e Anestesia, Università di Otago, Wellington, Nuova Zelanda* coordinato **Jacqueline YT** che riporta un aumento dei neutrofili a bassa densità (**LDN**) nell'infarto del miocardio



Prove recenti suggeriscono che i **neutrofili** sono cellule altamente plastiche che possono mostrare fenotipi eterogenei. I **neutrofili a bassa densità (LDN)** sono stati descritti in molte condizioni infiammatorie e si pensa che rappresentino un sottotipo immaturo e iperattivato di neutrofili. I neutrofili sono significativamente coinvolti nella risposta infiammatoria **all'infarto del miocardio (IM)**, sebbene non sappiamo fino a che punto esistono o funzionino gli **LDN** nell'IM. Questo studio ha cercato di determinare la frequenza e il fenotipo di **LDN** nei pazienti con **IM**, rispetto ai soggetti sani (HS).

*LDN e neutrofili a **densità normale (NDN)** sono stati isolati dal sangue periferico di soggetti **MI** (n = 12) e **HS** (n = 12) mediante centrifugazione in gradiente di densità. **LDN** e **NDN** sono stati analizzati mediante citometria a flusso per identificare i neutrofili (CD66b + CD15 + CD14 - CD3 - CD19 - cellule) ed esaminare l'attivazione dei neutrofili (CD11b, CD66b e CD15) e la maturità (CD33 e CD16).*

Sono stati identificati le **LDN** all'interno della frazione di sangue delle cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) e questa popolazione è significativamente arricchita nei pazienti con **IM** ($1,04 \pm 0,75\%$ delle PBMC), rispetto a **HS** ($0,29 \pm 0,24\%$, $p = 0,003$).

In entrambe le coorti, gli **LDN** esprimono livelli significativamente più alti di CD66b e CD15, indicando uno stato di attivazione più elevato rispetto agli **NDN**.

Gli **LDN** sono stati descritti come **CD33 alto CD16 basso**, rispetto a **CD33 basso CD16 alto NDN**, indicando l'imaturità di questo sottotipo di neutrofili.

Un aumento della frequenza di **LDN** iperattivati e immaturi è una caratteristica immunologica dell'Infarto del miocardio e evidenziano un potenziale ruolo patologico degli **LDN** nell'**IM**, un ulteriore stimolo a migliorare la nostra attuale comprensione di questo sottotipo nell'IM e in altre malattie cardiovascolari (CVD).

*Yiu JYT et al **Increased levels of low density neutrophils (LDNs) in myocardial infarction**. Acta Cardiol. 2023 Feb;78(1):47-54.*

A proposito dei neutrofili

Può essere interessante rileggere il report da **Badeker**

15. Febbraio La tiroxina chinasi splenica: un bersaglio strategico per disattivare i neutrofili

Ricordando che :

I neutrofili svolgono un ruolo cruciale nella prima linea di difesa cellulo-mediata contro i microbi. Fagocitano i batteri e li eliminano mediante fusione con i loro granuli citoplasmatici contenenti proteasi, defensine, peptidi antimicrobici o specie reattive dell'ossigeno (ROS). Inoltre, possono formare trappole extracellulari di neutrofili (NET), in cui vengono rilasciate attivamente parti del nucleo insieme ai granuli. L'invecchiamento dei neutrofili durante la circolazione porta a una graduale degranolazione che diminuisce la loro capacità di formazione di NET

Brinkmann V et al. *Neutrophil extracellular traps kill bacteria*. *Science*. 2004 Mar 5;303(5663):1532-5.

I neutrofili maturi in circolazione in condizioni di omeostasi sono stati suddivisi in tre sottoinsiemi distinti: neutrofili omeostatici, che costituiscono la maggioranza, neutrofili invecchiati e geni stimolati dall'interferone

Xie X et al. *Single-cell transcriptome profiling reveals neutrophil heterogeneity in homeostasis and infection*. *Nat Immunol*. 2020 Sep;21(9):1119-1133.

Una volta in circolazione, i neutrofili pattugliano il sistema vascolare o migrano in diversi organi. Proprio come la downregulation di CXCR4 è responsabile dell'uscita dei neutrofili dal BM, la riespressione di CXCR4 sui neutrofili invecchiati alla fine porterà alla migrazione di nuovo nel BM, nella milza o nel fegato dove i neutrofili invecchiati vengono fagocitati dai macrofagi. I neutrofili precedentemente stravasati possono anche rientrare in circolo, migrare verso la microcircolazione polmonare dove sovraesprimono CXCR4 per entrare successivamente nel midollo osseo per la clearance. Inoltre, la microvascolarizzazione polmonare è stata riconosciuta come una nicchia immunitaria funzionale.

Yipp BG et al, *The Lung is a Host Defense Niche for Immediate Neutrophil-Mediated Vascular Protection*. *Sci Immunol*. 2017 Apr 28;2(10):eaam8929.

Oltre ad attivare il pool circolante di neutrofili maturi, insulti gravi come sepsi, traumi e infezioni virali possono indurre la granulopoiesi di emergenza, un programma di risposta ematopoietica che aumenta rapidamente la produzione *de novo* di neutrofili per far fronte alle crescenti richieste. Questo meccanismo si traduce nella presenza sia di neutrofili immaturi sia di popolazioni mature nel sangue periferico, che possono agire sia immunosoppressiva che pro-infiammatoria.

Manz MG et al. *Emergency granulopoiesis*. *Nat Rev Immunol*. 2014 May;14(5):302-14.

Nonostante le conoscenze limitate sul rispettivo contributo dei neutrofili maturi e immaturi alla risposta immunitaria e le loro caratteristiche distinte, l'interesse clinico per queste cellule sta crescendo a causa della loro correlazione sempre più evidente con la gravità della malattia e/o la risposta al trattamento in molte patologie, come come sepsi e influenza grave. Il fenomeno della granulopoiesi di emergenza e la disponibilità di molti neutrofili appena generati possono aumentare la loro capacità distruttiva.

Reusch N et al *Neutrophils in COVID-19*. *Front Immunol*. 2021 Mar 25;12:652470.

Ci sono prove crescenti che la disfunzione mieloide innata contribuisce alla patogenesi del COVID-19. Alti livelli di biomarcatori dei neutrofili, tra cui la proteina legante il calcio S100 A9 (S100A9), la

lipocalina associata alla gelatinasi dei neutrofili (NGAL)/lipocalina-2 (LCN2) e la resistina (RETN) sono stati associati alla gravità e alla mortalità della malattia

Meizlish ML et al. *A neutrophil activation signature predicts critical illness and mortality in COVID-19*. *Blood Adv.* 2021 Mar 9;5(5):1164-1177.

Inoltre, livelli elevati di trappole extracellulari dei neutrofili (NET) circolanti sono stati osservati in casi gravi di COVID-19 e si ritiene che promuovano la tromboinfiammazione e peggiorino gli esiti

Middleton EA et al. *Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome*. *Blood*. 2020 Sep 3;136(10):1169-1179.

La trascrittoma a singola cellula e le analisi citometriche a flusso ad alta dimensione hanno rivelato più neutrofili pre/proimmaturi che esprimono alti livelli di geni associati alla degranolazione dei neutrofili e alla formazione di NET in pazienti con malattia grave insieme a proporzioni inferiori di monociti HLA-DR non classici e superiori

Silvin A et al. *Elevated Calprotectin and Abnormal Myeloid Cell Subsets Discriminate Severe from Mild COVID-19*. *Cell*. 2020 Sep 17;182(6):1401-1418.e18.

Questi risultati indicano che il COVID-19 grave è associato alla mobilitazione di neutrofili e monociti immaturi dal midollo osseo in circolazione, indicativo di mielopoiesi di emergenza. Tra queste popolazioni immature sono inclusi i granulociti a bassa densità (LDG) e le cellule soppressori di derivazione mieloide (MDSC), entrambi ipotizzati per contribuire alla patogenesi del COVID-19 e di altre infezioni che causano malattie critiche

Denning NL et al. *DAMPs and NETs in Sepsis*. *Front Immunol*. 2019 Oct 30;10:2536.

Un anno fa... Baedeker/Replay del 26 Febbraio 2022

Un passo verso il nulla: il genetista Mikhail Gelfand organizza la protesta contro la guerra in Ucraina

Questa mattina, 25 febbraio, poche ore dopo che la Russia ha lanciato un'invasione su vasta scala dell'Ucraina, Mikhail Gelfand ha cancellato la sua lezione regolare sulla genomica comparata e ha invece avuto una conversazione a cuore aperto su Zoom con i suoi studenti "Sono vecchio", dice lo specialista di bioinformatica presso l'Istituto di scienza e tecnologia Skolkovo vicino a Mosca, snocciolando un elenco di eventi politici strazianti a cui ha assistito: dalla dissoluzione dell'Unione Sovietica nel 1991 e dal tentativo di golpe comunista nel 1993 all'annessione della Crimea alla Russia nel 2014. "Quello che sta accadendo", dice, sono "come una piaga molto vecchia. Ti dà fastidio, è doloroso. Ma sai come conviverci". Per gli studenti "scioccati" di Gelfand, tuttavia, l'attacco al loro vicino li aveva lasciati con "una sensazione di impotenza".

Quando le speranze vengono tradite, si cade nella disperazione, e la disperazione genera impotenza (Haruki Murakami). Dopo l'appello di Zoom, alcuni studenti sono scesi in piazza per unirsi alle tante azioni di denuncia della Russia; la polizia ha arrestato centinaia di manifestanti. "L'opinione pubblica è sotto shock, la gente è sotto shock", ha detto all'Associated Press l'analista politico Abbad Gallyamov. Una petizione, avviata da un importante sostenitore dei diritti umani, Lev Ponomavyyv ha raccolto oltre 150.000 firme in poche ore e oltre 330.000 entro la fine della giornata. Più di 250 giornalisti hanno messo i loro nomi su una lettera aperta in cui denunciavano l'aggressione. Un altro è stato firmato da circa 250 scienziati, mentre 194 membri del consiglio comunale a Mosca e in altre città ne hanno firmato un terzo. Diverse celebrità e personaggi pubblici russi, inclusi alcuni che lavorano per la TV di stato, si sono espressi contro l'attacco. Yelena Kovalskaya direttrice di un teatro di Mosca finanziato dallo stato, ha annunciato su Facebook che avrebbe lasciato il suo lavoro, dicendo che "è impossibile lavorare per un killer e farsi pagare da lui". "So che in questo momento molti di voi provano disperazione, impotenza, vergogna per l'attacco di Vladimir Putin alla nazione amica dell'Ucraina. Ma ti esorto a non disperare", ha detto l'attivista per i diritti umani Marina Litvinovich in una dichiarazione video su Facebook, chiedendo proteste di massa giovedì sera. "Noi, il popolo russo, siamo contro la guerra che Putin ha scatenato. Non supportiamo questa guerra,

non viene condotta per nostro conto" in un video postato su Facebook, invitando a proteste di massa per giovedì sera. Litvinovich è stata arrestata fuori dalla sua residenza poco dopo aver pubblicato l'appello di protesta. OVD-Info, un gruppo per i diritti umani che segue gli arresti politici, ha riferito che giovedì sera erano state arrestate 1.745 persone in 54 città, di cui almeno 957 a Mosca.

Giovedì pomeriggio il comitato investigativo russo ha emesso un avviso ricordando ai russi che le proteste non autorizzate sono contro la legge.

Roskomnadzor, l'organismo di controllo delle comunicazioni statali, ha chiesto ai media russi di utilizzare "informazioni e dati solo da fonti ufficiali russe". Alcuni media hanno riferito che ai dipendenti di alcune società finanziate dallo stato è stato chiesto di astenersi dal commentare pubblicamente gli eventi in Ucraina. I difensori dei diritti umani hanno avvertito che di fatto è iniziata una nuova ondata di repressione del dissenso. Il famoso difensore dei diritti umani Pavel Chikov ha scritto su Facebook "Ci saranno nuovi casi (criminali) che coinvolgono sovvertitori, spie, tradimento, procedimenti giudiziari per proteste contro la guerra, ci saranno arresti di giornalisti e blogger, coloro che hanno scritto post critici sui social media, divieti di indagini sulla situazione nell'esercito e così via su , è difficile dire quanto sarà grande questa nuova ondata, dato che tutto è già stato soppresso". Nonostante le pressioni delle autorità, giovedì sera più di 1.000 persone si sono radunate nel centro di Mosca, gridando "No alla guerra!" mentre le auto di passaggio suonavano il clacson. In centinaia sono scesi in piazza anche a San Pietroburgo e dozzine a Ekaterinburg. Ekaterina Kuznetsova, ingegnere di 40 anni che si è unita alla manifestazione a San Pietroburgo, ha detto all'AP "Questo è il giorno più vergognoso e terribile della mia vita. Non potevo nemmeno andare al lavoro. Il mio paese è un aggressore. Odio Putin. Cos'altro si dovrebbe fare per far aprire gli occhi alle persone?"

La linea ufficiale della Russia nel frattempo è rimasta quella della intransigenza. Il presidente della camera alta del parlamento, Valentina Matviyenko, ha accusato coloro che si sono espressi contro l'attacco si preoccupavano solo dei loro "problemi momentanei". La TV di Stato ha dipinto l'attacco in linea con quanto affermato da Putin nel suo discorso televisivo in cui lo annunciava. La conduttrice televisiva di Russia 1, Olga Skabeyeva, lo ha definito uno sforzo "per proteggere le persone nel Donbas da un regime nazista" e ha affermato che è stato "senza esagerazione, un incrocio cruciale nella storia". Nel frattempo, Gelfand, la cui moglie è per metà ucraina, ha raccolto i firmatari di una lettera di protesta pubblicata su TrV-Nauka, un sito di notizie scientifiche indipendente che aiuta a modificare. Firmata finora da più di 370 scienziati e giornalisti scientifici russi, la lettera denuncia la guerra che si dice trasformerà la Russia in un "paria" : ciò significa che noi scienziati non saremo più in grado di svolgere normalmente il nostro lavoro: del resto, condurre ricerca scientifica è impensabile senza la collaborazione con colleghi di altri Paesi", la guerra con l'Ucraina è un passo verso il nulla". Mentre Science Insider stava intervistando il professor Gelfand, le truppe russe stavano avanzando più in profondità in Ucraina e avevano appena preso il controllo della centrale nucleare di Chernobyl. La comunità scientifica russa sta già subendo i primi danni collaterali: le Società matematiche britanniche, canadesi, francesi, polacche e statunitensi hanno tutte annunciato che non parteciperanno al Congresso internazionale dei matematici, che si terrà a San Pietroburgo, in Russia, a luglio. **Gelfand ci tiene a ribadire tre punti: -La prima** è che la comunità scientifica russa non è la stessa della leadership russa. **-La seconda** cosa è dimostrare ai nostri colleghi ucraini che ci opponiamo a ciò che il nostro governo sta facendo e stiamo facendo il possibile per fermarlo. **E la terza cosa**, dimostrare la stessa cosa alla comunità Internazionale nella speranza che qualsiasi azione per punire la Russia sia ponderata in modo tale da non punire proprio le persone che si oppongono a ciò che la Russia sta facendo. Si dice profondamente preoccupato. Prevede ad esempio che i biologi sperimentali saranno colpiti tremendamente e che non verranno concessi visti per partecipare a incontri scientifici e a continuare collaborazioni sperimentali. Dopo l'annessione della Crimea, confessa di essere andato in Ucraina un paio di volte per conferenze pubbliche su genomica di Neanderthal ed evoluzione molecolare. Sentivo che era mio dovere coltivare un legame tra scienziati russi e ucraini. Ora, temo, che non sarà più possibile. **Winston Churchill diceva che La Russia è un rebus avvolto in un mistero che sta dentro a un enigma.** La Russia è un paese nel quale, qualunque cosa tu dica, è vera. Anche se non è vera. Gorky sentenziava: lo nutro una particolare diffidenza e sfiducia per l'uomo russo al potere: egli, che è stato schiavo fino a poco tempo fa, diventa un despota sfrenato, appena gli si offre la possibilità di essere padrone del suo vicino.