

21. Marzo

Il “segreto” dell’efficacia di un vaccino

Non ci sono segreti che il tempo non riveli.

Jean Racine

Gli antigeni nei vaccini sono progettati per indurre anticorpi che si legano a epitopi chiave sulla superficie dei patogeni, promuovendo l'eliminazione dei microbi. Nonostante i progressi nell'ingegneria degli immunogeni, che imitano da vicino le strutture proteiche dei patogeni nativi, non tutti i vaccini suscitano una *immunità umorale protettiva*.

Per generare *risposte immunitarie protettive*, gli antigeni del vaccino sono progettati per imitare le strutture proteiche native su agenti patogeni estranei. Dopo la vaccinazione, gli antigeni vengono trasportati dal sito di iniezione dai vasi linfatici ai linfonodi drenanti, tessuti in cui vengono avviate le risposte immunitarie.

Nei **linfonodi**, gli antigeni possono essere conservati per periodi prolungati dopo l'immunizzazione, il che è essenziale per una risposta anticorpale efficace.

Tuttavia, i meccanismi mediante i quali gli antigeni intatti vengono mantenuti (conservati integri) non sono ben compresi.

Un recente studio condotto da venti dipartimenti del *Harvard University* coordinati da **Darrell J. Irvine**

Low protease activity in B cell follicles promotes retention of intact antigens after immunization

Science. 2023 Jan 27;379(6630):eabn8934



rivela l'importanza della bassa attività della **proteasi** nella rete delle **cellule dendritiche follicolari (FDC)** per il mantenimento strutturale dell'antigene.

Nello studio sono stati utilizzati gli **immunogeni dell'HIV** come sistema modello di riferimento

È stata misurata la *stabilità dell'antigene* nel linfonodo e successivamente identificate le **proteasi degradative** con l'obiettivo di esplorare e definire le strategie di vaccinazione per massimizzare la consegna di antigeni intatti alle **cellule B**.

La stabilità dell'antigene all'interno del linfonodo è stata determinata coniugando antigeni con coloranti che subiscono una perdita nel trasferimento di energia nella **risonanza di fluorescenza (FRET)** in caso di rottura strutturale.

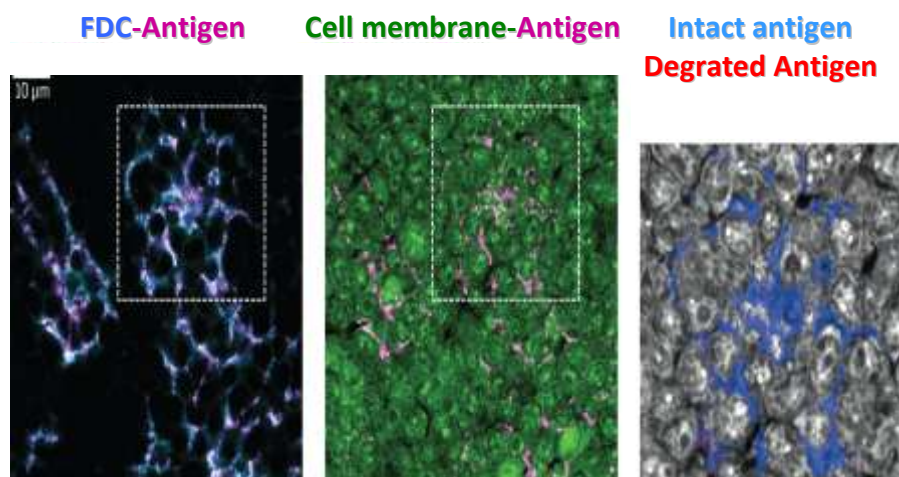
Dopo la vaccinazione, l'antigene è stato rapidamente degradato nel **seno sottocapsulare (SCS)** e **nelle regioni extrafollicolari** del linfonodo **entro 48 ore**, circa la metà della rottura dell'antigene che si è verificata a livello extracellulare.

Al contrario, l'antigene localizzato nei follicoli delle **cellule B** è rimasto intatto.

Per determinare la causa della degradazione dell'antigene, è stata saggiata l'attività della **proteasi linfonodale**

Il **sequenziamento dell'RNA**, l'istologia e la zimografia di imaging hanno rivelato che le **proteasi extracellulari e l'attività proteasica** erano presenti a livelli elevati nelle **regioni SCS e extrafollicolari**, ma erano presenti a bassi livelli all'interno dei follicoli.

Stabilità dell'antigene catturato da FDC dopo l'immunizzazione.



A sinistra e al centro:
antigeni HIV (magenta) localizzati in FDC (ciano) che risiedono tra le cellule del follicolo (verde) 3 giorni dopo l'immunizzazione.
A destra:
l'analisi FRET dell'integrità strutturale dell'antigene all'interno della regione delineata mostra che l'antigene localizzato nelle FDC rimane intatto.

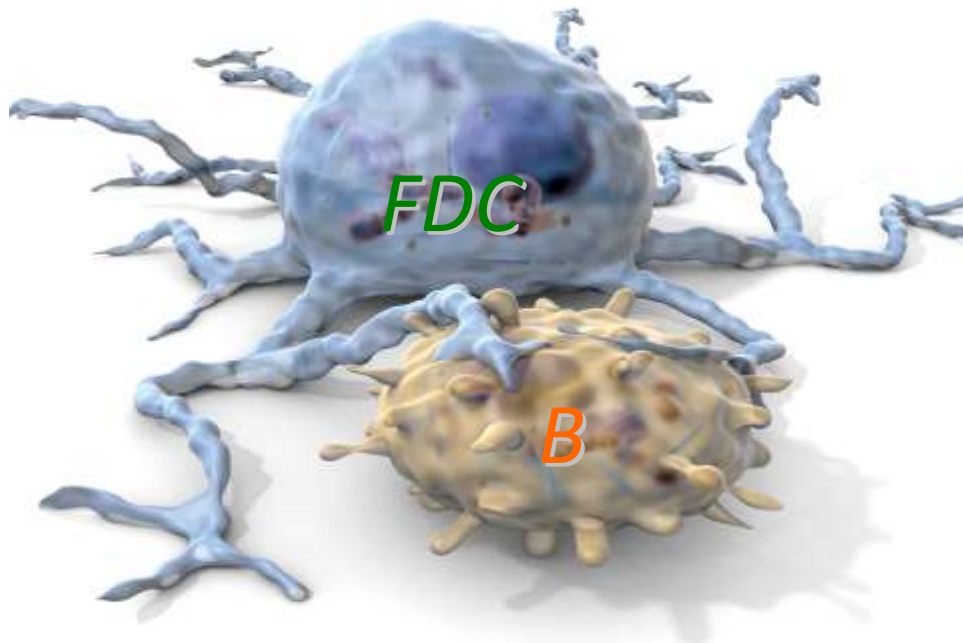
Le **metalloproteasi** identificate hanno degradato l'antigene in vitro e la loro inibizione in vivo ha aumentato i livelli di antigene intatto all'interno del LN.

Sebbene sia stato riportato che l'antigene catturato dalle **cellule dendritiche follicolari (FDC)** sia conservato in uno stato intatto, i meccanismi di questa conservazione continuano a rimanere poco chiari.

Per testare la bassa attività della **proteasi follicolare** sono state trasferite **cellule B policlonali** che esprimono proteasi nei linfonodi di topi immunizzati osservando una significativa diminuzione della stabilità dell'antigene catturato da **FDC**, indice di una bassa attività della proteasi follicolare è importante per la ritenzione intatta dell'antigene.

Infine sono state testate le strategie di vaccinazione per massimizzare la risposta umorale all'antigene intatto. L'immunizzazione mediante regimi di "dosaggio esteso" o formulazioni di nanoparticelle che miravano rapidamente all'antigene verso le **FDC** è stata confrontata con la tradizionale vaccinazione con antigene solubile in bolo (in cui si osserva un ridotto assorbimento follicolare dell'antigene).

Le vaccinazioni mirate a **FDC** hanno portato a *grandi centri germinali (GC)*, con un numero elevato di **cellule B** che riconoscono l'antigene intatto.



Al contrario, l'immunizzazione tradizionale in bolo ha portato a piccoli GC con **cellule B** che riconoscevano ugualmente l'antigene intatto e i prodotti di degradazione.

Modelli simili di risposta sono stati osservati nei titoli anticorpali sierici.

In sintesi: per attivare una risposta anticorpale di successo, gli antigeni in entrata devono posizionarsi rapidamente all'interno dei follicoli per evitare di essere distrutti dalle proteasi. Se ne deduce che i vaccini che consentono un rapido rilascio di antigeni ai follicoli sono quelli che generano le migliori risposte anticorpali.

Aung Aet al. Low protease activity in B cell follicles promotes retention of intact antigens after immunization. Science. 2023 Jan 27;379(6630):eabn8934.

Lecture consigliate

Liu YJ et al. Follicular dendritic cells and germinal centers. Int Rev Cytol. 1996;166:139-79.

Le cellule dendritiche follicolari (FDC) sono cellule stromali uniche dei follicoli linfoidi primari e secondari. Le cellule B a riposo in ricircolo migrano attraverso le reti FDC, mentre le cellule B attivate dall'antigene subiscono un'espansione clonale all'interno delle reti FDC in modo dipendente dalle cellule T, generando così centri germinativi. Qui, le cellule B subiscono mutazioni somatiche, selezione positiva e negativa, cambio di isotipo e differenziazione in plasmacellule ad alta affinità e cellule B di memoria. Dalla scoperta di FDC mediante microscopia elettronica come cellule che trattengono l'antigene a lungo termine 30 anni fa,

sono stati raggiunti l'isolamento di FDC e la generazione di linee cellulari simili a FDC e di anticorpi monoclonali specifici per FDC. Le FDC esprimono tutti e tre i tipi di recettori del complemento così come i recettori Ig-Fc, attraverso i quali vengono trattenuti gli immunocomplessi antigene-anticorpo. Tuttavia, il meccanismo che impedisce alle FDC di interiorizzare gli antigeni e di mantenerli in forma nativa per lunghi periodi di tempo rimane oscuro. Prove sostanziali derivate da colture in vitro indicano che le FDC contribuiscono direttamente alla sopravvivenza e all'attivazione delle cellule B periferiche. L'adesione tra FDC e cellule B è mediata da ICAM-1 (CD54)-LFA-1(CD11a) e VCAM-VLA-4. Le cellule T possono interagire con le FDC in modo dipendente dal ligando CD40/CD40. Se le FDC provengano da progenitori ematopoietici o da elementi stromali è ancora controverso. Nuove prove suggeriscono la presenza di due tipi di cellule dendritiche all'interno dei centri germinali umani: (i) le classiche FDC che esprimono gli antigeni DRC-1, KiM4 e 7D6 rappresentano le cellule stromali; e (ii) le cellule dendritiche del centro germinale CD3-CD4-CD11c recentemente identificate (GCDC) rappresentano cellule ematopoietiche che possono essere analoghe alle cellule di trasporto dell'antigene descritte nei topi. Infine, le FDC sembrano essere coinvolte nella crescita dei linfomi follicolari e nella patogenesi dell'infezione da HIV.

Zhang Ynet al . **Nanoparticle Size Influences Antigen Retention and Presentation in Lymph Node Follicles for Humoral Immunity.** Nano Lett. 2019 Oct 9;19(10):7226-7235.

I follicoli linfonodali catturano e trattengono gli antigeni per indurre i centri germinativi e l'immunità umorale di lunga durata. Tuttavia, il controllo sulla ritenzione dell'antigene è stato limitato. Qui abbiamo scoperto che l'antigene coniugato a portatori di nanoparticelle di diverse dimensioni influisce sul trasporto intralinfatico e sull'interazione cellulare specifica. Abbiamo scoperto che le reti di cellule dendritiche follicolari (FDC) determinano il destino del follicolo del linfonodo intralinfatico di queste nanoparticelle eliminando quelle più piccole (5-15 nm) entro 48 ore e conservando quelle più grandi (50-100 nm) per oltre 5 settimane. Le nanoparticelle di dimensioni 50-100 nm avevano un rilascio di antigene 175 volte maggiore ai dendriti FDC, risposte immunitarie umorali potenziate di 5 volte della formazione delle cellule B del centro germinale e una produzione di anticorpi specifici per l'antigene 5 volte superiore a 5-15 nm nanoparticelle.

Un anno fa... Baedeker/Replay del 22 marzo 2022

Il fenomeno STEMI durante la pandemia di COVID-19: cosa c'è sotto la punta dell'iceberg?

BMJ hart riporta la corrispondenza Prof. **Christian Templin, University Heart Center, Dipartimento di Cardiologia, Ospedale Universitario di Zurigo**, sulle Potenziali cause e conseguenze degli STEMI mancanti durante la pandemia di COVID-19.<http://dx.doi.org/10.1136/heartjnl-2021-320383> **L'infarto miocardico con soprasslivellamento del segmento ST (STEMI) è un'emergenza critica.**

La sua gestione ottimale dipende dalla celerità del l'intervento coronarico percutaneo primario (PPCI) Durante la pandemia di COVID-19, è stato registrato, a livello globale, un calo di casi di ACS (Acute Coronary Syndromes).

I dati di alta qualità sono stati inizialmente riportati nel **ISACS-STEMI COVID-19**, che è un registro retrospettivo gestito dall'International Study on Acute Coronary Syndromes-ST Elevation un consorzio multinazionale multicentrico che ha come obiettivo fornire un'istantanea delle stime di incidenza e dei risultati di STEMI durante il COVID- 19 pandemia.

Nella loro relazione iniziale Christian Templin e Victoria Camman dopo aver registrato a riduzione delle procedure PPCI. (De Luca G et al. . *Impact of COVID-19 pandemic on mechanical reperfusion for patients with STEMI. J Am Coll Cardiol 2020;76:2321–30.*) ; COVID-19 pandemic, mechanical reperfusion and 30-day mortality in ST elevation myocardial infarction. Heart 2022;108:458–66.) riportano uno studio di follow-up e i risultati finali del Registro ISACS-STEMI COVID-19 in cui sono stati riesaminati i tassi di incidenza dei pazienti con STEMI sottoposti a PPCI, trattamento ritardato (definito come tempo di ischemia superiore a 12 ore e palloncino oltre 30 min) insieme a mortalità intraospedaliere e mortalità a breve termine (entro 30 giorni).

La coorte analizzata comprendeva un totale di **16.674** pazienti provenienti da 109 siti in Europa, America Latina, Sud-est asiatico e Nord Africa. I pazienti con STEMI sottoposti a PPCI dal 1 marzo 2020 al 30 giugno 2020 (n=7630) sono stati confrontati con i pazienti dal 1 marzo 2019 al 30 giugno 2019 (n=9044). L'incidenza dei referral STEMI è risultata ridotta a circa il 16% nel 2020 rispetto al periodo di controllo pre-pandemia nel 2019; soprattutto tra gli anziani, è stata osservata una riduzione del 20% delle procedure PPCI. Inoltre è stata notata una significativa diminuzione dei casi STEMI in quasi tutti i siti partecipanti; in Europa è stata osservata una riduzione maggiore nel periodo marzo-aprile 2020 rispetto a maggio-giugno 2020 e nel sud-est asiatico e in Nord Africa la riduzione è stata maggiore nel periodo maggio-giugno 2020 rispetto a marzo-aprile 2020.

Da notare che il numero di procedure ridotte di PPCI non erano correlate al picco dei casi di COVID-19 né ai decessi correlati a COVID-19. La pandemia di COVID-19 è stata ulteriormente associata a un tempo di ischemia più lungo e a un aumento del "tempo palloncino", che probabilmente ha contribuito all'aumento della mortalità intraospedaliera e alla mortalità a 30 giorni. I pazienti positivi al COVID-19 con STEMI hanno affrontato una prognosi infausta, con tassi di mortalità superiori al 25%. Una riduzione maggiore è stata osservata nel periodo marzo-aprile 2020 rispetto a maggio-giugno 2020 e nel sud-est asiatico e in Nord Africa la riduzione è stata maggiore nel periodo maggio-giugno 2020 rispetto a marzo-aprile 2020. Da notare, il numero di procedure PPCI ridotte non è correlato al picco dei casi di COVID-19 né ai decessi correlati al COVID-19. La pandemia di COVID-19 è stata ulteriormente associata a un tempo di ischemia più lungo e a un aumento del "tempo palloncino", che probabilmente ha contribuito all'aumento della mortalità intraospedaliera e alla mortalità a 30 giorni. I pazienti positivi al COVID-19 con STEMI hanno affrontato una prognosi infausta, con tassi di mortalità superiori al 25%. una riduzione maggiore è stata osservata nel periodo marzo-aprile 2020 rispetto a maggio-giugno 2020 e nel sud-est asiatico e in Nord Africa la riduzione è stata maggiore nel periodo maggio-giugno 2020 rispetto a marzo-aprile 2020.

Nonostante gli inevitabili limiti di uno studio retrospettivo, i dati di questo database internazionale completo di informazioni e i dettagli e l'analisi presentati forniscono approfondimenti preziosi sulle ***caratteristiche e le conseguenze della prima ondata della pandemia di COVID-19.***

I limiti dello studio sono la limitata generalizzabilità al di fuori dell'Europa a causa del basso numero di centri inclusi e il periodo di follow-up relativamente breve. La pandemia di COVID-19, in particolare la prima ondata, ha avuto un impatto importante sul trattamento di condizioni acute come l'infarto miocardico acuto (IMA) e l'ictus. Le limitazioni delle risorse dovute al numero schiacciante di ricoveri correlati al COVID-19 hanno causato la conversione dei laboratori di cateterizzazione in unità di terapia intensiva COVID-19, inoltre, il triage prolungato in base al tempo di attesa per i risultati del test COVID-19 potrebbe aver causato ritardi nell'assistenza STEMI acuta.

Sono state formulate diverse ipotesi per spiegare l'improvviso calo dei casi di STEMI durante la pandemia di COVID-19.

Questi includono rigorose istruzioni governative di "stare a casa", la paura del contagio e i dubbi di rivolgersi a un medico in un sistema sanitario già sopraffatto. Inoltre, l'isolamento sociale dai membri della famiglia potrebbe aver contribuito a ridurre il rilevamento di IMA, soprattutto tra gli anziani, che sono di per sé una popolazione ad alto rischio.

COVID-19 imita il quadro clinico di STEMI (dolore toracico, dispnea e alterazioni dell'ECG) che potrebbe aver contribuito a una diagnosi errata di veri casi di STEMI.

I biomarcatori cardiaci possono anche essere fuorvianti, in particolare, la troponina che può risultare elevata nei pazienti critici con COVID-19. Di conseguenza, i laboratori di cateterizzazione avrebbero potuto essere meno attivati per bilanciare i benefici ed i rischi per ridurre al minimo l'esposizione del personale ed evitare interventi non necessari. Il numero ridotto di STEMI è un elemento di preoccupazione. L'opportunità persa di rivolgersi a un medico può in definitiva tradursi in un numero maggiore di conseguenze a lungo termine data la mancanza di cure acute e misure di prevenzione secondaria. **Gli individui che hanno saltato il trattamento acuto possono essere a più alto rischio di insufficienza cardiaca, angina post-IMA, rigurgito mitralico secondario, instabilità elettrica, cardiomiopatia ischemica ed esiti peggiori** Poiché il numero di infezioni da COVID-19 tende nuovamente ad aumentare, le campagne

dovrebbero incoraggiare il pubblico a cercare assistenza medica immediata in caso di dolore toracico perché è fondamentale una valutazione adeguata e una gestione tempestiva delle condizioni cardiache acute. Ulteriori studi, incluso un follow-up più lungo dei pazienti, potranno consentire sempre nuovi dati per scoprire le (potenziali) conseguenze a lungo termine dei casi STEMI mancati, quindi è importante analizzare adesso cosa accade sotto la punta di questo complicato iceberg

Un anno fa... Baedeker/Replay del 22 marzo 2021

Vaccini anti SAMPs