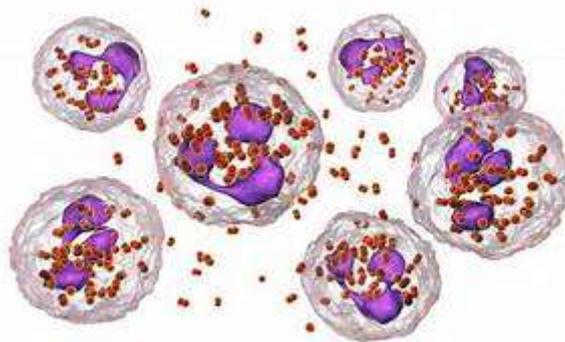


9. Ottobre

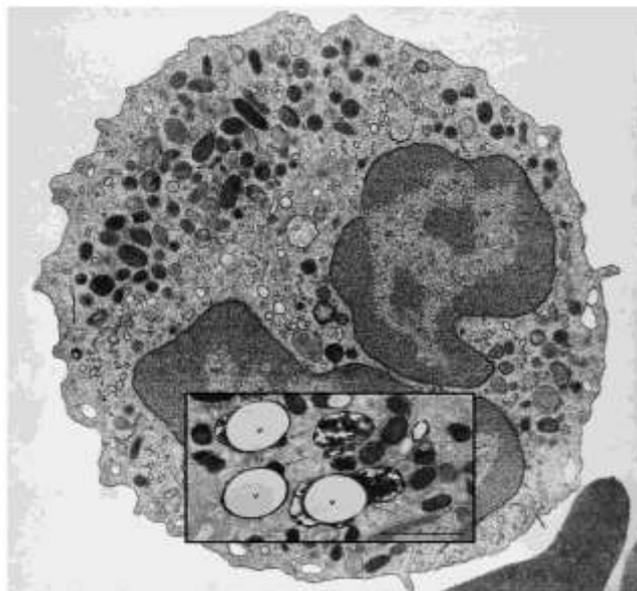
La complessa chemiotassi dei neutrofili

*Sembra esserci nell'uomo,
come nell'uccello, un bisogno di migrazione,
una vitale necessità di sentirsi altrove.
(Marguerite Yourcenar)*

I neutrofili sono stati tradizionalmente considerati semplici soldati di fanteria del sistema immunitario innato con un insieme ristretto di funzioni proinfiammatorie.



I neutrofili sono cellule complesse capaci di una vasta gamma di funzioni specializzate. Sebbene i neutrofili siano senza dubbio i principali effettori dell'infiammazione acuta, diverse linee di evidenza indicano che contribuiscono anche alle condizioni infiammatorie croniche e alle risposte immunitarie adattive.



La visione dei neutrofili come un tipo di cellula omogenea e di breve durata con un ruolo limitato all'eliminazione degli agenti patogeni durante la risposta immunitaria innata ha iniziato a cambiare.

Studi recenti hanno rivelato che la durata della vita di un neutrofilo in circolazione potrebbe essere molto più lunga e che potrebbero esistere sottopopolazioni differenziali di neutrofilo e i loro serbatoi (pool marginali) (anche se resta ancora da determinare se queste sottopopolazioni sono funzionali o limitate dal lignaggio) .

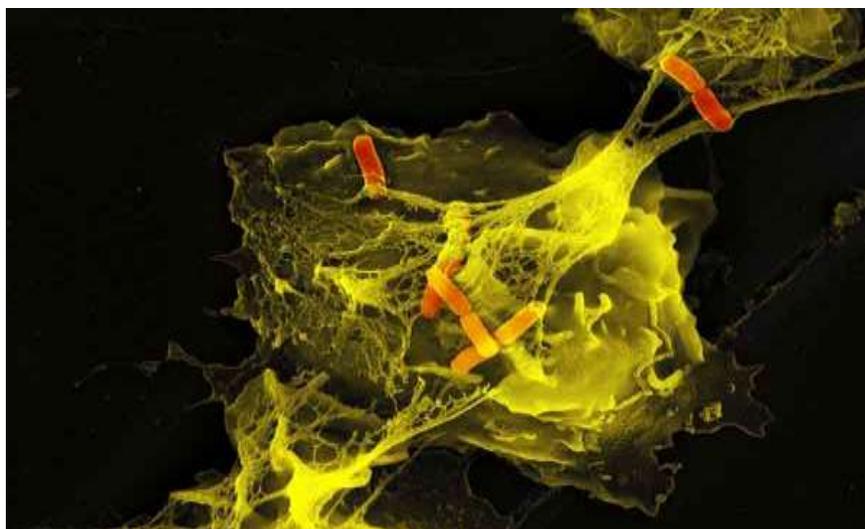
La cascata classica del reclutamento dei neutrofilo è stata rivisitata ed aggiornata e attualmente riflette una migliore comprensione di come questo processo avviene nel sangue in condizioni di stress di taglio (ad esempio, è stato scoperto che i neutrofilo formano legami e imbracature per ancorarsi al sistema vascolare).

Inoltre, è migliorata la comprensione riguardo a quali siano i siti preferibili di stravasamento di neutrofilo. Ora è anche chiaro che ci sono eccezioni a questa cascata classica in un certo numero di organi, come il fegato, i polmoni e il cervello, dove alcuni passaggi della cascata non si verificano e/o diverse molecole vengono utilizzate dai neutrofilo. Inoltre, riconosciamo che potrebbero esserci differenze tra infiammazione sterile e infettiva.

Una volta stravasati, i neutrofilo seguono una gerarchia di molecole chemiotattiche per raggiungere il sito dell'infiammazione, seguendo prima i chemiotattici "intermedi" (chemochine endogene) e poi successivamente i chemiotattici "finali" (peptidi batterici o componenti del complemento). Il processo di chemiotassi è controllato da molteplici vie di segnalazione intracellulare (dipendente dalla proteina chinasi attivata dal mitogeno) che controllano i segnali "go" e "stop".

Nonostante il dogma preesistente secondo cui i neutrofilo lasciano il sistema vascolare e muoiono, è stato rivelato che alcuni neutrofilo stravasati potrebbero rientrare in circolazione, portando alla diffusione dell'infiammazione ad altri organi e al successivo danno tissutale. In altri casi, le cellule trasmigranti possono svolgere un ruolo importante nella risoluzione dell'infiammazione. Infatti, è stato dimostrato che i neutrofilo partecipano alla guarigione delle ferite e limitano attivamente l'auto-reclutamento attraverso il rilascio di molecole endogene che inibiscono l'attivazione delle integrine o i cambiamenti del citoscheletro.

I ruoli descritti dei neutrofilo riguardano il loro coinvolgimento nell'immunità adattativa controllando l'attivazione delle cellule T e B e attraverso la presentazione degli antigeni alle cellule presentanti l'antigene professionali nei linfonodi.



La formazione di trappole extracellulari dei neutrofili (NET), una strategia di eradicazione dei patogeni scoperta meno di dieci anni fa, avviene *in vivo* non solo durante l'inflammation acuta (batterica o virale), ma anche in numerose condizioni patologiche, come le malattie autoimmuni, malattie vascolari e cancro. I meccanismi di formazione dei NET indicano che i neutrofili che rilasciano NET *in vivo* non muoiono immediatamente ma continuano a svolgere funzioni come la chemiotassi e la fagocitosi.



Il ricercatori del Department of Microbiology and Molecular Genetics, University of California, Davis. Coordinato da Stefan M Lundgren hanno pochi giorni fa (3 ottobre) pubblicato il report

Lundgren SM et al
Signaling dynamics distinguish high- and low-priority neutrophil chemoattractant receptors.

Sci Signal. 2023 Oct 3;16(805):eadd1845.

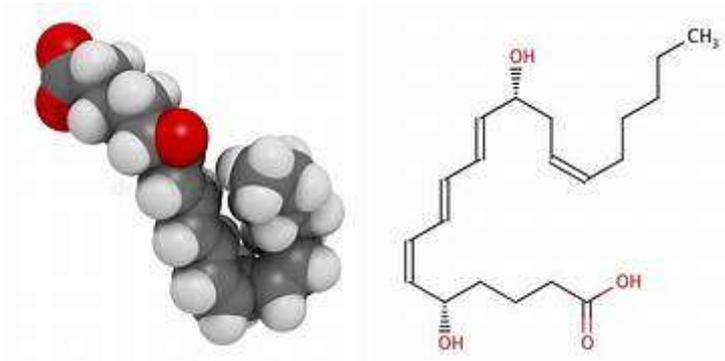
Ed hanno identificato le modalità Attraverso cui i neutrofili danno priorità alle risposte a un chemiotattico rispetto a un altro.

Nei neutrofili umani primari e in una linea cellulare di neutrofili, la segnalazione avviata da chemiotattici ad alta priorità (come quelli rilasciati da siti di infezione o danno) è durata più a lungo di quella indotta da chemiotattici a bassa priorità (come quelli rilasciati da siti di infiammazione)

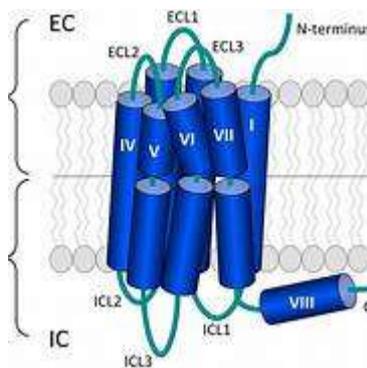
La rapida attenuazione della segnalazione a valle del recettore per un chemiotattico a bassa priorità ha richiesto la fosforilazione di due siti nella coda C-terminale del recettore. Insieme, questi risultati rivelano come i neutrofili classificano i chemiotattici che attivano una via di segnalazione comune.

Nel "mondo reale" i neutrofili umani rispondono a molteplici chemioattraenti per guidare la loro migrazione dal sistema vascolare verso i siti di infezione e lesione, dove eliminano gli agenti patogeni e amplificano l'infiammazione.

Per focalizzare adeguatamente le loro risposte durante questa complessa navigazione, i neutrofili danno priorità ai segnali derivati da agenti patogeni e lesioni rispetto ai segnali infiammatori a lungo raggio, come il **leucotriene LTB₄**, secreto dalle cellule ospiti.



Diversi chemiotattici possono anche guidare modalità di migrazione qualitativamente diverse anche se i loro recettori si accoppiano allo stesso **Gαi famiglia delle proteine G**.



Utilizzando imaging di cellule hanno dimostrato che le risposte differivano nella dinamica di segnalazione.

I chemiotattici a bassa priorità hanno causato risposte transitorie, mentre le risposte ai chemiotattici ad alta priorità sono state prolungate.

Questa differenza è evidente sia nei neutrofili primari che nelle cellule HL-60 differenziate, per la segnalazione a valle mediata da Ca^{2+} , un importante regolatore della secrezione, e **Cdc42**, un regolatore primario della polarità e del governo cellulare.

La rapida attenuazione dell'attivazione di Cdc42 in risposta a LTB4 dipendeva dai siti di fosforilazione Thr 308 e Ser 310 nella coda carbossi-terminale del suo recettore LTB4R in modo indipendente dall'endocitosi.

La mutazione di questi residui nell'alanina ha compromesso la priorità dei chemiotattici, sebbene non abbia influenzato le differenze dipendenti dai chemoattraenti nella persistenza della migrazione.

Complessivamente questi risultati indicano che esiste una distinta regolazione temporale delle vie di segnalazione condivise tra i recettori e contribuisce alla definizione delle priorità dei chemiotattici. In altre parole i neutrofili classificano i chemiotattici che attivano una via di segnalazione comune e che sono capaci di attivare una via di segnalazione

Lecture integrative consigliate

Gurule NJ et al ., **Myelodysplastic neoplasm-associated U2AF1 mutations induce host defense defects by compromising neutrophil chemotaxis**. Leukemia. 2023 Oct;37(10):2115-2124.

La neoplasia mielodisplastica (MDS) è una malattia delle cellule staminali emopoietiche che può evolvere in leucemia mieloide acuta. L'infezione fatale è tra le cause di morte più comuni nei pazienti con MDS, probabilmente a causa della citopenia e della disfunzione delle cellule mieloidi in questi pazienti. Le mutazioni nei geni che codificano per componenti dello spliceosoma rappresentano la classe più comune di mutazioni somaticamente acquisite nei pazienti con MDS. Per determinare le basi molecolari dei difetti di difesa dell'ospite nei pazienti con MDS, abbiamo studiato la mutazione dello spliceosoma associata a MDS U2AF1-S34F utilizzando un modello di topo transgenico che esprime questo gene mutante. Abbiamo scoperto che U2AF1-S34F provoca un profondo difetto di difesa dell'ospite in questi topi, probabilmente inducendo un significativo difetto di chemiotassi dei neutrofili. Studi sui neutrofili umani suggeriscono che questo effetto di U2AF1-S34F si estende probabilmente anche ai pazienti con MDS. L'analisi dell'RNA-seq suggerisce che l'espressione di più geni che mediano la migrazione cellulare sono influenzati da questa mutazione dello spliceosoma e quindi sono probabili fattori che determinano questa disfunzione dei neutrofili.

Liu J et **Neutrophil extracellular traps in intracerebral hemorrhage: implications for pathogenesis and therapeutic targets**. Metab Brain Dis. 2023 Jul 24.

L'emorragia intracerebrale è una malattia neurologica comune e il suo meccanismo patologico è complesso. Essendo il primo sottotipo di leucociti reclutato dopo l'emorragia intracerebrale, i neutrofili svolgono un ruolo importante nel danno tissutale. In passato si riteneva che i neutrofili svolgessero le loro funzioni attraverso la fagocitosi, la chemiotassi e la degranolazione. Negli ultimi anni, gli studi hanno scoperto che i neutrofili hanno anche la funzione di secernere trappole extracellulari. Le trappole extracellulari sono strutture fibrose composte da cromatina e proteine granulari, che svolgono un ruolo importante nell'immunità innata. Gli studi hanno dimostrato un gran numero di trappole extracellulari di neutrofili in campioni di ematoma, campioni di plasma e campioni di drenaggio dopo emorragia intracerebrale. In questo documento, abbiamo riassunto i meccanismi correlati delle trappole esterne dei neutrofili e delle lesioni dopo l'emorragia intracerebrale. Le trappole extracellulari dei neutrofili sono coinvolte nel processo di lesione cerebrale dopo emorragia intracerebrale. L'applicazione di inibitori correlati per inibire la formazione di trappole esterne dei neutrofili o favorirne la dissoluzione può alleviare efficacemente il danno patologico causato dall'emorragia intracerebrale.

Hein LE et al. **TGF- β 1 activates neutrophil signaling and gene expression but not migration**. PLoS One. 2023 Sep 8;18(9):e0290886.

I neutrofili associati al tumore si trovano in molti tipi di cancro e spesso si ritiene che contribuiscano a esiti negativi. Secondo quanto riferito, la presenza del fattore di crescita trasformante beta (TGF- β) nel microambiente tumorale contribuisce all'inclinazione dei neutrofili verso un fenotipo più pro-tumorale. Gli effetti del TGF- β sulla segnalazione e sulla migrazione dei neutrofili non sono tuttavia chiari. Abbiamo cercato di caratterizzare la segnalazione del TGF- β sia nei neutrofili umani primari che nella linea cellulare simile ai neutrofili HL-60 e determinare se induce direttamente la migrazione dei neutrofili. Abbiamo scoperto che il TGF- β 1 non induce chemiotassi dei neutrofili nei test di migrazione transwell o underagarose. TGF- β 1 attiva la segnalazione canonica attraverso SMAD3 e la segnalazione non canonica attraverso ERK1/2 nei neutrofili in modo tempo e dose-dipendente. Inoltre, il TGF- β 1 presente nei media condizionati dal tumore (TCM) delle cellule di cancro al seno invasivo determina l'attivazione di SMAD3

Yang S et al [Neutrophil extracellular traps promote angiogenesis in gastric cancer](#). Cell Commun Signal. 2023 Jul 21;21(1):176.

Sebbene la terapia antiangiogenica sia stata utilizzata nel cancro gastrico, la progressione della malattia dovuta alla resistenza ai farmaci rimane comune. I neutrofili svolgono un ruolo importante nella comparsa e nella progressione del cancro attraverso le trappole extracellulari dei neutrofili (NET). Tuttavia, pochi studi hanno indagato la regolazione angiogenica nel cancro gastrico. Il nostro obiettivo era determinare il ruolo dei NET nel promuovere l'angiogenesi nel cancro gastrico. La colorazione immunohistochimica multipla è stata utilizzata per analizzare la distribuzione spaziale dei NET e dei microvasi nei campioni di tessuto dei pazienti. È stato creato un modello di tumore sottocutaneo nel topo per determinare l'effetto dei NET sulla crescita del tumore e sono stati osservati cambiamenti nella densità dei microvasi tramite colorazione immunohistochimica. Abbiamo esaminato le proteine espresse in modo differenziale negli HUVEC stimolati dai NET tramite proteomica. Kit conteggio cellule-8, L'etichettatura EdU e i test di formazione dei tubuli sono stati utilizzati per verificare l'effetto dei NET sulla proliferazione, migrazione e formazione dei tubuli HUVEC. Il blocco dei NET, correlato alla diminuzione della densità dei microvasi, ha inibito significativamente la crescita del tumore nel modello di tumore sottocutaneo murino. Rispetto a quelli del gruppo di controllo, il volume e la massa del tumore tra i topi del gruppo di inibizione sono diminuiti rispettivamente del 61,3% e del 77,9%. Il recettore NET-DNA CCDC25 è stato espresso negli HUVEC, fornendo una piattaforma per i NET per promuovere la proliferazione, la migrazione e la tubulazione degli HUVEC. In un modello di espanto aortico di ratto in vitro, i NET hanno indotto proliferazione, sopravvivenza e chemiotassi di HUVEC, che non erano significativamente diversi da quelli osservati nel gruppo di stimolazione VEGF. I nostri risultati confermano che i NET promuovono l'angiogenesi nel cancro gastrico, fornendo una base teorica per identificare nuovi bersagli terapeutici antivascolari. Estratto del video.



Ho visto, ovunque, la stessa schifezza, il macello di esseri umani. Ho visto la brutalità e la violenza, il godimento nell'uccidere un nemico indifeso.

Gino Strada

