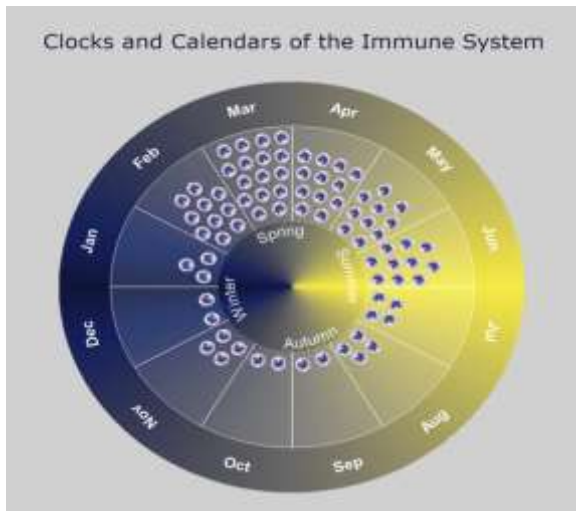


**31. Ottobre**

## **Immunità circadiana**

*Il sonno è una sorta di innocenza e di purificazione.*

Henri-Frédéric Amiel



**L'orologio circadiano** utilizza segnali ambientali ritmici, come la luce e l'assunzione di cibo, per stabilire ritmi di circa 24 ore nella stragrande maggioranza dei processi fisiologici. Questi cicli biologici preparano meglio gli organismi ad affrontare eventi regolari e ricorrenti nel loro ambiente. Il sistema immunitario non fa eccezione. È altamente regolato circadiano e mostra ritmicità 24 ore su 24 sia allo stato stazionario che durante l'attivazione.

I ritmi immunitari sono stati scoperti per la prima volta nel sistema immunitario innato nel 1960 e 10 anni dopo, è stato dimostrato che i componenti del sistema immunitario adattivo dipendono in modo simile dall'ora del giorno

**Fernandes G et al** *Circadian rhythmic plaque-forming cell response of spleens from mice immunized with SRBC.* *J Immunol.* 1976 Sep;117(3):962-6.

Più di mezzo secolo dopo, ora sappiamo che la cellularità immunitaria, la migrazione e la funzione sono tutte regolate dall'orologio circadiano. Il numero di leucociti circolanti oscilla nel sangue dei mammiferi, raggiungendo il picco durante la fase di riposo comportamentale nei topi notturni (giorno) e negli esseri umani diurni (notte)

**Wyse C et al.** *Seasonal and daytime variation in multiple immune parameters in humans: Evidence from 329,261 participants of the UK Biobank cohort.* *iScience.* 2021 Mar 1;24(4):102255.

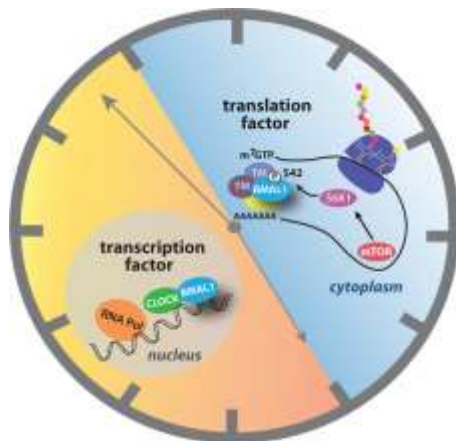
Gli orologi circadiani modulano anche la migrazione dei leucociti attraverso il corpo, determinando efficacemente il numero di leucociti in siti specifici durante il giorno. Inoltre, le funzioni effettrici dei leucociti dipendono dall'ora del giorno, così come la capacità delle cellule immunitarie attivate di proliferare e produrre citochine.

È molto probabile che questi ritmi immunitari si siano evoluti per difendersi dai picchi diurni di incontro con agenti patogeni, come quelli che si verificano a causa di maggiori interazioni sociali o trasmessi attraverso l'assunzione di cibo che si verificano prevalentemente durante il periodo comportamentale attivo.

**Challet E.** *The circadian regulation of food intake.* *Nat Rev Endocrinol.* 2019 Jul;15(7):393-405.

Sebbene la capacità di rilevare e adattarsi ai ritmi ambientali ricorrenti esista praticamente in tutte le specie, il modo molecolare e la complessità di come vengono mantenuti i ritmi circadiani variano tra gli organismi. Nei mammiferi, il meccanismo centrale dell'orologio circadiano è costituito da un sistema altamente interconnesso di fattori di trascrizione, che formano diversi circuiti di feedback trascrizione-traduzione che si attivano e si inibiscono a vicenda per guidare ritmi di 24 ore a livello molecolare

**Takahashi JS. *Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock*. Nat Rev Genet. 2017 Mar;18(3):164-179.**



Questa rete viene spesso definita orologio centrale ed è costituita dai fattori di trascrizione:

### **BMAL1**

*traslocatore nucleare del recettore nucleare degli idrocarburi arilici del cervello e dei muscoli (ARNT)-like 1; codificato da Arntl],*

### **CLOCK**

*cicli di output locomotore circadiano kaput), PER1/2/3 (omologhi delle proteine del periodo circadiano) e CRY1/2 (criptocromi 1/2)*

**Takahashi JS. *Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock*. Nat Rev Genet. 2017 Mar;18(3):164-179.**

Questa rete viene spesso definita orologio centrale ed è costituita dai fattori di trascrizione

### **BMAL1**

*traslocatore nucleare del recettore nucleare degli idrocarburi arilici del cervello e dei muscoli (ARNT)-like 1; codificato da Arntl],*

### **CLOCK**

*cicli di output locomotore circadiano kaput), PER1/2/3 (omologhi delle proteine del periodo circadiano) e CRY1/2 (criptocromi 1/2)*

**Takahashi JS. *Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock*. Nat Rev Genet. 2017 Mar;18(3):164-179.**

A livello proteico, **BMAL1** e **CLOCK** formano un fattore di trascrizione eterodimerico, che si lega alle regioni **potenziatrici (E)-box dei geni bersaglio**, compresi quelli nel locus genico dei regolatori negativi **Per1/2/3** e **Cry1/2**, inducendone la espressione

Una volta espressi, **PER** e **CRY** formano anche un complesso di fattori di trascrizione eterodimerici che inibisce l'espressione di **BMAL1** e **CLOCK** finché le concentrazioni dei repressori non sono sufficientemente basse da riavviare il ciclo

Inoltre, il recettore nucleare REV-ERB  $\alpha/\beta$  [recettore nucleare sottofamiglia 1 gruppo D (NR1D); codificato da *Nr1d1/2*] e i recettori orfani (ROR) correlati al recettore dell'acido retinoico (RAR) costituiscono un circuito di feedback secondario che stabilizza l'orologio molecolare centrale Scheiermann C et al *A Clocking in to immunity. Nat Rev Immunol. 2018 Jul;18(7):423-437.*



**John O'Neill** del *Centre for Systems Biology at Edinburgh* ha dimostrato che i ritmi circadiani possono verificarsi anche in cellule prive di nucleo, dove i ritmi sono orchestrati da oscillazioni nell'ossidazione delle proteine della perossiredossina O'Neill JS et al. *Circadian rhythms persist without transcription in a eukaryote. Nature. 2011 Jan 27;469(7201):554-8.*

La maggior parte degli studi circadiani sul sistema immunitario si sono concentrati sul ruolo di **BMAL1**, perché è l'unico gene orologio la cui sola assenza annulla la ritmicità. Gli studi che interrompono l'orologio molecolare attraverso la rimozione di **BMAL1** devono quindi distinguere tra gli effetti mediati specificamente da **BMAL1** e quelli mediati dalla funzione dell'orologio in generale, perché questi ultimi dovrebbero essere corroborati con ulteriori mutanti dell'orologio quando possibile.

Carenza in vari componenti dell'orologio, come *Bmal1* da solo o doppi knockout di *Cry1* e *Cry2* o *Per1* e *Per2*, è stato associato a una varietà di fenotipi infiammatori alterati, dimostrando il ruolo critico dell'orologio circadiano nel corretto funzionamento del sistema immunitario dei mammiferi

## Letture consigliate

### Ritmi circadiani nell'immunità innata e risposte allo stress.

Baxter M, Ray DW. *Circadian rhythms in innate immunity and stress responses. Immunology. 2020 Dec;161(4):261-267.*

Gli orologi circadiani sono una caratteristica comune della vita sul nostro pianeta, poiché consentono alla fisiologia e al comportamento di adattarsi alle ricorrenti fluttuazioni ambientali. Esistono ora prove convincenti che il disturbo della coerenza circadiana può minare gravemente la salute mentale e fisica, oltre a esacerbare patologie preesistenti. Principi comuni di progettazione molecolare sono alla base della generazione di ritmi circadiani cellulari nei regni e, negli animali, i componenti genetici sono estremamente ben conservati. Nei mammiferi, il meccanismo di temporizzazione circadiano è presente nella maggior parte dei tipi cellulari e stabilisce cicli locali di espressione genica e attività metabolica. Questi orologi tissutali distribuiti sono normalmente sincronizzati da un pacemaker centrale, i nuclei soprachiasmatici (SCN), situati nell'ipotalamo. Tuttavia, la maggior parte degli orologi del corpo rimangono sensibili agli stimoli ormonali e metabolici non derivati dal SCN (ad esempio, il riallineamento degli orologi del fegato allo schema alimentare alterato). È stato dimostrato che l'orologio è un regolatore influente del metabolismo energetico, consentendo di sintonizzare i percorsi chiave attraverso il ciclo di 24 ore mentre le esigenze metaboliche fluttuano. Inoltre, i componenti dell'orologio, tra cui le proteine Criptocromo e Rev-

Erb, sono stati identificati come modulatori essenziali del sistema immunitario innato e delle risposte infiammatorie. Gli studi hanno anche rivelato che queste proteine regolano la funzione del recettore dei glucocorticoidi, un importante bersaglio farmacologico e regolatore cruciale dell'infiammazione e del metabolismo.

### **Interconnessioni tra orologi circadiani e metabolismo.**

[Guan D, Lazar MA. Interconnections between circadian clocks and metabolism. J Clin Invest. 2021 Aug 2;131\(15\):e148278.](#)

I ritmi circadiani si sono evoluti attraverso l'adattamento ai cambiamenti quotidiani di luce/buio nell'ambiente; si ritiene che siano regolati dal ciclo di feedback ad incastro dell'orologio circadiano centrale. Studi recenti indicano che ciascun componente principale svolge funzioni generali e specifiche nel metabolismo. Qui, esaminiamo l'attuale comprensione del ruolo di questi geni fondamentali dell'orologio circadiano nella regolazione del metabolismo utilizzando vari modelli animali geneticamente modificati. Inoltre, prove emergenti mostrano che l'esposizione a stimoli ambientali, come la luce artificiale, una dieta sbilanciata, un'alimentazione sbagliata e l'esercizio fisico, rimodella i processi fisiologici circadiani e causa disturbi metabolici. Questa recensione riassume la regolazione reciproca tra l'orologio circadiano e il metabolismo, evidenzia le lacune rimanenti nella conoscenza sulla regolazione dei ritmi circadiani e del metabolismo ed esamina le potenziali applicazioni alla salute e alle malattie umane.

### **Orologi circadiani nel sistema immunitario.**

[Labrecque N et al. Circadian Clocks in the Immune System. J Biol Rhythms. 2015 Aug;30\(4\):277-90.](#)

Il sistema immunitario è un insieme complesso di meccanismi fisiologici il cui scopo generale è difendere l'organismo dagli organismi estranei, come gli agenti patogeni (batteri, virus, parassiti), nonché dalle cellule tumorali. I ritmi circadiani sono variazioni endogene delle 24 ore presenti praticamente in tutti i processi fisiologici. Questi ritmi circadiani sono generati da orologi circadiani, localizzati nella maggior parte dei tipi di cellule, comprese le cellule del sistema immunitario. Questa recensione presenta una panoramica degli orologi nel sistema immunitario e della regolazione circadiana della funzione delle cellule immunitarie. La maggior parte delle cellule immunitarie esprimono geni dell'orologio circadiano e presentano un'ampia gamma di geni espressi con un ritmo di 24 ore. Ciò ha profondi impatti sulle funzioni cellulari, compreso un ritmo quotidiano nella sintesi e nel rilascio di citochine, chemochine e fattori citolitici, il controllo quotidiano della risposta che avviene attraverso i recettori di riconoscimento dei pattern, ritmi circadiani delle funzioni cellulari come la fagocitosi, la migrazione verso zone infiammate o tessuto infetto, attività citolitica e risposta proliferativa agli antigeni. Di conseguenza, le alterazioni dei ritmi circadiani (ad esempio, la mutazione del gene dell'orologio nei topi o il disturbo ambientale simile al lavoro a turni) portano a risposte immunitarie disturbate. Discutiamo le implicazioni di questi dati per la salute umana e le aree che la ricerca futura dovrebbe mirare ad affrontare.

### **Il microbiota coordina i ritmi diurni nell'immunità innata con l'orologio circadiano.**

[Brooks JF 2nd et al. The microbiota coordinates diurnal rhythms in innate immunity with the circadian clock. Cell. 2021 Aug 5;184\(16\):4154-4167.e12.](#)

I cicli di luce ambientale determinano comportamenti alimentari circadiani negli animali che producono ritmi nell'esposizione ai batteri di origine alimentare. Qui mostriamo che il microbiota intestinale genera ritmi diurni nell'immunità innata che si sincronizzano con i ritmi di alimentazione per anticipare l'esposizione microbica. L'espressione ritmica delle proteine antimicrobiche è stata guidata dai ritmi giornalieri nell'attaccamento epiteliale dei batteri filamentosi segmentati (SFB), membri del microbiota intestinale del topo. L'attaccamento ritmico al SFB era guidato dall'orologio circadiano attraverso il controllo dei ritmi di alimentazione. Meccanicamente, l'attaccamento ritmico del SFB ha attivato un circuito immunologico che coinvolge le cellule linfoidi innate del gruppo 3. Questo circuito ha innescato oscillazioni nell'espressione e nell'attivazione epiteliale di STAT3 che hanno prodotto un'espressione ritmica della proteina antimicrobica e hanno causato una variazione della resistenza all'infezione da *Salmonella Typhimurium* nel ciclo giorno-notte. Pertanto, i ritmi di alimentazione dell'ospite si sincronizzano con il

microbiota per promuovere ritmi nell'immunità innata intestinale che anticipano l'esposizione microbica esogena.

# MICROBIOMA PRET a PORTER

Normal Phenomena of Life vende prodotti indossabili realizzati con batteri, funghi e alghe.

Tutto è iniziato con sciarpe tinte in laboratorio...

C'è una battuta in Cina secondo cui *si può capire il colore della stagione guardando il colore dei fiumi*", dice Orsola de Castrocan, stilista, nel documentario River Blue del 2017

I tubi che partono da alcune fabbriche di abbigliamento in *Cina e in Bangladesh, Indonesia* e altri paesi che alimentano le abitudini americane del fast fashion scaricano acque reflue rosse, blu e verdi nei corsi d'acqua e nei fiumi locali. A valle, le persone bevono l'acqua e mangiano i pesci che vivono in essa.

Alcuni marchi stanno collaborando con le fabbriche per limitare la quantità di colorante che finisce negli scarichi e tenere alcune delle **3.500 sostanze chimiche** utilizzate nel settore fuori dai corsi d'acqua. Ma una manciata di designer si sta chiedendo se sia necessario utilizzare tali sostanze chimiche e sta invece sperimentando la colorazione dei tessuti con i microbi.



*È diventato davvero interessante per me spiegare come la biologia potrebbe iniziare ad aiutarci a ripensare il modo in cui pensiamo alla produzione dei materiali e al modo in cui questi fluiscono*", afferma **Natsai Audrey Chieza**, fondatrice dello studio di ricerca sul biodesign Faber Futures con sede nel Regno Unito, che ha lanciato all'inizio di quest'anno, dopo otto anni di ricerca accademica presso l'University College di Londra.

Nel suo laboratorio, Chieza lavora con lo ***Streptomyces coelicolor***, un batterio che produce pigmenti man mano che cresce durante la sua vita di una settimana. *"Entro il terzo giorno, molti pigmenti vengono pompate nell'ambiente"*, afferma. *"Quindi, come designer, ho guardato l'ambiente e mi sono chiesto: 'E se quell'ambiente fosse un substrato tessile?'"*

Il microbo cambia naturalmente colore in base al pH del mezzo in cui cresce al suo interno, quindi modificando quell'ambiente è possibile creare il blu navy, ad esempio, o il rosa brillante. Con la biologia sintetica, dice Chieza, sarà possibile programmare l'organismo per produrre una gamma ancora più completa di colori. L'intero processo utilizza molta meno acqua rispetto alla tipica tintura industriale. A differenza dei coloranti naturali, inoltre, non richiede l'uso di terreni agricoli e pesticidi per far crescere le piante necessarie alla produzione del colorante, e non richiede metalli pesanti per fissare il colorante ai materiali.



Il pigmento batterico è biodegradabile, ma i progettisti intendono comunque evitare di scaricarlo nell'acqua. "Stiamo cercando di creare un processo a circuito chiuso in cui non ci siano effluenti che finiscono nei corsi d'acqua", affermano **Laura Luchtman e Ilfa Siebenhaar**, che gestiscono un laboratorio con sede nei Paesi Bassi, chiamato **Living Color**, che sta anche sperimentando il processo ( il loro laboratorio si concentra solo su ceppi di batteri che producono naturalmente pigmenti e non intendono utilizzare l'ingegneria genetica; i designer sono interessati a come lavorare con organismi viventi possa creare una nuova estetica del colore). *"Il pigmento residuo potrebbe essere utilizzato anche per prodotti che richiedono pigmenti meno saturi rispetto ai tessili"*



La tecnologia è ancora in una fase iniziale. **Living Color** sta iniziando a collaborare con piccoli marchi e designer indipendenti, ma afferma che lavorare su scala più ampia richiederà un maggiore sviluppo. "Abbiamo bisogno di un processo che possa essere scalato e che sia conveniente e sicuro su larga scala", affermano Luchtman e Siebenhaar. "Questa ricerca richiede investimenti da parte di investitori pazienti che non cercano solo di ottenere un profitto rapido. Stiamo lavorando con gli scienziati per verificare se il nostro modo di lavorare può essere scalato. E dobbiamo eseguire un'analisi approfondita del ciclo di vita, perché dobbiamo assicurarci che un'industria della tintura batterica non causi nuovi problemi



**Normal Phenomena of Life** è un negozio online di lusso che offre prodotti di moda, bellezza e stile di vita creati con microbi.

I primi prodotti del negozio includono olio per il viso derivato da funghi (\$ 80), stampe migliorate dall'inchiostro algale (\$ 245) e la firma Exploring Jacket dell'azienda (\$ 4.895), colorata con ***Streptomyces coelicolor*** .

*Questi articoli sono tutti disponibili per l'acquisto nel Regno Unito NPOL è un progetto congiunto tra lo studio di ricerca sul biodesign Faber Futures con sede nel Regno Unito , fondato da Natsai Audrey Chieza, e il direttore creativo di Ginkgo Bioworks Christina Agapakis.*

I loro negozio, annunciato al London Design Festival a settembre, aprirà poche settimane dopo la settimana della moda di Parigi, uno dei più grandi eventi semestrali del settore.

NPOL vuole essere un hub per un tipo di industria nuova e più sostenibile, che combini design e biologia. Il desiderio di trovare e creare una connessione tra i due campi inizialmente ha unito **Chieza & Agapakis**.

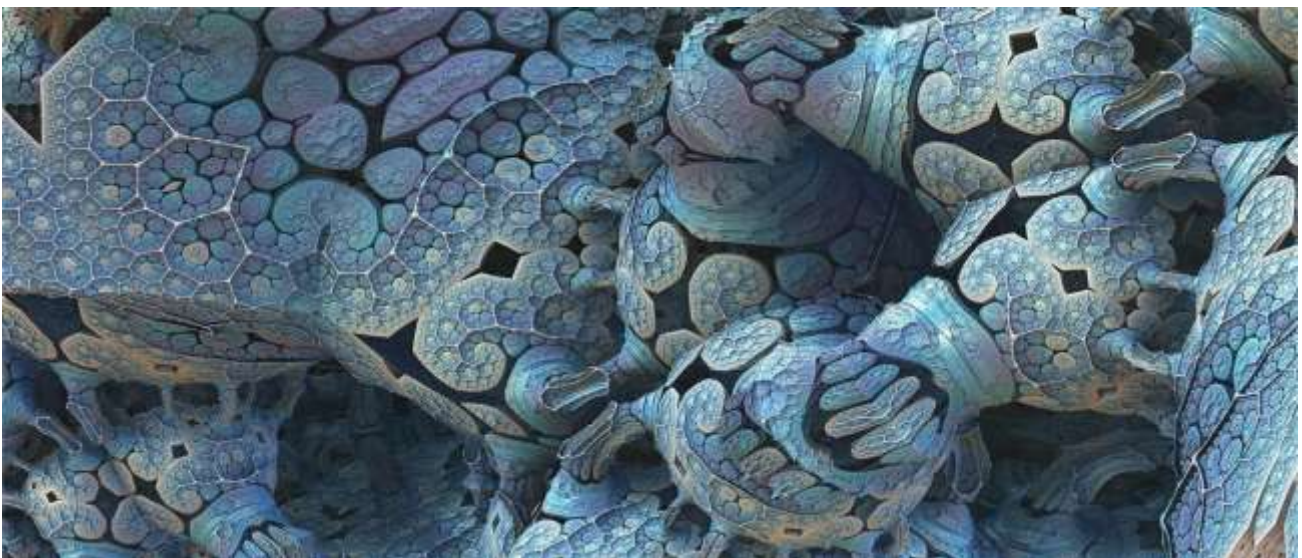
Chieza e Agapakis hanno scoperto che non esisteva un progetto per trasformare i microbi in prodotti indossabili. Ben presto si sono resi conto che sarebbero stati responsabili non solo degli aspetti di progettazione del processo, ma anche della costruzione dell'intera catena di fornitura per le merci vendute da NPOL.

*"Ciò che era iniziato come 'progettiamo un negozio' si è trasformato molto rapidamente in 'ok, stiamo effettivamente costruendo una pipeline di sviluppo prodotto per prodotti abilitati alla biotecnologia'",* afferma Chieza, spiegando che NPOL diventa effettivamente un cliente delle aziende che sviluppano le tecnologie che producono le offerte del negozio.

*I prodotti NPOL, creati attraverso pratiche naturali come la fermentazione batterica, sono intrinsecamente unici nel loro genere. Il modello su un oggetto come la Exploring Jacket è determinato da come un particolare insieme di batteri interagisce con un particolare pezzo di tessuto, il che si adatta direttamente alla visione di Chieza. Vuole sfidare gli approcci tradizionali alla produzione di abbigliamento, che pongono una grande enfasi sull'eccesso e sull'effimero delle tendenze.*

*"L'era del petrolio riguardava la centralizzazione della produzione, si trattava di materiali omogenei e ad alto volume", spiega Chieza. "Abbiamo aspettative molto specifiche su come dovrebbero comportarsi i materiali quando sono realizzati in questo modo."*

*Impegnandosi con pratiche naturali, NPOL sta creando pezzi di alta qualità con un'impronta di carbonio molto inferiore. Per tingere i batteri viene utilizzata meno acqua rispetto alle pratiche tradizionali, poiché i batteri crescono in un ambiente di laboratorio e non necessitano di terreni agricoli, a differenza delle piante utilizzate per lo stesso scopo.*



***Impegnandosi con pratiche naturali, NPOL sta creando pezzi di alta qualità con un'impronta di carbonio molto inferiore. Per tingere i batteri viene utilizzata meno acqua rispetto alle pratiche tradizionali, poiché i batteri crescono in un ambiente di laboratorio e non necessitano di terreni agricoli, a differenza delle piante utilizzate per lo stesso scopo.***

Poiché le aziende con cui NPOL collabora producono materiali difficili da scalare, il marchio offre una quantità limitata di prodotti a un prezzo elevato.

Chieza afferma che per ora i prodotti NPOL sono rivolti a un consumatore di lusso interessato alla sostenibilità e preoccupato per il proprio impatto ambientale. Ma ritiene che man mano che i partner e i processi di NPOL si espanderanno, la loro tecnologia e i loro prodotti diventeranno più accessibili.

“Vogliamo essere un luogo in cui apprendere ***il potere della biologia di decarbonizzare ed eliminare materiali tossici dalle catene di approvvigionamento***, ma vogliamo che sia divertente. Vogliamo che sia coinvolgente. Vogliamo che questo sia ambizioso. Perché se riusciamo a coinvolgere quante più persone possibile, la domanda aumenterà”, afferma Chieza. “Non si tratta solo di camici da laboratorio e piastre di Petri. Siamo tutti noi, in realtà.