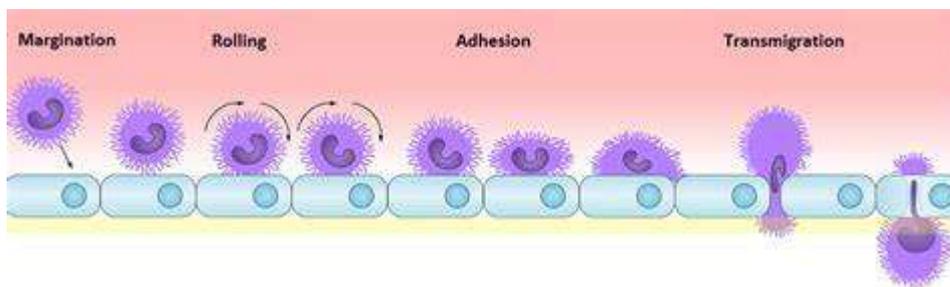


20.Febbraio

Meccanismi molecolari del rolling linfocitario

*How does it feel?
To be without a home?
Like a complete unknown?
Like a rolling stone?*
Bob Dylan

Per raggiungere i siti di infiammazione, i neutrofili devono aderire e rotolare sull'endotelio prima di fuoriuscire ed entrare nel tessuto infiammato.



Il team del *Yale Stem Cell Center, Yale University School of Medicine, New Haven* coordinato da Ningning Zhang

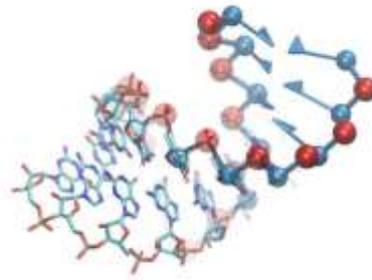


Zhang N et al.

Cell surface RNAs control neutrophil recruitment.

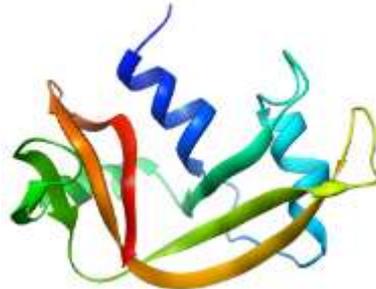
Cell. 2024 Jan 17:S0092-8674(23)01443-5.

hanno scoperto che gli **RNA glicati** sulla superficie dei neutrofili consentivano l'adesione dei neutrofili e il rotolamento sull'endotelio.



RNA glicato

Nei topi a cui è stato iniettato per via intraperitoneale tioglicolato o LPS somministrato per via intranasale per indurre infiammazione acuta, i neutrofili iniettati che erano stati trattati con *RNasi A* non sono entrati nel peritoneo o nel polmone.



RNasi A

Il trattamento con *RNasi A* ha inoltre impedito ai neutrofili di trasmigrare attraverso uno strato di cellule endoteliali in coltura verso il **fMLP chemiotattico** senza influenzare la loro capacità di muoversi verso fMLP in assenza di cellule endoteliali.

N -Formilmetionil-leucil-fenilalanina (fMLF , fMLP o N -formyl-met-leu-phe) è un tripeptide N -formilatoe talvolta indicato semplicemente come peptide chemiotattico è un potente fattore chemiotattico dei leucociti polimorfonucleati (PMN)ed è anche unattivatore dei macrofagi .

Quando iniettati nell'arteria carotide, i neutrofili trattati con *RNasi A* avevano meno probabilità di aderire e continuare a rotolare se aderivano all'endotelio dei vasi sanguigni nella regione cremastere.

Il legame degli *RNAglicati* sui neutrofili alle cellule endoteliali richiedeva la *P-selectina*



P-selectina

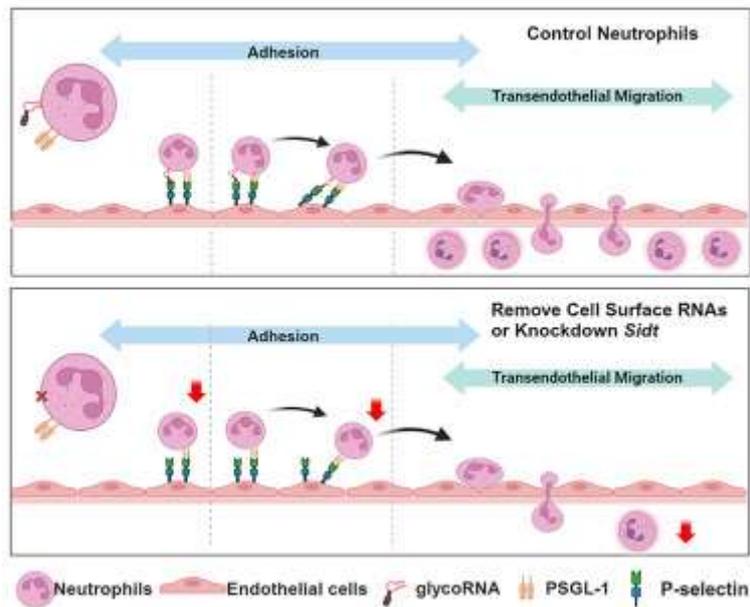
una molecola di adesione precedentemente implicata nella mediazione del legame dei neutrofili all'endotelio.

Gli *RNA* hanno raggiunto la superficie dei neutrofili attraverso i trasportatori *di RNA SIDT1 e SIDT2*.

I neutrofili con *knockdown di SIDT1 e SIDT2* non trasmigravano attraverso le cellule endoteliali in vitro e non venivano reclutati nel peritoneo nei topi iniettati con tioglicolato.

Gli *RNA* presentati sulla superficie delle cellule dei neutrofili erano *piccoli RNA* che corrispondevano a frammenti di specie di RNA non codificanti codificate nel nucleo.

Pertanto, gli *RNAglicati* presenti sulla superficie dei neutrofili consentono a queste cellule di aderire, rotolare e trasmigrare attraverso l'endotelio ed essere reclutate nei siti di infiammazione.



Pertanto, gli *RNAglicati* presenti sulla superficie dei neutrofili consentono a queste cellule di aderire, rotolare e trasmigrare attraverso l'endotelio ed essere reclutate nei siti di infiammazione.

Può essere utile consultare anche:

Wang L, Wang J, Tang Z, Ren L, Li H, Wang X, Jin S, Wu Y, Huang M, Ju LA, Fang C.

Endoplasmic Reticulum Protein 72 Regulates Integrin Mac-1 Activity to Influence Neutrophil Recruitment.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2024 Jan 11.

Background: le integrine mediano l'adesione, la scansione e la migrazione dei neutrofili durante l'infiammazione vascolare. Lo scambio tiolico è importante nella regolazione delle funzioni delle integrine. ERp72 (proteina 72 residente nell'ER) è un membro della famiglia delle tioli isomerasi responsabile della catalisi del riarrangiamento del disolfuro.

Tuttavia, il ruolo di ERp72 nella regolazione di Mac-1 (integrina $\alpha M\beta 2$) sui neutrofili rimane sfuggente.

Metodi: è stata eseguita la microscopia intravitale della microcircolazione del cremastere per determinare il movimento dei neutrofili in vivo. Adesione statica, camera di flusso e citometria a flusso sono stati utilizzati per valutare le funzioni delle integrine in vitro. La microscopia confocale a fluorescenza e la coimmunoprecipitazione sono state utilizzate per caratterizzare le interazioni tra ERp72 e Mac-1 sulla superficie dei neutrofili. Sono state utilizzate sonde impermeabili alle cellule e la spettrometria di massa per etichettare i tioli reattivi e identificare i legami disolfuro target durante lo scambio redox. La sonda di forza della biomembrana è stata eseguita per misurare quantitativamente l'affinità di legame di Mac-1.

Un modello murino di danno polmonare acuto indotto da LPS è stato utilizzato per valutare la vasculopatia associata ai neutrofili.

Risultati: i neutrofili carenti di ERp72 hanno mostrato un aumento del rotolamento ma una diminuzione dell'adesione/strisciamento sulle venule infiammate in vivo e un'adesione statica difettosa in vitro. Il difetto era dovuto all'attivazione difettosa dell'integrina Mac-1 ma non dell'LFA-1 (antigene-1 associato alla funzione linfocitaria) utilizzando anticorpi bloccanti o epitopi-specifici. ERp72 ha interagito con Mac-1 nelle zattere lipidiche sulla superficie dei neutrofili portando alla riduzione del legame disolfuro C654-C711 nella subunità αM che è fondamentale per l'attivazione di Mac-1. ERp72 ricombinante, attraverso i suoi motivi catalitici, ha aumentato l'affinità di legame di Mac-1 con ICAM-1 (molecola di adesione intercellulare-1) e ha ripristinato l'adesione difettosa dei neutrofili carenti di ERp72 sia in vitro che in vivo.

La delezione di ERp72 nel midollo osseo ha inibito l'infiltrazione dei neutrofili, migliorato il danno tissutale e aumentato la sopravvivenza durante il danno polmonare acuto nei topi.

Conclusioni: ERp72 extracellulare regola l'attività dell'integrina Mac-1 catalizzando il riarrangiamento del disolfuro sulla subunità αM e può essere un nuovo bersaglio per il trattamento della vasculopatia associata ai neutrofili.

Kumar S, Dikshit M.

Nitric oxide: Regulation and function in neutrophil immune responses.

Antioxid Redox Signal. 2024 Jan 22.

Significato: i neutrofili sono componenti cruciali del sistema immunitario innato che combattono gli agenti patogeni invasori e mantengono l'omeostasi. L'ossido nitrico (NO•) esercita un'influenza

regolatoria sul rotolamento dei neutrofili, sull'adesione, sul burst ossidativo, sulla chemiotassi, sulla fagocitosi, sul citonema, sull'apoptosi e sulla NETosi attraverso diversi meccanismi in modo autocrino e paracrino.

Progressi recenti: ricerche recenti hanno identificato il ruolo critico di NO• nella proliferazione dei progenitori dei neutrofili, nella differenziazione, nella sopravvivenza e in altre funzioni. Inoltre, le risposte dell'NO• dipendono dalla concentrazione, dalla prossimità e dall'ambiente redox, evidenziando i meccanismi complessi e dipendenti dal contesto attraverso i quali l'NO• influenza le risposte dei neutrofili.

Problemi critici: i neutrofili esprimono due isoforme costitutive dell'ossido nitrico sintasi (NOS), vale a dire iNOS e nNOS. La produzione di radicale NO• o superossido (O₂•-) da parte di queste isoforme dipende dai livelli dei substrati L-arginina e ossigeno e da cofattori come NADPH, FAD, FMN e BH₄ sensibile al redox. È importante sottolineare che l'interazione tra NO• e superossido genera potenti ossidanti all'interno dei fagolisosomi. La collaborazione coordinata e la regolazione di NO• e O₂•- sono cruciali per la segnalazione redox e le proprietà dei neutrofili.

Direzioni future: l'attività della NOS dei neutrofili è regolata a più livelli, tra cui la regolazione trascrizionale, la disponibilità di cofattori, le interazioni proteina-proteina e le modifiche post-traduzionali. Tuttavia, la nostra comprensione dei meccanismi di regolazione durante le varie funzioni dei neutrofili rimane limitata. Mentre ora riconosciamo l'eterogeneità dei neutrofili, l'adattabilità metabolica e la capacità antitumorale; tuttavia, i rapporti che identificano il ruolo del NOS/NO• rimangono in gran parte inesplorati su questi aspetti nelle infezioni, nell'infiammazione e nell'immunosoppressione.

Gli studi futuri che affrontano queste aree intriganti saranno cruciali per svelare il ruolo della segnalazione NO/NOS nei neutrofili in diverse patologie e potrebbero presentare opportunità terapeutiche.

Alexei, Vladimir e il mistero del “nuovo arrivato”

Il dissidente politico russo Alexei Navalny, sopravvissuto a un tentativo di omicidio con un agente nervino chimico nel 2020 prima di essere incarcerato, è morto venerdì in una colonia carceraria artica, diventando l'ultimo oppositore del presidente russo Vladimir Putin ad incontrare la morte in circostanze misteriose. Solo un giorno prima Navalny era apparso in video, sorridendo e scherzando.



La famiglia Navalny

A due anni dall'inizio della guerra della Russia contro la vicina Ucraina – un conflitto che ha sollevato preoccupazioni riguardo alle logore norme sulle armi nucleari, chimiche e biologiche – la morte di Navalny ha ulteriormente accresciuto la tensione tra Occidente e Russia. "Ho incontrato Navalny qui a Berlino mentre cercava di riprendersi dall'attacco avvelenato in Germania e gli ho anche parlato del grande coraggio necessario per tornare nel Paese", ha detto a Reuters il cancelliere tedesco Olaf Scholz , aggiungendo: "probabilmente ha ora ha pagato con la vita questo coraggio". Il presidente degli Stati Uniti Joe Biden ha affermato che Putin è responsabile della morte e lo ha definito un “delinquente” in risposta alla notizia.

Navalny è tornato in Russia dopo essersi ripreso dall'attacco chimico – ampiamente considerato condotto da agenti russi – in Germania nel 2020. Tre condanne consecutive per accuse apparentemente false lo hanno lasciato ad affrontare anni dietro le sbarre, dove credeva che sarebbe rimasto per il resto della sua vita, secondo l' Associated Press. In qualità di politico dell'opposizione e blogger, Navalny pungolava regolarmente Putin, conducendo campagne

politiche e producendo contenuti che presumibilmente mettevano in luce i guadagni illeciti del presidente russo. Grazie ai suoi sforzi ottenne un significativo sostegno popolare; l'attacco chimico è avvenuto mentre stava viaggiando da una riunione politica in Siberia. I suoi sostenitori affermano che le accuse che lo hanno mandato in prigione erano motivate politicamente, e il segretario di Stato americano Antony Blinken ha fatto eco a quelle affermazioni, dicendo di Navalny: "La sua morte in una prigione russa e la fissazione e la paura di un uomo non fanno altro che sottolineare la debolezza e la putrefazione al centro del sistema che Putin ha costruito".

Quando Navalny fu avvelenato nel 2020, i membri della Convenzione sulle armi chimiche, il trattato internazionale che mette al bando le armi chimiche, avevano già aggiunto la classe di sostanze chimiche apparentemente utilizzate nel tentativo di omicidio, Novichok, a un elenco di sostanze chimiche vietate nel 2019. Le sostanze erano classificate come aventi poco o nessun valore industriale o commerciale e utili solo come armi.

Questo cambiamento è avvenuto dopo che gli agenti russi avrebbero tentato di avvelenare un'ex spia russa a Salisbury, in Inghilterra, nel 2018 con il Novichok. L'ex agente, Sergei Skripal, e sua figlia sono sopravvissuti dopo essere stati trovati privi di sensi su una panchina. Una donna britannica, Dawn Sturgess, è morta dopo essersi spruzzata del profumo che il suo ragazzo aveva scoperto contenente il veleno Novichok utilizzato nel presunto complotto per l'omicidio.



Con Navalny in un ospedale di Berlino, il governo tedesco ha chiesto che l'Organizzazione per la proibizione delle armi chimiche, l'ente amministrativo dietro la Convenzione sulle armi chimiche, invii una squadra per indagare sull'avvelenamento. I laboratori dell'organizzazione hanno concluso che Navalny era stato esposto a una sostanza chimica strutturalmente simile ai Novichok vietati. Putin ha negato che il suo governo abbia avvelenato l'attivista. Il Cremlino ha detto che si sta indagando sulla morte di Navalny.

L'avvelenamento di Navalny è stato considerato uno dei tanti esempi degli sforzi di Putin per erodere le norme sulle armi di distruzione di massa. Dopo l'invasione russa dell'Ucraina, Putin e altri funzionari governativi hanno ripetutamente alluso ad attacchi nucleari e hanno affermato, falsamente, che gli Stati Uniti e l'Ucraina stavano sviluppando armi biologiche. "L'avvelenamento di Navalny con un agente Novichok strettamente correlato meno di un anno dopo l'implementazione di tali cambiamenti è stato un vivido promemoria del fatto che la Russia continua a violare gravemente la [Convenzione sulle armi chimiche] e la volontà di Putin di infrangere sfacciatamente le norme internazionali", Gregory Koblentz, professore di biodifesa presso la Schar School of Policy and Government della George Mason University, che ha seguito il caso Navalny, ha affermato.

I Novichok sono stati sviluppati negli anni '80 e '90 nell'Unione Sovietica. A volte descritti come più pericolosi delle armi chimiche mortali VX o Sarin, i Novichok sono neurotossine che possono fermare il cuore e danneggiare altri sistemi di organi. La parola è stata tradotta come "**nuovo arrivato**". Alla fine, Navalny è morto dove i dissidenti politici in Russia avevano già trovato la loro fine da tempo: in una prigione congelata.

