

Mirare alla piroptosi delle cellule T può essere una strategia terapeutica promettente per l'artrite reumatoide.

La piroptosi è definita come una forma di morte cellulare programmata mediata da proteine che formano **pori della famiglia dei gasdermini** e rilascia componenti intracellulari come **l'interleuchina-16 (IL-16) e IL-18**, che causano infiammazione e distruzione dei tessuti

Nella piroptosi canonica, la proteina recettore 3 simile al NOD (NLRP3) forma un complesso inflammasoma, seguito dal reclutamento della proteina simile a un granello associata all'apoptosi contenente una CARD (ASC) e una pro-caspasi-1 (CASP1) (10) .

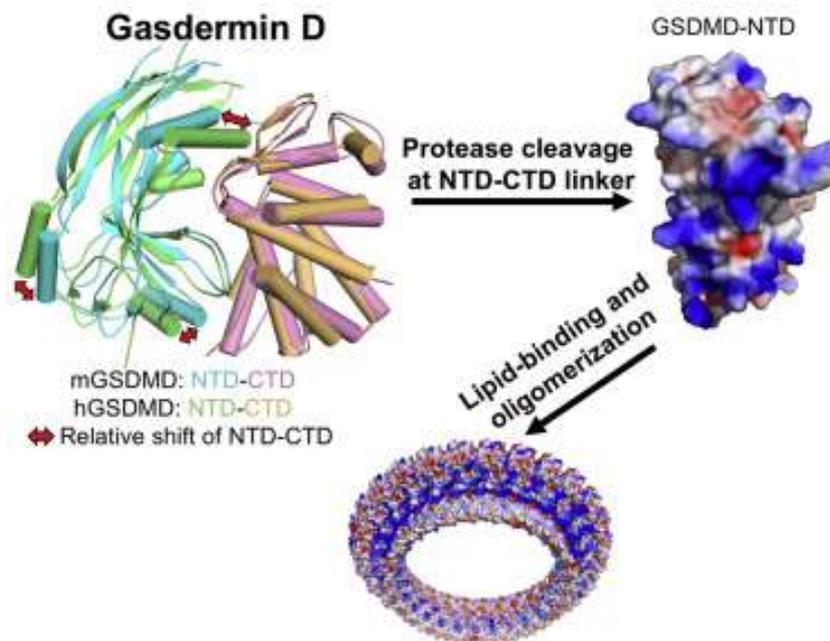
Zhao Y et al. The NLRC4 inflammasome receptors for bacterial flagellin and type III secretion apparatus. Nature. 2011 Sep 14;477(7366):596-600.

Esistono anche altri inflammasomi, come quelli contenenti **NLRP1, NLRC4 o AIM2**, e **inflammasomi non canonici** che promuovono la piroptosi attraverso percorsi distinti

Rathinam VA et al The AIM2 inflammasome is essential for host defense against cytosolic bacteria and DNA viruses. Nat Immunol. 2010 May;11(5):395-402.

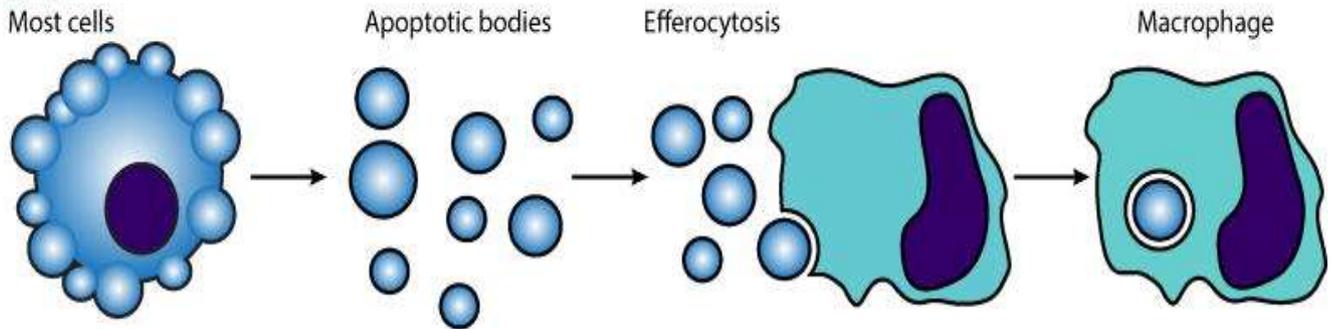
Una volta assemblato, l'inflammasoma NLRP3 attiva CASP1, che scinde la gasdermina D (GSDMD) per generare un frammento GSDMD N-terminale (GSDMD-N) che forma pori nella membrana cellulare, inducendo la rottura della membrana cellulare e il rilascio di citochine infiammatorie

Kovacs SB, Miao EA. Gasdermins: Effectors of Pyroptosis. Trends Cell Biol. 2017 Sep;27(9):673-684.

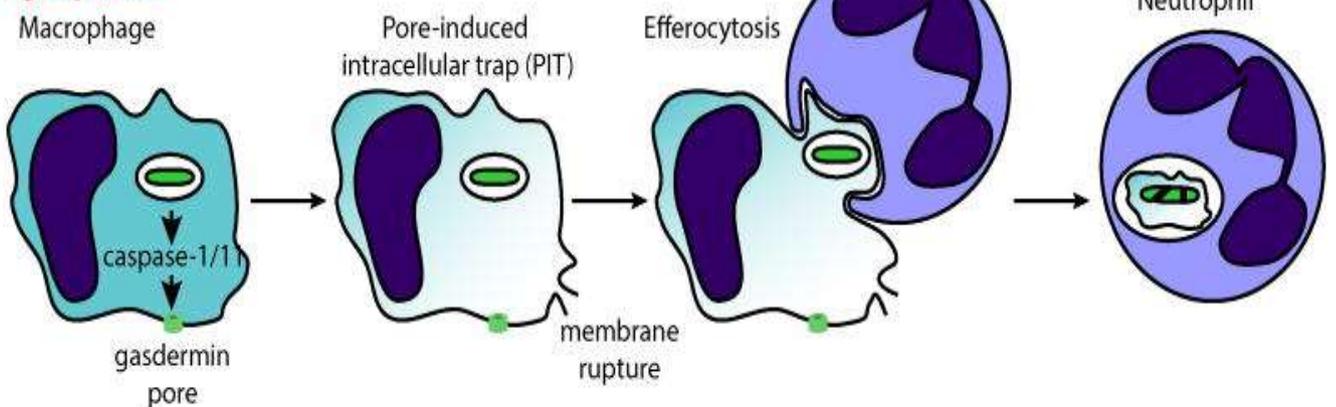


La piroptosi converte le cellule in trappole intracellulari indotte dai pori (PIT)

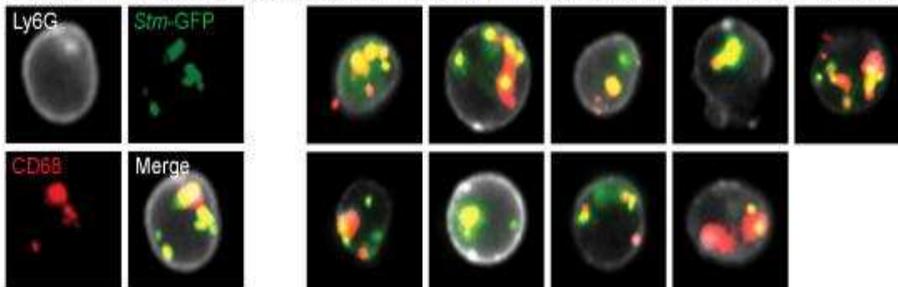
Apoptosis



Pyroptosis

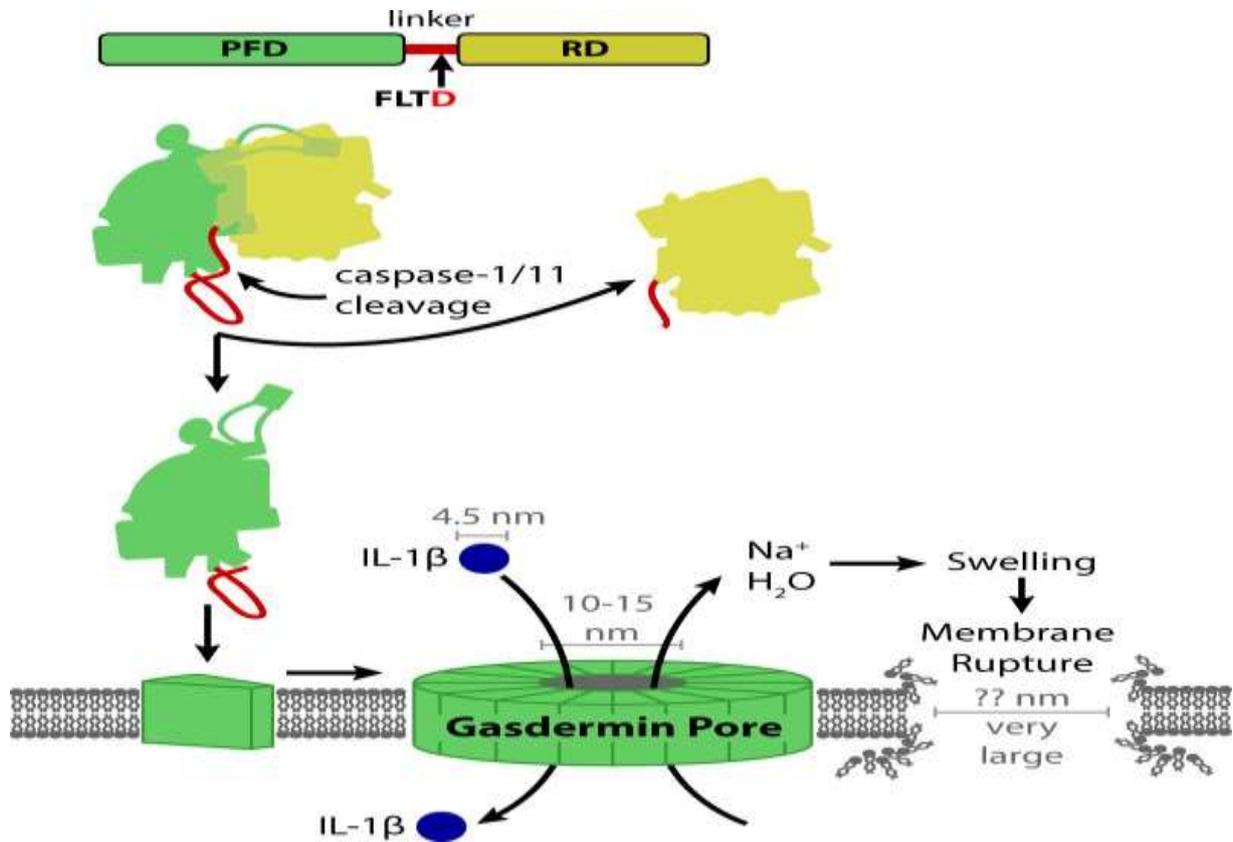


Neutrophils (Ly6G, white) after efferocytosing PITs (CD68, red) with entrapped bacteria (GFP, green)



Mentre l'apoptosi converte le cellule in corpi apoptotici, la piroptosi converte le cellule in PIT. L'evento di rottura della membrana che definisce la piroptosi disperde immediatamente il contenuto citosolico solubile. Tuttavia, sebbene lacerata, la membrana plasmatica rimane in gran parte intatta, tanto che gli organelli e i batteri intracellulari vivi rimangono intrappolati al suo interno. Questo è diverso dall'immagine dei detriti cellulari, dove tutto il contenuto cellulare è disperso. L'efferocitosi è il processo mediante il quale una cellula ne fagocita un'altra. I corpi apoptotici sono tipicamente efferocitosi dai macrofagi. Al contrario, i PIT vengono efferocitosi dai neutrofili. Questi neutrofili poi uccidono i batteri precedentemente intracellulari, ora intrappolati nel PIT. Immagini di neutrofili (contrassegnati da Ly6G, bianco) che hanno PIT macrofagi efferocitosi (contrassegnati da CD68, rosso) che intrappolano batteri intracellulari (GFP, verde) dopo che i batteri ingegnerizzati sono stati indotti a esprimere flagellina e innescare la piroptosi dei macrofagi in vivo

Caspase-1/11 attiva il poro del gasdermin D per causare piroptosi



La caspasi-1 viene attivata da vari inflammasomi in risposta alla contaminazione del citosol o alla perturbazione dell'omeostasi cellulare di base. La caspasi-11 (topi) e le caspasi-4 e -5 (esseri umani) si attivano mediante il rilevamento diretto dell'LPS citosolico. Dopo l'attivazione, queste caspasi scindono pro-IL-1 β , pro-IL-18 e gasdermin D. Gasdermin D è composto da un dominio amminoterminale che forma pori (PFD, verde), un linker (rosso) e un dominio carbossilico - dominio di repressione terminale (RD). Il dominio amminoterminale di formazione dei pori (PFD) del gasdermin D interagisce quindi con la membrana plasmatica e circa 16 monomeri oligomerizzano per formare un poro del gasdermin. Il diametro di questo poro è stimato nell'intervallo 10-15 nm, che è abbastanza grande da rilasciare piccole proteine, inclusa IL-1 β matura (4,5 nm di diametro), probabilmente a una velocità relativamente lenta. Contemporaneamente il sodio entra nella cellula portando con sé acqua che fa aumentare il volume della cellula. Ciò può rapidamente superare la capacità volumetrica della membrana, provocando una rottura della membrana di dimensioni maggiori rispetto al poro del gasdermin, ma più piccola o pari a quella della maggior parte degli organelli e dei batteri intracellulari. Dopo la rottura della membrana, tutto il contenuto citosolico solubile rimanente viene rilasciato così rapidamente da essere essenzialmente istantaneo.

Gli studi hanno anche dimostrato che la piroptosi si verifica in altre cellule immunitarie nell'artrite reumatoide. Walle *et al.* ha dimostrato che la carenza della proteina antinfiammatoria A20 (nota anche come TNFAIP3) migliora l'attivazione CASP1 mediata dall'inflammasoma NLRP3, la piroptosi e la secrezione di IL-1 β nei macrofagi, che contribuisce alla patologia RA nei topi
Vande Walle L et al. Negative regulation of the NLRP3 inflammasome by A20 protects against arthritis. *Nature*. 2014 Aug 7;512(7512):69-73.

Nei monociti di pazienti con artrite reumatoide, la proteina PTX3 correlata alla pentraxina si sinergizza con il fattore del complemento C1q per promuovere l'iperattivazione dell'inflammasoma NLRP3 e la piroptosi dipendente da CASP1
Wu XY et al. Complement C1q synergizes with PTX3 in promoting NLRP3 inflammasome over-activation and pyroptosis in rheumatoid arthritis. *J Autoimmun*. 2020 Jan;106:102336.

In sintesi

Un eccesso di citochine infiammatorie svolge un ruolo cruciale nella patogenesi dell'artrite reumatoide (RA), tuttavia, il meccanismo sottostante rimane poco chiaro.

Il team del Department of Orthopaedics, Affiliated Hospital of Nantong University, Medical School of Nantong University, Nantong, Jiangsu, China.



南通大学附属医院
AFFILIATED HOSPITAL OF NANTONG UNIVERSITY

国内首批三级甲等医院/江苏省属综合性教学医院/综合性大学直属附属医院/国际紧急救援中心网络医院
中国历史上最早由中国人创办的综合性教学医院/国内难得一见的坐落于国家5A级濠河景区中的大型医院

nel report pubblicato in questi giorni su Science Signaling

Cai H,

**ALOX5 drives the pyroptosis of CD4+ T cells
and tissue inflammation in rheumatoid arthritis.**

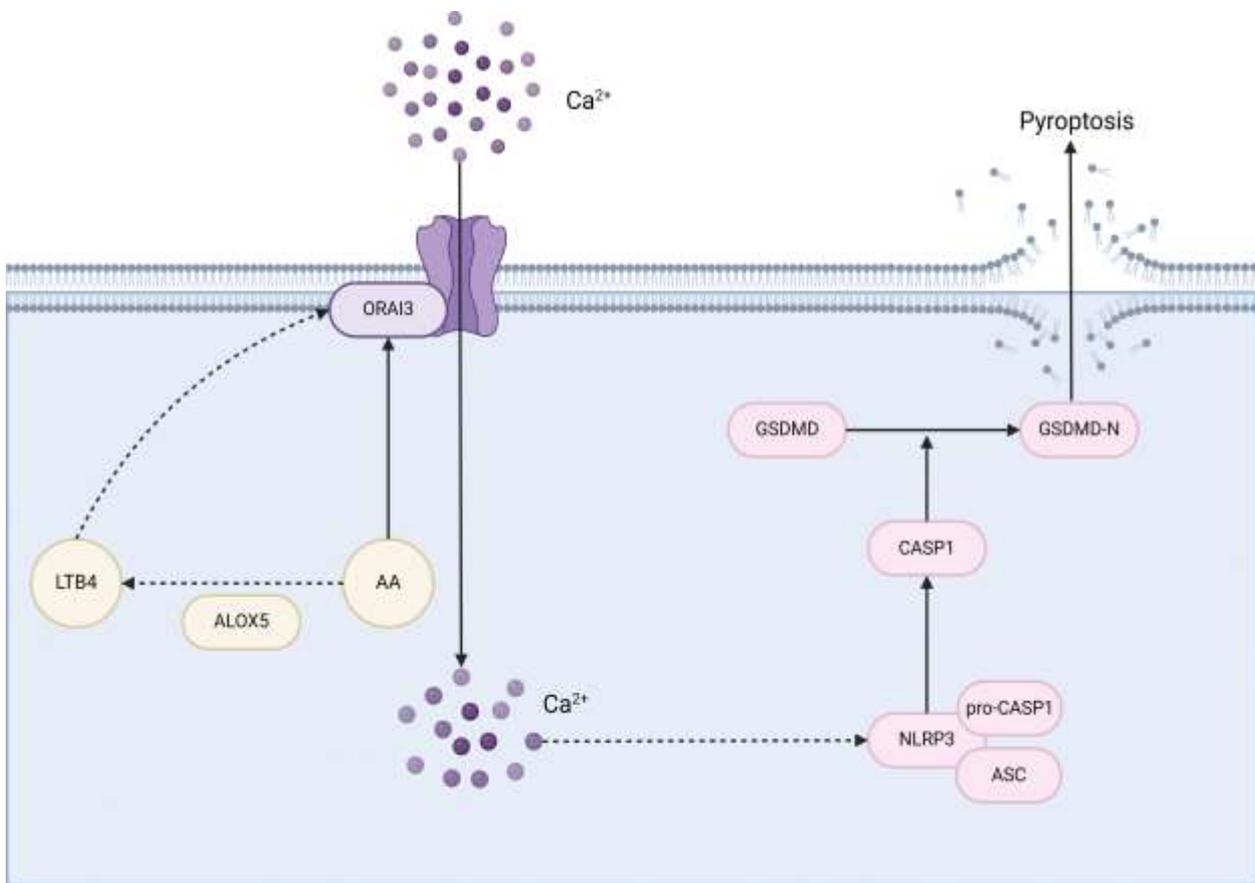
Sci Signal. 2024 Feb 27;17(825):eadh1178.

Propone un possibile meccanismo molecolare alla base della piroptosi nelle cellule T isolate da pazienti con AR.

Rispetto agli individui sani, i pazienti con artrite reumatoide avevano più cellule T CD4+ piroptotiche nel sangue e nella sinovia, che erano correlate con le misure cliniche dell'attività della malattia.

Inoltre, l'espressione dell'mRNA e l'abbondanza proteica dell'arachidonato 5-lipossigenasi (ALOX5), che converte l'acido arachidonico in leucotriene A₄ (LTA₄), erano aumentate nelle cellule T CD4+ di pazienti con artrite reumatoide e, tra i pazienti con artrite reumatoide, erano più basse in quelli in remissione clinica.

Modello schematico che illustra il meccanismo proposto della piroptosi delle cellule T CD4 + nell'artrite reumatoide.



Nelle cellule T RA CD4 + , ALOX5 è sovraespresso, portando ad una maggiore conversione di AA in LTB 4 , che successivamente aumenta l'abbondanza di ORAI3. Gli oligomeri ORAI3 formano un canale Ca^{2+} che viene attivato da AA e il suo aumento determina un aumento dell'afflusso di Ca^{2+} nel citoplasma. Questo aumento di Ca^{2+} attiva NLRP3, spingendolo a formare un complesso inflammasoma con la proteina adattatrice ASC e pro-CASP1. Ciò porta all'autoelaborazione di pro-CASP1 e alla generazione di CASP1 attivo, che, a sua volta, scinde GSDMD per produrre GSDMD-N, inducendo piroptosi nelle cellule T CD4 + .

L'atterramento o l'inibizione farmacologica di ALOX5 ha soppresso la piroptosi delle cellule T CD4 + e ha migliorato i sintomi in due modelli di roditori di AR.

Meccanicamente, l'aumento dell'attività di ALOX5 nelle cellule T RA CD4 + ha potenziato la produzione del derivato LTA 4 LTB 4 , che ha stimolato l'afflusso di Ca^{2+} attraverso i canali ORAI3, portando all'attivazione degli inflammasomi NLRP3 e della piroptosi.

I risultati evidenziano un ruolo di ALOX5 nell'artrite reumatoide e forniscono una base molecolare per esplorare ulteriormente l'utilità clinica dell'inibizione di ALOX5 nell'artrite reumatoide e per utilizzare ALOX5 come biomarcatore per distinguere la malattia attiva e la remissione nell'artrite reumatoide.

Potenzialità e limiti di Epic Sepsis Model nella previsione della sepsi

Secondo studio dell'Università del Michigan, un software IA progettato per essere un sistema di allarme precoce per la sepsi **non è in grado di distinguere i pazienti ad alto e basso rischio prima che ricevano i trattamenti.**

Lo strumento, denominato **Epic Sepsis Model**, fa parte del software di cartella clinica elettronica di Epic, che serve il 54% dei pazienti negli Stati Uniti e il 2,5% dei pazienti a livello internazionale. Genera automaticamente stime del rischio di sepsi nei registri dei pazienti ricoverati ogni 20 minuti, che i medici sperano possa consentire loro di rilevare quando un paziente potrebbe contrarre la sepsi prima che le cose vadano male.

La sepsi presenta tutti questi sintomi vaghi, quindi quando un paziente si presenta con un'infezione, può essere davvero difficile sapere chi può essere mandato a casa con alcuni antibiotici e chi potrebbe aver bisogno di rimanere nel reparto di terapia intensiva.

La sepsi è responsabile di un terzo di tutti i decessi ospedalieri negli Stati Uniti e il trattamento precoce è fondamentale per la sopravvivenza dei pazienti. La speranza è che le previsioni dell'intelligenza artificiale possano essere determinanti affinché ciò accada, ma al momento non sembrano ottenere di più dai dati dei pazienti rispetto a quanto fanno i medici.

Si sospetta che alcuni dei dati sanitari su cui si basa il modello **Epic Sepsis** codificano, forse involontariamente, il sospetto medico che il paziente abbia la sepsi.

I pazienti non riceveranno esami dell'emocultura e trattamenti antibiotici finché non inizieranno a presentare sintomi di sepsi, ad esempio. Sebbene tali dati potrebbero aiutare un'intelligenza artificiale a identificare in modo molto accurato i rischi di sepsi, potrebbero anche entrare nelle cartelle cliniche troppo tardi per aiutare i medici ad andare avanti con i trattamenti.

Questa discrepanza nella tempistica tra il momento in cui le informazioni diventano disponibili per l'intelligenza artificiale e il momento in cui diventano più rilevanti per i medici era evidente nella valutazione dei ricercatori di come il modello **Epic Sepsis** si è comportato per 77.000 adulti ricoverati presso l'Università del Michigan Health, il braccio clinico della Michigan Medicine. .

L'intelligenza artificiale aveva già effettuato stime del rischio di contrarre la sepsi per ciascun paziente durante le operazioni standard del centro medico, quindi i ricercatori dovevano solo estrarre i dati ed eseguire le loro analisi. Quasi il 5% dei pazienti aveva sepsi.

Per misurare le prestazioni dell'IA, il team ha calcolato la probabilità che l'IA assegnasse punteggi di rischio più elevati ai pazienti a cui era stata diagnosticata la sepsi, rispetto ai pazienti a cui non era mai stata diagnosticata la sepsi.

Includendo le previsioni fatte dall'IA in tutte le fasi della degenza ospedaliera del paziente, l'IA potrebbe identificare correttamente un paziente ad alto rischio **nell'87% delle volte.**

Tuttavia, l'intelligenza artificiale era corretta **solo nel 62% dei casi** quando si utilizzavano i dati del paziente registrati prima che il paziente soddisfacesse i criteri per essere affetto da sepsi.

Forse la cosa più significativa è che il modello ha assegnato punteggi di rischio più elevati **solo al 53% dei pazienti** che hanno contratto la sepsi quando le previsioni erano limitate a prima che fosse ordinata un'emocultura.

I risultati suggeriscono che il modello indicava se i pazienti avevano ricevuto test diagnostici o trattamenti quando facevano previsioni. I medici sospettano già che i loro pazienti abbiano la sepsi, quindi è improbabile che le previsioni dell'IA facciano la differenza.

La valutazione del modello con i dati raccolti dopo che il medico ha già sospettato l'insorgenza della sepsi può far sembrare forti le prestazioni del modello, ma ciò non è in linea con ciò che aiuterebbe i medici nella pratica.

In sintesi: Quando si utilizzavano solo i dati raccolti prima che i pazienti con sepsi ricevessero trattamenti o test medici, la precisione del modello non era migliore di quella del lancio di una moneta