

# COVID-19

## CAPITOLO 2 - DANNO MULTIORGANO

### COMPLICAZIONI RESPIRATORIE – PARTE SECONDA - Immunopatologia

#### SOMMARIO

<b>IMMUNOPATOLOGIA DELLE COMPLICAZIONI POLMONARI</b> .....	<b>3</b>
Le caratteristiche dei macrofagi polmonari .....	4
<b>Il potenziamento della malattia (ADE)</b> .....	<b>9</b>
<b>Funzioni effettrici degli anticorpi mediate dal recettore Fc</b> .....	<b>15</b>
Gli anticorpi .....	15
La sializzazione .....	19
La Fucosilazione e il COVID-19 .....	20
<b>Anticorpi IgA</b> .....	<b>23</b>
<b>Anticorpi IgE</b> .....	<b>27</b>
I mastociti.....	28
I meccanismi dell’anafilassi mediata da anticorpi.....	32
Mastociti e SARS-Cov-2 .....	34
Eosinofili e SARS-Cov-2 .....	37
<b>APPROFONDIMENTO</b> .....	<b>37</b>
<b>Gli eosinofili</b> .....	<b>37</b>
Endotipi dell'asma.....	37
Eosinofili.....	40
Interazioni tra eosinofili e patogeni respiratori .....	43
Asma e SARS: la connessione eosinofila .....	45
Immunopatologia mediata dagli eosinofili associata al vaccino.....	47
<b>Altri meccanismi effettori immunitari</b> .....	<b>50</b>
Citotossicità cellulo-mediata dipendente dall'anticorpo .....	51
Fagocitosi cellulare dipendente dall'anticorpo (Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis ADCP) .....	52
Attivazione del complemento mediata dall’anticorpo .....	52
Immunomodulazione mediata da anticorpo .....	57
Potenziamento della risposta infiammatoria.....	58
<b>APPROFONDIMENTO</b> .....	<b>67</b>
<b>L’inflammasoma</b> .....	<b>67</b>
Mitocondri, NLRP3 inflammasoma e immunità innata.....	71
Difetti nell'autofagia o nella mitofagia mitocondriale .....	75
Inflammasoma e SARS-Cov-2 .....	<b>80</b>
Disfunzione mitocondriale e covid-19.....	<b>86</b>
Neutrofili e COVID-19.....	<b>87</b>
Il ruolo dei NET .....	88
<b>PATOGENESI DELLA COAGULOPATIA ASSOCIATA AL COVID-19 (CAC)</b> .....	<b>94</b>

<b>MECCANISMI REDOX NELLA RISPOSTA IMMUNITARIA.....</b>	<b>109</b>
<b>IL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA (RAS) .....</b>	<b>114</b>
La tempesta bradichininica .....	120
<b>LA RIOSSIGENAZIONE/RIPERFUSIONE .....</b>	<b>121</b>
I fattori ipossici inducibili .....	121
Ipossiemia e SARS-Cov-2 .....	123
Il danno da riperfusione .....	124
<b>IMMUNOMETABOLISMO DEI MACROFAGI.....</b>	<b>127</b>
Risoluzione dell'infiammazione mediata dall'immunità innata.....	131
L'immunoma del COVID-19 .....	133
<b>L'ASSE INTESTINO-POLMONE .....</b>	<b>135</b>
Sistema immunitario mucosale comune.....	140
Il microbioma polmonare.....	143

## IMMUNOPATOLOGIA DELLE COMPLICAZIONI POLMONARI

Un recente studio <sup>1</sup> ha confrontato la distribuzione delle cellule immunitarie tra i gruppi di controllo, lieve e grave nel tessuto polmonare, e ha dimostrato che c'erano proporzioni più elevate di macrofagi e neutrofili e più basse di cellule dendritiche mieloidi e plasmacitoidi, cellule T (in particolare CD4 linfopenia e conseguente linfopenia delle cellule B) e deplezione di cellule NK nei pazienti COVID-19 gravi rispetto ai casi lievi.

Inoltre i pazienti gravi contenevano meno cellule T CD8<sup>+</sup> e più cellule T proliferanti rispetto ai pazienti con infezione moderata, suggerendo che i linfociti T CD8<sup>+</sup> potrebbero essere il fattore chiave per la risoluzione dell'infezione virale.

Sono stati identificati sottogruppi di macrofagi polmonari, in cui quelli con proprietà maggiormente proinfiammatorie (tipo M1) reclutati dalla circolazione nel polmone, erano presenti prevalentemente nei pazienti più gravi, mentre i macrofagi alveolari con funzione metabolica lipidica importante per il mantenimento del surfattante <sup>2</sup> erano quasi completamente mancanti.

Ciò suggerisce che i macrofagi polmonari in pazienti con grave infezione da COVID-19 contribuiscono all'infiammazione locale reclutando cellule monocitiche e neutrofili infiammatori che producono alti livelli di citochine IL1 $\beta$ , IL6, TNF, mentre i macrofagi in pazienti con infezione da COVID-19 moderata producono più chemochine che attraggono le cellule T. <sup>3</sup>

Le principali caratteristiche patologiche nei polmoni da campioni autoptici sono un

- esteso deterioramento delle cellule epiteliali alveolari di tipo I
- l'iperplasia atipica delle cellule alveolari di tipo II, con formazione di membrana ialina, emorragia focale, essudazione ed edema polmonare e consolidamento polmonare.

Il tappo mucoso con essudato fibrinoso negli alveoli e la disfunzione dei macrofagi alveolari erano anomalie peculiari nel COVID-19.

Le cellule epiteliali alveolari di tipo II e i macrofagi negli alveoli e nel tessuto linfoide dell'ilo polmonare risultavano infettati da SARS-CoV-2.

<sup>1</sup> Liao, M., Liu, Y., et al.

Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. Nat Med (2020). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0901-9> <https://www.nature.com/articles/s41591-020-0901-9.pdf>

Giamarellos-Bourboulis EJ, Netea MG, Rovina N, et al.

Complex Immune Dysregulation in COVID-19 Patients with Severe Respiratory Failure. Cell Host Microbe. 2020;27(6):992-1000.e3. doi:10.1016/j.chom.2020.04.009 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7172841/>

<sup>2</sup> [https://www.researchgate.net/publication/251211981\\_Surfattante\\_polmonare](https://www.researchgate.net/publication/251211981_Surfattante_polmonare)

Terzano, Claudio & Allegra, L. (2006). Surfattante polmonare. 10.1007/978-88-470-0467-2\_2.

[http://www.med.unipg.it/ccl/Materiale%20Didattico/Fisiologia%20\(Pettorossi\)/Meccanica%20respiratoria.pdf](http://www.med.unipg.it/ccl/Materiale%20Didattico/Fisiologia%20(Pettorossi)/Meccanica%20respiratoria.pdf)

<sup>3</sup> Abassi Z, Knaney Y, Karram T and Heyman SN

The Lung Macrophage in SARS-CoV-2 Infection: A Friend or a Foe? Front. Immunol. (2020) 11:1312. doi: 10.3389/fimmu.2020.01312 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01312/full>

L'eccessiva secrezione di muco con essudazione sierosa e fibrinosa, che aggrava la disfunzione della ventilazione, potrebbe essere uno dei meccanismi patologici responsabili dell'ipossiemia.

L'accumulo di macrofagi infettati da SARS-CoV-2 nei polmoni provoca il rilascio di citochine tra cui IL-6, uno dei mediatori della tempesta di citochine <sup>4</sup>

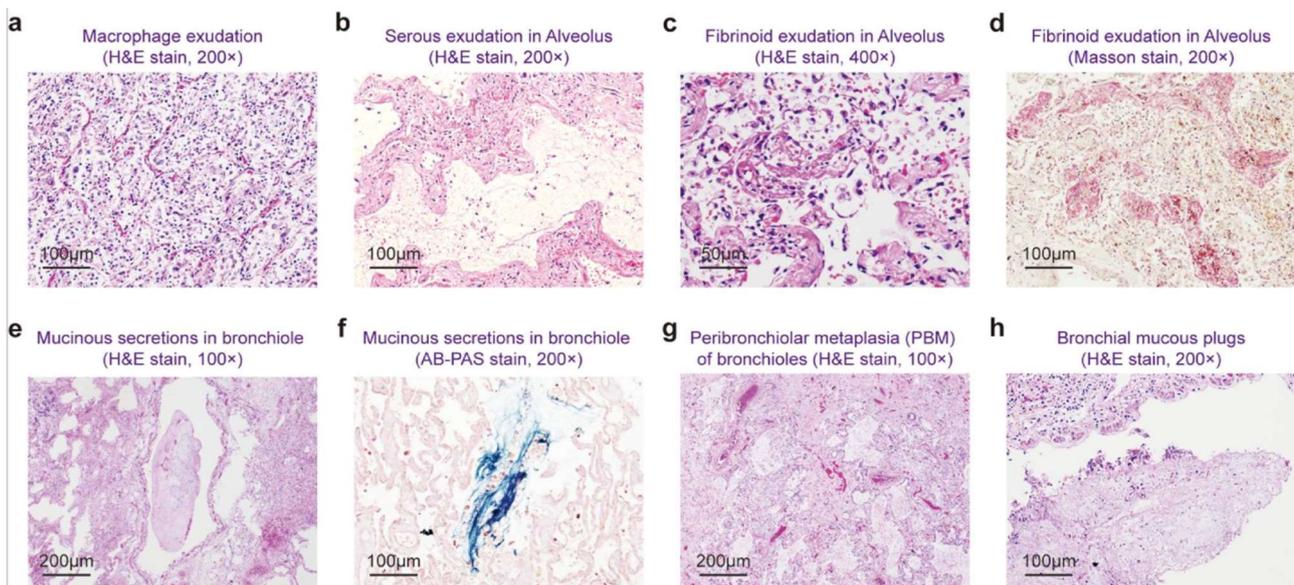
### Le caratteristiche dei macrofagi polmonari

I macrofagi e le cellule dendritiche sono ubiquitari negli organi umani con un'abbondanza sostanziale nei polmoni.

Esistono due popolazioni distinte di macrofagi polmonari <sup>5</sup>:

- I **macrofagi alveolari**, che risiedono in prossimità delle cellule alveolari epiteliali di tipo I e di tipo II,
- I **macrofagi interstiziali**, che sono preferibilmente abbondanti tra l'endotelio microvascolare e la zona dell'epitelio alveolare (Figura seguente).

Vari agenti patogeni e materiali nocivi che raggiungono i polmoni provocano una risposta immunitaria innata del parenchima polmonare caratterizzata dalla differenziazione dei monociti derivati dal midollo osseo in macrofagi alveolari, che fungono da difesa di prima linea.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7305897/>

Vasto essudato e secrezione mucinosa. (a) Un gran numero di macrofagi nelle cavità alveolari (colorazione H&E, 200 x). (b-d) essudazione sierosa (B, colorante H&E, 200 x) e fibrinoide (c, colorante H&E, 400 x, d, colorazione Masson, 200 x). Secrezioni mucinose nei bronchioli (e, colorazione H&E, 100 x) con colorazione blu con colorazione AB-PAS (f, 200 x). Sono visibili metaplasia peribronchiolare (PBM) dei bronchioli e bronchioli terminali (g, colorante H&E, 100 x) e formazione di tappi mucosi bronchiali (h, colorante H&E, 200 x).

Sia i macrofagi alveolari che quelli interstiziali possono essere divisi in due fenotipi funzionali.

<sup>4</sup> Wang C, Xie J, Zhao L, et al.

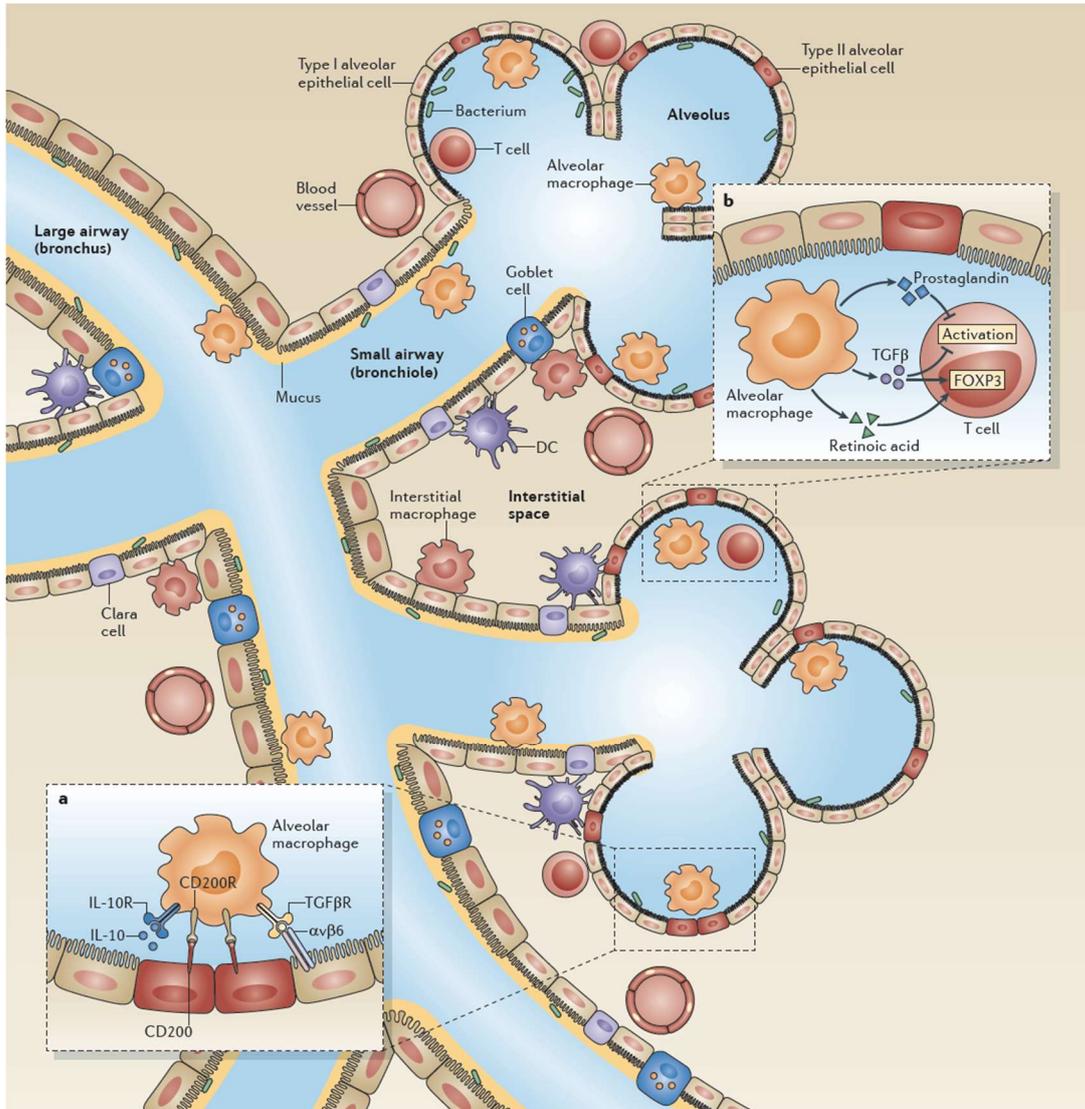
Alveolar macrophage dysfunction and cytokine storm in the pathogenesis of two severe COVID-19 patients [published online ahead of print, 2020 Jun 20]. EBioMedicine. 2020;57:102833. doi:10.1016/j.ebiom.2020.102833 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7305897/>

<sup>5</sup> Hussell T, Bell TJ.

Alveolar macrophages: plasticity in a tissue-specific context. Nat Rev Immunol. 2014;14(2):81-93. doi:10.1038/nri3600 [https://www.researchgate.net/publication/259826274\\_Alveolar\\_macrophages\\_Plasticity\\_in\\_a\\_tissue-specific\\_context](https://www.researchgate.net/publication/259826274_Alveolar_macrophages_Plasticity_in_a_tissue-specific_context)

Il primo è costituito da **macrofagi attivati classicamente (macrofagi M1)** attraverso i modelli molecolari associati ai patogeni (PAMP) tra cui i virus, e la cui attività è promossa dalle cellule Th1.

La seconda popolazione comprende i **macrofagi attivati alternativamente (macrofagi M2)**, che sono attivati dalle cellule Th2 per mezzo di IL-4 e IL-13<sup>6</sup>



[https://www.researchgate.net/publication/259826274\\_Alveolar\\_macrophages\\_Plasticity\\_in\\_a\\_tissue-specific\\_context](https://www.researchgate.net/publication/259826274_Alveolar_macrophages_Plasticity_in_a_tissue-specific_context)

**Interazioni leucocitarie nei polmoni sani.** I macrofagi alveolari risiedono negli spazi aerei giustapposti con cellule epiteliali alveolari di tipo I (che rappresentano fino al 98% della superficie totale dei polmoni) o con cellule epiteliali alveolari di tipo II. I macrofagi che si trovano nelle vie aeree più grandi (indicati in questa recensione anche come macrofagi alveolari) risiedono nello strato mucoso. Le cellule caliciformi che producono muco sono presenti nelle vie aeree sia grandi che piccole e le cellule di Clara secretorie non ciliate sono più comuni nei bronchioli. I macrofagi si trovano anche nello spazio interstiziale tra gli alveoli e i vasi sanguigni dove risiedono anche le cellule T, le cellule dendritiche (DC) e una scarsa popolazione di cellule B. I batteri commensali (e patogeni) risiedono nella mucosa delle vie aeree e negli alveoli. **a** | I macrofagi alveolari sono regolati dall'epitelio delle vie aeree **b** | La secrezione di TGFβ e acido retinoico da parte dei macrofagi alveolari può indurre l'espressione di FOXP3 nelle cellule T CD4<sup>+</sup> sia naïve che attivate che sono presenti nel lume delle vie aeree.

<sup>6</sup> Hu G and Christman JW

Editorial: Alveolar Macrophages in Lung Inflammation and Resolution. Front. Immunol. (2019) 10:2275. doi: 10.3389/fimmu.2019.02275 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02275/full>

Allard B, Panariti A, Martin JG.

Alveolar Macrophages in the Resolution of Inflammation, Tissue Repair, and Tolerance to Infection. Front Immunol. 2018;9:1777. Published 2018 Jul 31. doi:10.3389/fimmu.2018.01777 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6079255/>

I macrofagi M1 inducono il reclutamento di cellule immunitarie nel parenchima polmonare. Al contrario, l'attivazione dei macrofagi M2 innesca il rilascio di citochine antinfiammatorie, che limitano l'infiammazione e promuovono la riparazione dei tessuti.

Le infezioni virali provocano il rilascio di molecole di segnalazione proinfiammatoria potenziate da parte dei monociti e risposte antivirali, come dimostrato con virus influenzali, herpes e Zika <sup>7</sup>.

In generale, i monociti/macrofagi di breve durata sono in grado di limitare notevolmente la replicazione virale, tuttavia ciò non impedisce a queste cellule di servire come sistema permissivo e/o come serbatoio virale. Ciò deriva dal fatto che queste cellule fungono da prima linea di difesa quando incontrano un'infezione virale, però l'infezione virale può convertire queste cellule in macrofagi di lunga durata (M $\phi$ ) e promuovere la loro migrazione nei tessuti in cui diventano cellule residenti infette.

Infine, poiché i virus SARS, incluso SARS-CoV2, utilizzano ACE2 come sito di legame ad alta affinità <sup>8</sup>, i macrofagi polmonari che esprimono ACE2 possono permeare il tessuto polmonare durante l'infezione virale.

Mentre i macrofagi svolgono un ruolo importante nei meccanismi di difesa antivirale, nel caso del SARS-CoV possono anche fungere da cavallo di Troia, consentendo l'ancoraggio virale all'interno del parenchima polmonare.

In altre parole, l'espressione unica di ACE2 nei macrofagi può, paradossalmente, abilitare l'invasione polmonare da SARS-CoV, facilitando l'attecchimento e inducendo risposte infiammatorie incontrollate locali e sistemiche protratte. <sup>9</sup>

Questo meccanismo assomiglia a un fenomeno comparabile, chiamato "il **paradosso dei macrofagi**", <sup>10</sup> in cui i patogeni batterici intracellulari si replicano preferibilmente all'interno dei macrofagi che dovrebbero contenere l'infezione <sup>11</sup>

<sup>7</sup> Nikitina E, Larionova I, Choinzonov E, Kzhyshkowska J. Monocytes and Macrophages as Viral Targets and Reservoirs. *Int J Mol Sci.* 2018;19(9):2821. Published 2018 Sep 18. doi:10.3390/ijms19092821 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6163364/>

<sup>8</sup> Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ace2 and tmprss2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell.* (2020) 181:271–80.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7102627/>

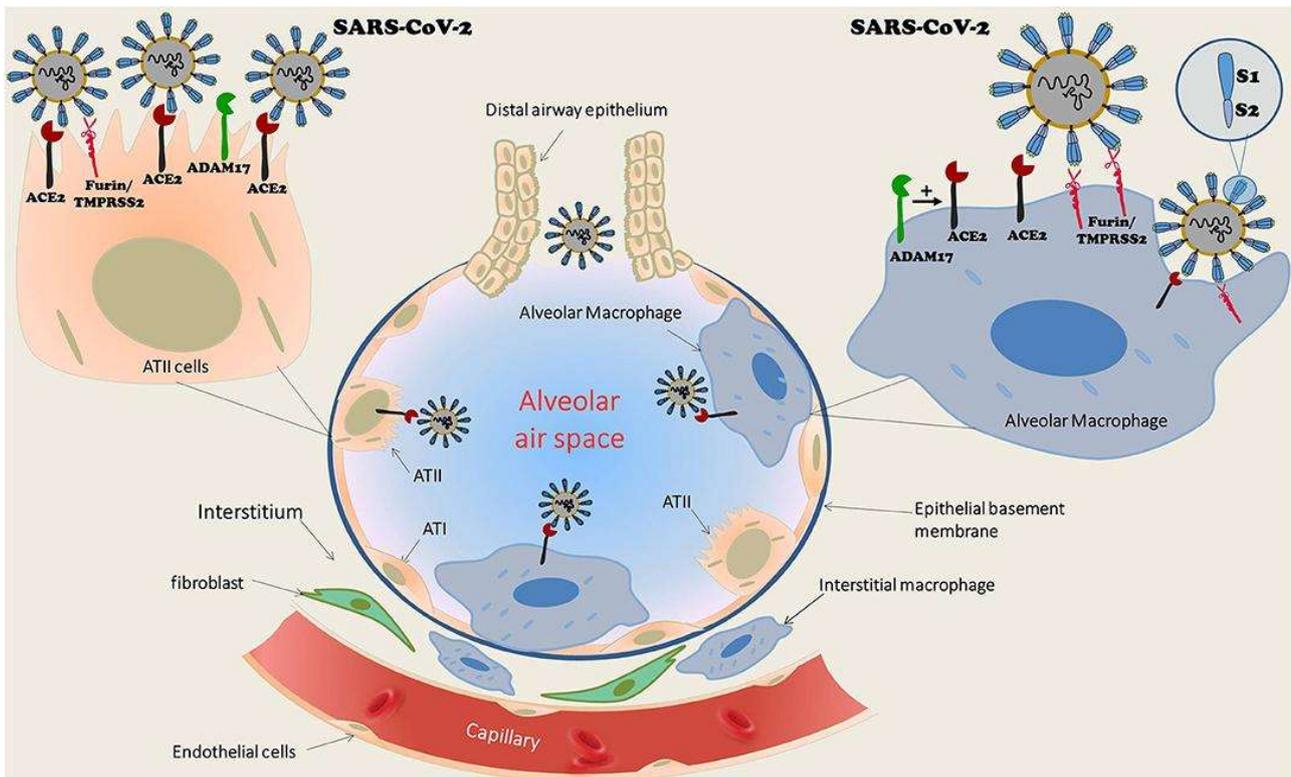
Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science.* (2020) 367:1444–8. doi: 10.1126/science.abb2762 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7164635/>

Liu Z, Xiao X, Wei X, Li J, Yang J, Tan H, et al. Composition and divergence of coronavirus spike proteins and host ACE2 receptors predict potential intermediate hosts of SARS-CoV-2. *J Med Virol.* (2020) 92:595–601. doi: 10.1002/jmv.25726 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7228221/>

<sup>9</sup> Moore JB, June C. H. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science.* (2020) 368:473–4. doi: 10.1126/science.abb8925 <https://science.sciencemag.org/content/368/6490/473.long>

<sup>10</sup> Price JV, Vance RE. The macrophage paradox. *Immunity.* (2014) 41:685–93. doi: 10.1016/j.immuni.2014.10.015 <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S1074-7613%2814%2900391-4>

<sup>11</sup> Abassi Z, Knaney Y, Karram T and Heyman SN The Lung Macrophage in SARS-CoV-2 Infection: A Friend or a Foe? *Front. Immunol.* (2020) 11:1312. doi: 10.3389/fimmu.2020.01312 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01312/full>



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01312/full>

**Struttura schematica di alveoli polmonari con diversi tipi di cellule, tra cui cellule epiteliali ciliate cuboidali lungo i bronchioli, cellule epiteliali alveolari di tipo I (ATI) e di tipo II (ATII) e macrofagi.** Questi ultimi sono ubiquitari nei polmoni e sono costituiti da due popolazioni distinte: macrofagi alveolari, che risiedono in prossimità di ATI e ATII, e macrofagi interstiziali, che sono abbondanti tra l'endotelio microvascolare e la zona dell'epitelio alveolare. I macrofagi alveolari e ATII esprimono ACE2, il recettore di legame di SARS-CoV-2. Inoltre, entrambi i tipi di cellule esprimono TMPRSS2/Furina, necessari anche per l'attacco virale. ACE2, enzima di conversione dell'angiotensina 2; ATI, cellule epiteliali alveolari di tipo I; ATII, cellule epiteliali alveolari di tipo II; TMPRSS2, proteasi transmembrana, serina 2.

La riparazione del tessuto polmonare dopo un'infezione o un trauma meccanico si verifica normalmente in una serie rapida, ma controllata di eventi: infiammazione, secrezione del fattore di crescita, riparazione della membrana basale e infine risoluzione del tessuto lesionato.<sup>12</sup>

In circostanze normali, questo processo procede senza problemi, tuttavia quando il carico infettivo supera le capacità di contenimento dell'ospite o c'è un danno continuo, la risposta di guarigione della ferita può diventare disregolata, causando cicatrici e fibrosi.<sup>13</sup>

Quando le cicatrici progrediscono nell'ARDS e nella fibrosi polmonare, la funzione polmonare si riduce e può portare alla morte.

<sup>12</sup> Rock JR, Hogan BL. Epithelial progenitor cells in lung development, maintenance, repair, and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2011;27:493-512. doi:10.1146/annurev-cellbio-100109-104040 <https://pdfs.semanticscholar.org/5e52/3425fbc97d170f2a366f7f0dda406fc588b.pdf>

<sup>13</sup> Meneghin A, Hogaboam CM. Infectious disease, the innate immune response, and fibrosis. *J Clin Invest.* 2007;117(3):530-538. doi:10.1172/JCI30595 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1804377/>

Schäfer M, Werner S. Transcriptional control of wound repair. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2007;23:69-92. doi:10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123609 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17474876/>

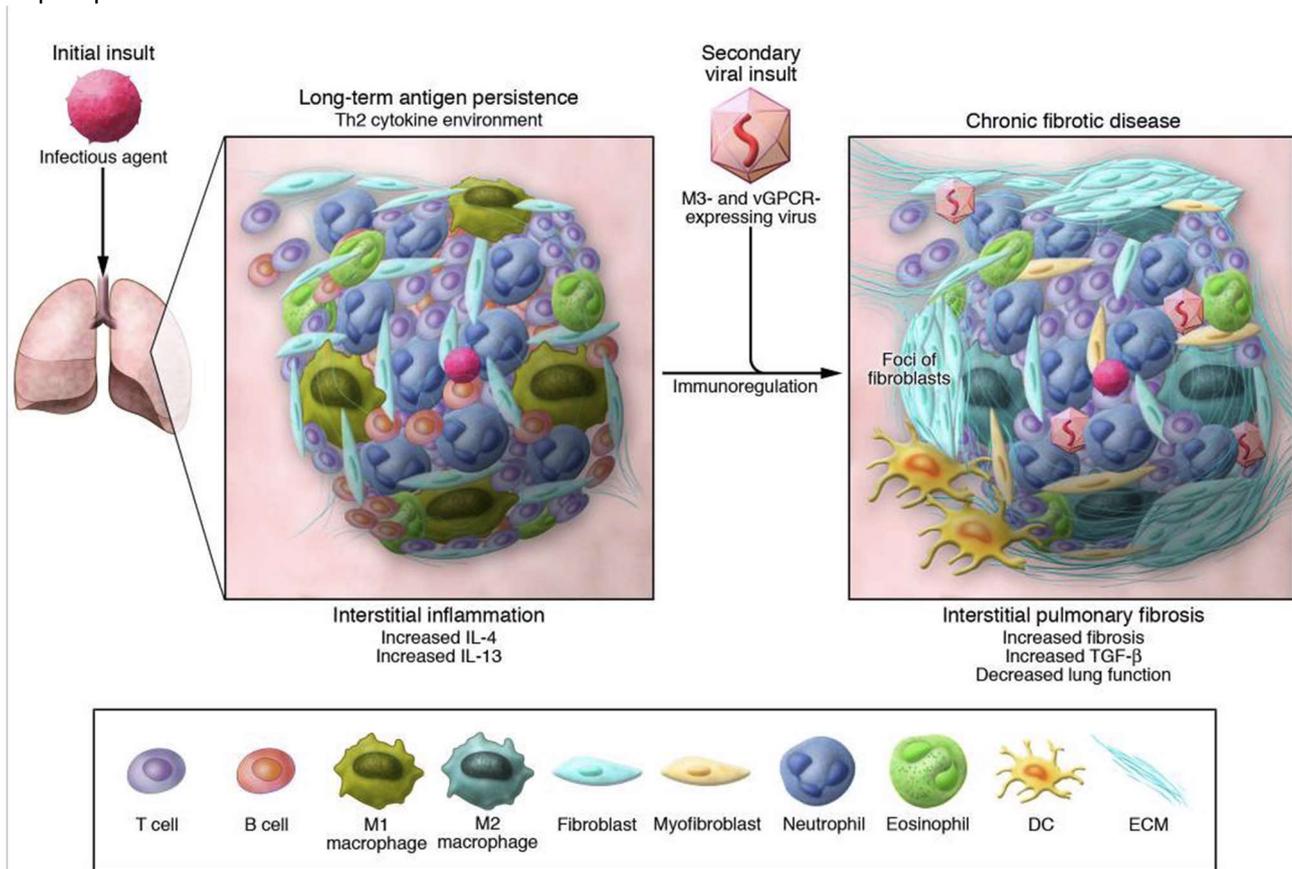
Haertel E, Werner S, Schäfer M. Transcriptional regulation of wound inflammation. *Semin Immunol.* 2014;26(4):321-328. doi:10.1016/j.smim.2014.01.005 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24556599/>

Kim et al. hanno scoperto che anche dopo la clearance virale, l'induzione di cellule T natural killer (NKT) attiva i macrofagi nel polmone. <sup>14</sup>

Questi macrofagi e le cellule NKT secernono IL-13 (asse dell'immunità innata cellule NTK-macrofagi-IL-13), che polarizza i macrofagi nel sottotipo di macrofagi attivati alternativamente (AA). Questa attivazione produce un circuito a feedback positivo che amplifica la produzione di IL-13 e l'attivazione alternativa dei macrofagi. La produzione persistente di IL-13 provoca metaplasia cronica delle cellule mucose e iperreattività delle vie aeree che sono caratteristiche delle malattie infiammatorie croniche delle vie aeree come l'asma e la BPCO.

È importante sottolineare che gli autori hanno scoperto che l'attivazione persistente della via dei macrofagi AA è cruciale per il danno polmonare e l'infiammazione nell'infezione da SARS-Cov-2. <sup>15</sup>

Questo meccanismo di malattia è quindi distinto dal dogma secondo cui la risposta immunitaria adattativa è l'unica responsabile della malattia infiammatoria cronica. Infatti è comunemente accettato che il sistema immunitario innato medi la risposta acuta a un agente infettivo, e che una risposta immunitaria adattativa atipica possa causare infiammazione cronica.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1804377/>

Come altri sistemi di organi direttamente esposti all'ambiente esterno, il polmone si confronta continuamente con gli agenti infettivi. Se la trascrizione e i componenti proteici di questi patogeni infettivi persistono, la risposta immunitaria può spostarsi verso il profilo di citochine Th2 (aumento di IL-4 e IL-13). L'esposizione secondaria o ripetitiva ad agenti infettivi in questo ambiente immunoregolato potrebbe quindi esacerbare la risposta fibrotica a causa della mancanza di un'efficace risposta immunitaria Th1. Pertanto, la risposta fibrotica potrebbe essere esacerbata da insulti patogeni secondari ripetuti e i sottoprodotti virali potrebbero essere particolarmente importanti nel perpetuare la fibrosi.

<sup>14</sup> Kim EY, Battaile JT, Patel AC, et al.

Persistent activation of an innate immune response translates respiratory viral infection into chronic lung disease.

Nat Med. 2008;14(6):633-640. doi:10.1038/nm1770

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2575848/>

<sup>15</sup> Page C, Goicochea L, Matthews K, et al.

Induction of alternatively activated macrophages enhances pathogenesis during severe acute respiratory syndrome coronavirus infection.

J Virol. 2012;86(24):13334-13349. doi:10.1128/JVI.01689-12

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3503056/>

## Il potenziamento della malattia (ADE) <sup>16</sup>

Come già ampiamente discusso nel capitolo 1 “Presentazione clinica e Immunopatologia” da COVID-19, il meccanismo del potenziamento della malattia è un fattore chiave nell’aggravamento verso le forme severe-fatali.

Il potenziamento immunitario della malattia può teoricamente verificarsi in due modi.

Innanzitutto, i livelli di anticorpi non neutralizzanti o sub-neutralizzanti possono favorire l’infezione da SARS-CoV-2 nelle cellule bersaglio.

In secondo luogo, gli anticorpi potrebbero potenziare l’infiammazione e quindi la gravità della malattia polmonare. <sup>17</sup>

Numerosi fattori determinano se un anticorpo neutralizza un virus e protegge l’ospite o provoca il potenziamento della malattia e l’infiammazione acuta. Questi includono la **specificità**, la **concentrazione**, l’**affinità** e l’**isotipo dell’anticorpo**.

*I vaccini virali a vettore che codificano la proteina S e la proteina del nucleocapside (N) di SARS-CoV provocano la produzione rispettivamente IgG anti-S e anti-N nei topi immunizzati in misura simile.*

*Tuttavia, dopo la reinfezione, i topi immunizzati con proteina N mostrano un significativo aumento della secrezione di citochine pro-infiammatorie, dell’infiltrazione polmonare dei neutrofili e degli eosinofili e della patologia polmonare più grave <sup>18</sup>.*

### <sup>16</sup> riferimento note bibliografiche in rosso

Eroshenko N, Gill T, Keaveney MK, Church GM, Trevejo JM, Rajaniemi H.  
Implications of antibody-dependent enhancement of infection for SARS-CoV-2 countermeasures.  
Nat Biotechnol. 2020;38(7):789-791. doi:10.1038/s41587-020-0577-1  
<https://www.nature.com/articles/s41587-020-0577-1.pdf>

Arvin AM, Fink K, Schmid MA, et al.  
A perspective on potential antibody-dependent enhancement of SARS-CoV-2.  
Nature. 2020;584(7821):353-363. doi:10.1038/s41586-020-2538-8  
<https://www.nature.com/articles/s41586-020-2538-8>

Coish JM, MacNeil AJ.  
Out of the frying pan and into the fire? Due diligence warranted for ADE in COVID-19  
[published online ahead of print, 2020 Jun 24]. Microbes Infect. 2020;S1286-4579(20)30124-6. doi:10.1016/j.micinf.2020.06.006  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7311339/>

French MA, Moodley Y.  
The role of SARS-CoV-2 antibodies in COVID-19: Healing in most, harm at times.  
Respirology. 2020;25(7):680-682. doi:10.1111/resp.13852  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7280731/>

Kadkhoda K.  
COVID-19: an Immunopathological View.  
mSphere. 2020;5(2):e00344-20. Published 2020 Apr 22. doi:10.1128/mSphere.00344-20  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7178552/>

<sup>17</sup> de Alwis R, Chen S, Gan ES, Ooi EE.  
Impact of immune enhancement on Covid-19 polyclonal hyperimmune globulin therapy and vaccine development.  
EBioMedicine. 2020;55:102768. doi:10.1016/j.ebiom.2020.102768  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7161485/>

Iwasaki A, Yang Y.  
The potential danger of suboptimal antibody responses in COVID-19.  
Nat Rev Immunol. 2020;20(6):339-341. doi:10.1038/s41577-020-0321-6  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7187142/>

<sup>18</sup> Liu L, Wei Q, Lin Q, et al.  
Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection.  
JCI Insight. 2019;4(4):e123158. Published 2019 Feb 21. doi:10.1172/jci.insight.123158

L'ADE (potenziamento dipendente dall'anticorpo) inizia quando il complesso virus-anticorpo si lega ai recettori Fc per iniziare l'endocitosi o la fagocitosi.

Questo processo facilita l'ingresso del virus nei monociti, nei macrofagi e nelle cellule dendritiche che esprimono il recettore Fc.

**Tuttavia, l'attivazione dei recettori Fc da sola non è sufficiente per l'induzione dell'ADE.**

Questo perché l'attivazione dei recettori Fc innesca anche una potente azione antivirale.

Quindi i virus che inducono l'ADE devono

- (1) Legarsi alle cellule che esprimono il recettore Fc per causarne l'infezione
- (2) Sviluppare meccanismi di evasione immunitaria per superare la risposta antivirale dovuta all'attivazione del recettore Fc e altre risposte nelle cellule di derivazione mieloide.

Per alcune malattie, i pazienti che sono stati infettati da un ceppo di un virus e successivamente reinfettati da un ceppo dello stesso virus ma mutato geneticamente, possono subire complicazioni rispetto a quelli infettati una sola volta.

Una spiegazione di questo fenomeno è che le differenze tra due sierotipi virali possono compromettere la capacità degli anticorpi indotti dalla prima infezione di neutralizzare la seconda, mentre gli anticorpi indotti dalla prima infezione fanno da "ponte" tra il secondo ceppo virale e i recettori della regione costante degli anticorpi G (IgG) sulle cellule immunitarie, come i macrofagi.

Poiché si ritiene che questo collegamento consenta l'ingresso virale nelle cellule immunitarie, spostando il tropismo del virus <sup>1</sup>, il risultato si manifesta come un potenziamento dell'infezione dipendente dall'anticorpo (ADE) e una ricorrenza potenzialmente più grave della malattia. Questo fenomeno si osserva spesso quando le concentrazioni di anticorpi diminuiscono a causa del calo dell'immunità nel tempo; un anticorpo può neutralizzare potentemente ad alte concentrazioni ma può provocare un potenziamento dell'infezione a concentrazioni sub-neutralizzanti.

L'ADE è stata osservata con il Dengue virus <sup>2</sup>, Zika virus <sup>3</sup>, Ebola virus <sup>4</sup> e, soprattutto nel contesto di COVID-19, e coronavirus (CoVs) <sup>5,6,7,8,9</sup>. Sebbene nessun insieme ben definito di proprietà virali sia stato definitivamente stabilito come causalmente legato all'ADE, i virus con gravi manifestazioni cliniche di ADE mostrano la capacità di replicarsi nei macrofagi o in altre cellule immunitarie o di manipolare lo stato immunologico di queste cellule.

[10,11](#)

Campioni clinici dell'epidemia del 2003-2004 di SARS-CoV indicano che il virus può infettare le cellule immunitarie, anche se le cellule immunitarie non esprimono il recettore dell'enzima 2 (ACE-2) che converte l'angiotensina, e che media l'ingresso di SARS-CoV nelle cellule polmonari. [12,13](#)

Questi risultati sono stati confermati da osservazioni in vitro che mostrano che alcuni anticorpi che legano la proteina virale (S) possono facilitare la captazione da parte dei macrofagi umani e delle cellule B tramite i loro recettori Fcγ (FcγRs). [14,15](#)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6478436/>

Yasui F, Kai C, Kitabatake M, et al.

Prior immunization with severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus (SARS-CoV) nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV.

J Immunol. 2008;181(9):6337-6348. doi:10.4049/jimmunol.181.9.6337

<https://www.jimmunol.org/content/181/9/6337.long>

French MA, Moodley Y.

The role of SARS-CoV-2 antibodies in COVID-19: Healing in most, harm at times.

Respirology. 2020;25(7):680-682. doi:10.1111/resp.13852

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7280731/>

Anche se si ritiene che l'ADE colpisca principalmente le popolazioni di cellule immunitarie, vale la pena notare che le cellule epiteliali polmonari esprimono il recettore funzionale neonatale Fc, un FcγR non classico.<sup>16</sup> I dati di espressione dell'RNA raccolti sull'Atlas delle proteine umane<sup>19</sup> mostrano che gli FcγR possono avere profili di espressione complessi che possono giustificare ulteriori esplorazioni per la risoluzione dei meccanismi dell'ADE.

Prove cliniche per l'ADE nei pazienti con SARS-CoV comprendono l'osservazione che i macrofagi trattati con il virus e i sieri dei pazienti che sono deceduti in seguito all'infezione hanno mostrato un profilo di citochine simile a quello osservato nei macachi che hanno subito lesioni polmonari acute fatali a seguito della vaccinazione e la reinfezione<sup>19</sup>.

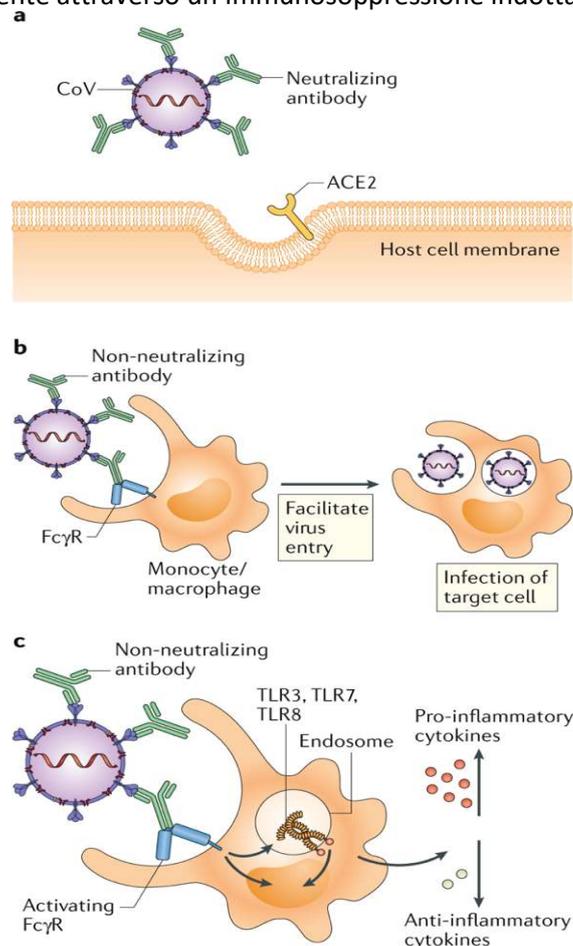
Questo effetto può essere ridotto bloccando FcγR, suggerendo che, come nel modello di macaco, questo effetto è mediato dagli anticorpi.

Più indirettamente, gli antisieri di pazienti con SARS-CoV erano protettivi nei test di infettività virale se usati ad alta concentrazione ma potenziavano l'infezione quando altamente diluiti.<sup>25</sup>

Nel caso del SARS-CoV, i macrofagi infettati mostrano una scarsa o nessuna induzione dell'interferone-β, portando all'ipotesi che la soppressione della risposta immunitaria da parte del virus si traduca in una replicazione virale incontrollata nelle cellule epiteliali respiratorie.<sup>26</sup>

Ciò può comportare elevate cariche virali che portano a ulteriori danni ai tessuti e determinano risposte immunitarie adattative patologiche.

L'antisiero contro la proteina S può aumentare la carica virale nei macrofagi<sup>27</sup>, suggerendo un modello in cui il legame CoV – FcγR mediato dagli anticorpi aumenta l'assorbimento del virus da parte dei macrofagi, i quali vengono inattivati funzionalmente attraverso un'immunosoppressione indotta dal virus.



<sup>19</sup> <https://www.proteinatlas.org/search/Fc+receptor>

<https://www.nature.com/articles/s41577-020-0321-6>

**Esiti potenziali della risposta anticorpale al coronavirus.** **a** | Nella **neutralizzazione virale mediata da anticorpi**, gli anticorpi neutralizzanti che si legano al dominio legante il recettore (RBD) della proteina virale spike, così come altri domini, impediscono al virus di agganciarsi al suo recettore di ingresso, ACE2. **b** | Nel **potenziamento dell'infezione dipendente dall'anticorpo**, anticorpi di bassa qualità, bassa quantità e non neutralizzanti si legano alle particelle virali attraverso i domini Fab. I recettori Fc (FcR) espressi su monociti o macrofagi si legano ai domini Fc di anticorpi e facilitano l'ingresso e l'infezione virali. **c** | Nel **potenziamento immunitario mediato da anticorpi**, anticorpi di bassa qualità, bassa quantità e non neutralizzanti si legano alle particelle virali. In seguito all'impegno dei domini Fc sugli anticorpi, l'attivazione degli FcR con gli ITAM avvia la segnalazione per sovraregolare le citochine proinfiammatorie e sottoregolare le citochine antinfiammatorie. I complessi immunitari e l'RNA virale negli endosomi possono segnalare attraverso il recettore Toll-like 3 (TLR3), TLR7 e / o TLR8 per attivare le cellule ospiti, con conseguente immunopatologia

Se il SARS-CoV-2 può causare l'ADE rimane una domanda aperta, tuttavia dato che l'ADE è stata osservata con il SARS-CoV strettamente correlato, la questione degli effetti dell'ADE nel SARS-CoV-2 va risolta urgentemente usando l'immunologia sperimentale.

Ad esempio, potrebbe aiutare a identificare i virus correlati in grado di generare anticorpi che causano ADE la misurazione della reattività crociata degli anticorpi di individui non esposti a SARS-CoV-2.

In un recente studio pre-print è stata dimostrata la presenza di cellule T CD4<sup>+</sup> reattive verso la proteina Spike nei pazienti COVID-19 e in un sottogruppo di controlli sani sieronegativi per SARS-Cov-2.<sup>20</sup> La presenza delle cellule cross-reattive nei controlli negativi potrebbe essere la conseguenza di un'esposizione precedente a coronavirus umani, responsabili del comune raffreddore, con cui la popolazione adulta entra in contatto in media due volte l'anno.

Nell'articolo "*Hypothesis to explain the severe form of COVID-19 in Northern Italy*"<sup>21</sup>, Cegolon et al ipotizzano sulla base delle caratteristiche fisiopatologiche dei pazienti e dell'andamento epidemiologico del COVID-19 che infezioni precedenti con SARS-CoV-2 (o altri virus / coronavirus) possono aver predisposto a forme più gravi della malattia a seguito della reinfezione con SARS-CoV-2, a causa del potenziamento dipendente dall'anticorpo.

In particolare, riportano che sulla base delle indagini epidemiologiche condotte dall'Istituto Superiore di Sanità si può ragionevolmente sostenere che il SARS-CoV-2 circolasse nel paese - specialmente in Lombardia, Emilia-Romagna, Piemonte e Veneto - già settimane prima che fosse trovato il primo paziente.<sup>22</sup>

Inoltre, sin dalle fasi iniziali dell'epidemia COVID-19 a Wuhan (Cina) è stata segnalata la sospetta trasmissione in ospedale di SARS-CoV-2 nel 41% del numero totale dei pazienti, il 70% dei quali era costituito da personale sanitario.<sup>23</sup> Ciò avrebbe potuto verificarsi anche in Italia dove gli operatori sanitari costituiscono il 9% di tutti i casi COVID-19.<sup>24</sup>

Pertanto gli autori ipotizzano (vedi caselle blu nella figura seguente) che ripetuti cicli di infezione all'interno di una comunità (specialmente negli anziani) - o ancora più preoccupante in ambito sanitario - potrebbero avere il potenziale di causare forme più gravi di COVID-19.

<sup>20</sup> Julian Braun, et al

Presence of SARS-CoV-2 reactive T cells in COVID-19 patients and healthy donors  
medRxiv 2020.04.17.20061440; doi:<https://doi.org/10.1101/2020.04.17.20061440>  
<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.17.20061440v1.full.pdf>

<sup>21</sup> Cegolon L, Pichierri J, Mastrangelo G, et al.

Hypothesis to explain the severe form of COVID-19 in Northern Italy.  
BMJ Glob Health. 2020;5(6):e002564. doi:10.1136/bmjgh-2020-002564  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7295427/>

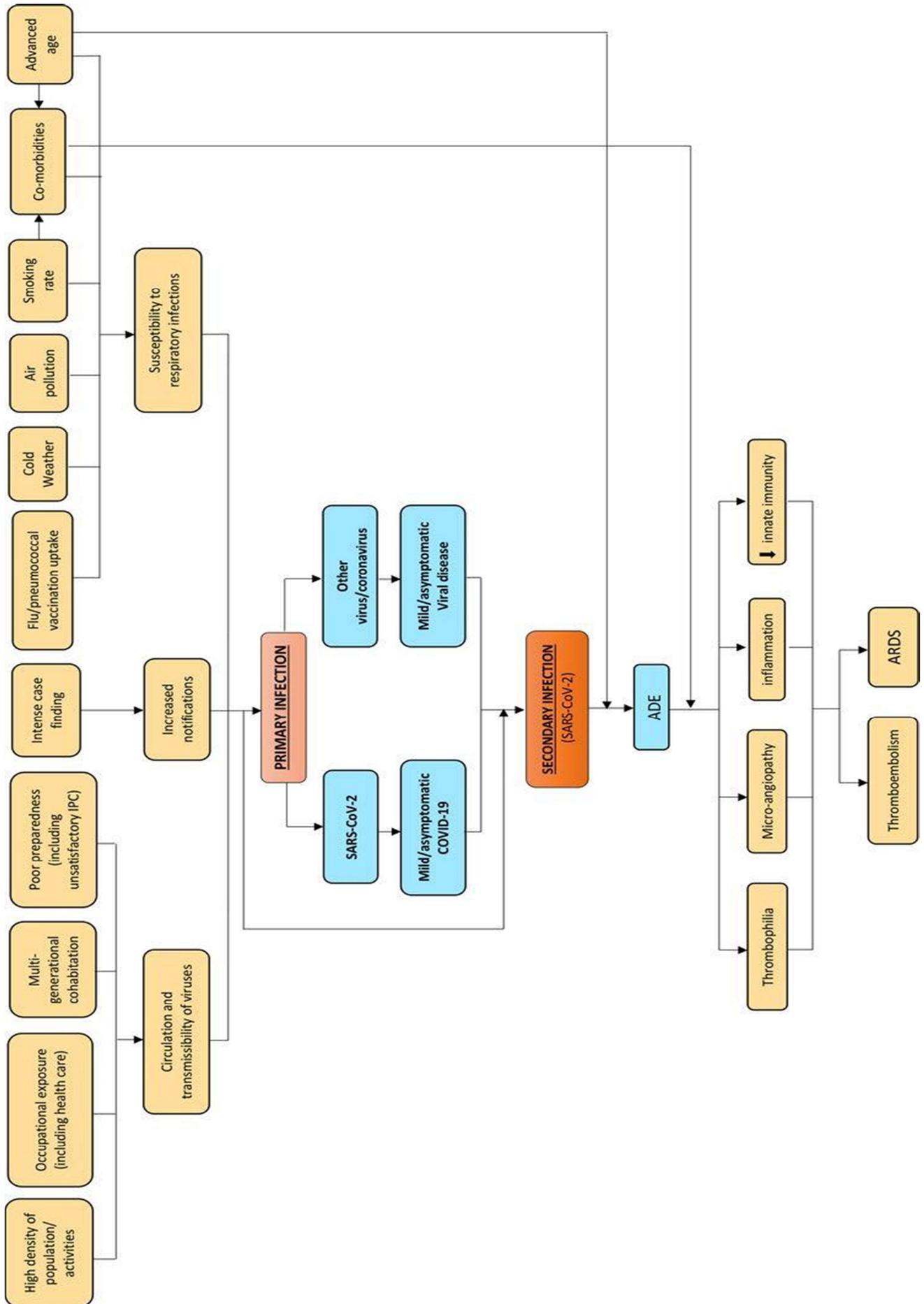
<sup>22</sup> National Institute of Health (ISS) Epicentro - Epidemia COVID-19, 2020. [https://www.epicentro.iss.it/coronavirus/bollettino/Bollettino-sorveglianza-integrata-COVID-19\\_09-marzo-2020.pdf](https://www.epicentro.iss.it/coronavirus/bollettino/Bollettino-sorveglianza-integrata-COVID-19_09-marzo-2020.pdf) [Accessed 3 Mar 2020]

<sup>23</sup> Wang D, Hu B, Hu C, et al.

Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China [published online ahead of print, 2020 Feb 7]. JAMA. 2020;323(11):1061-1069. doi:10.1001/jama.2020.1585  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7042881/>

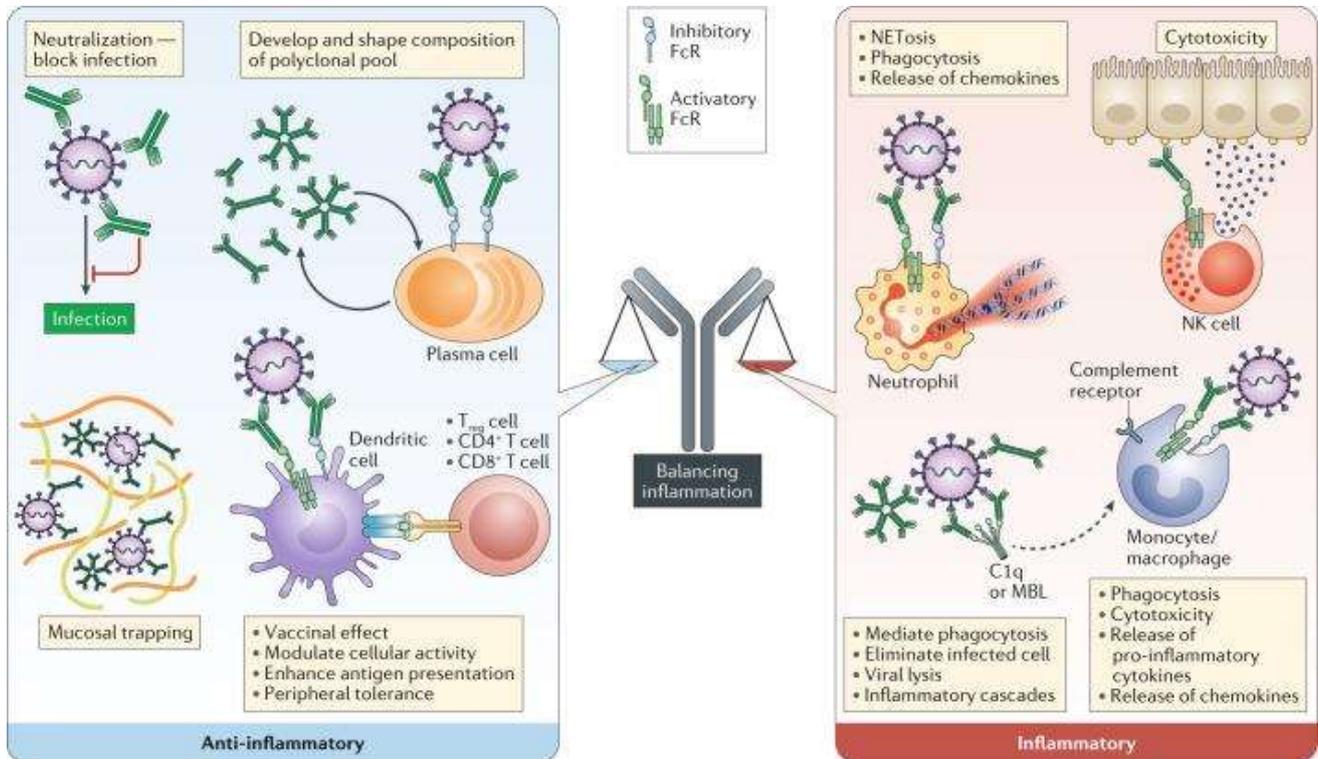
<sup>24</sup> International Council of Nurses High proportion of healthcare workers with COVID-19 in Italy is a Stark warning to the world: protecting nurses and their colleagues must be the number one priority, 2020.

<https://www.icn.ch/news/high-proportion-healthcare-workers-covid-19-italy-stark-warning-world-protecting-nurses-and> [Accessed 17 Apr 2020].



**Quadro concettuale che spiega le relazioni tra vari fattori e incidenza e forma grave / critica di COVID-19.** Elementi confermati: scatole arancioni; Elementi ipotetici: scatole blu. ADE, potenziamento dipendente dall'anticorpo; ARDS, sindrome da distress respiratorio acuto; COVID-19, malattia infettiva del coronavirus 2019; IPC, prevenzione e controllo delle infezioni; SARS-CoV-2, sindrome coronavirus acuta grave di tipo respiratorio

Oltre al legame con l'antigene e all'attivazione dell'endocitosi o fagocitosi mediata dal recettore Fc, gli anticorpi suscitano anche una serie di risposte mediate dall'Fc, in particolare **l'attivazione del complemento e la citotossicità cellulare anticorpale (ADCC)** <sup>25</sup>.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7278217/>

**Funzioni anticorpali e loro contributo all'infiammazione.** I pool policlonali sono composti da anticorpi con struttura Fc unica e specificità per l'antigene. Collettivamente, i profili si traducono in diverse funzioni e conseguenze a valle. FcR, recettore Fc; NK, killer naturale; Cellula Treg, cellula T regolatoria.

<sup>25</sup> de Alwis R, Chen S, Gan ES, Ooi EE.

Impact of immune enhancement on Covid-19 polyclonal hyperimmune globulin therapy and vaccine development.

EBioMedicine. 2020;55:102768. doi:10.1016/j.ebiom.2020.102768

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7161485/>

Antibody Fc Linking Adaptive and Innate Immunity

<https://www.sciencedirect.com/book/9780123948021/antibody-fc> <https://doi.org/10.1016/C2011-0-07091-6>

2014 Margaret E. Ackerman and Falk Nimmerjahn

Chapter 1 - Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity (ADCC)

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123948021000017>

Teillaud, Jean-Luc (Jul 2012) Antibody-dependent Cellular Cytotoxicity (ADCC).

eLS. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. <http://www.els.net> [doi: 10.1002/9780470015902.a0000498.pub2]

[https://www.dialogoroche.com/content/dam/CAC/Documents/biotecnologicos/June\\_2017/Antibody-dependent\\_Cell\\_mediated\\_cytotoxicity\\_ADCC.pdf](https://www.dialogoroche.com/content/dam/CAC/Documents/biotecnologicos/June_2017/Antibody-dependent_Cell_mediated_cytotoxicity_ADCC.pdf)

Zohar T, Alter G.

Dissecting antibody-mediated protection against SARS-CoV-2.

Nat Rev Immunol. 2020;20(7):392-394. doi:10.1038/s41577-020-0359-5

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7278217/>

Nimmerjahn, F., Ravetch, J.

Fcγ receptors as regulators of immune responses.

Nat Rev Immunol 8, 34–47 (2008). <https://doi.org/10.1038/nri2206>

<https://www.nature.com/articles/nri2206>

Tali vie effettrici mediate da Fc sono generalmente pensate per proteggere l'ospite eliminando le cellule infette e reclutando cellule immunitarie nei siti di infezione.

Tuttavia, una risposta effettrice aberrante mediata dall'iper-stimolazione del recettore Fc può anche portare a grave immunopatologia e danno.<sup>26</sup>

*Ad esempio, uno studio ha osservato che l'anticorpo IgG della proteina anti-Spike da pazienti con SARS grave e da macachi di rhesus immunizzati con un vaccino SARS CoV a vettore con il virus Ankara modificato, ha portato alla produzione di citochine proinfiammatorie e al reclutamento di macrofagi infiammatori nel parenchima polmonare<sup>27</sup>*

Il supporto clinico per l'immunopatologia mediata da anticorpi deriva dall'osservazione che la malattia grave da SARS si manifesta nella terza settimana di malattia, in un momento in cui la carica virale del tratto respiratorio diminuisce a causa dell'aumento dei titoli anticorpali<sup>28</sup>

## Funzioni effettrici degli anticorpi mediate dal recettore Fc

### Gli anticorpi

Tradizionalmente, si ritiene che la protezione mediata dagli anticorpi contro le infezioni virali avvenga attraverso il legame diretto degli anticorpi alle particelle virali, con conseguente neutralizzazione del virus.

Tuttavia, come nel caso ad esempio dell'RSV (virus sinciziale respiratorio), i titoli di neutralizzazione del virus non forniscono un adeguato correlato di protezione.

L'attuale mancanza di comprensione dei meccanismi con cui gli anticorpi possono proteggere contro l'infezione e la malattia da RSV o, in alternativa, contribuire alla gravità della malattia, impedisce la progettazione di vaccini sicuri ed efficaci.<sup>29</sup>

È importante sottolineare che la neutralizzazione è solo uno dei molti meccanismi con cui gli anticorpi possono interferire con l'infezione virale.

Gli anticorpi sono costituiti da due regioni strutturali: un frammento variabile (Fab) che media il legame con l'antigene e un frammento costante (Fc) che media le funzioni effettrici a valle attraverso la sua interazione

<sup>26</sup> Goldberg BS, Ackerman ME.

Antibody-mediated complement activation in pathology and protection. Immunol Cell Biol. 2020;98(4):305-317. doi:10.1111/imcb.12324 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/imcb.12324>

Vandervan HA, Jegaskanda S, Wheatley AK, Kent SJ.

Antibody-dependent cellular cytotoxicity and influenza virus. Curr Opin Virol. 2017;22:89-96. doi:10.1016/j.coviro.2016.12.002 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28088123/>

<sup>27</sup> Liu L, Wei Q, Lin Q, et al.

Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. JCI Insight. 2019;4(4):e123158. Published 2019 Feb 21. doi:10.1172/jci.insight.123158 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6478436/>

<sup>28</sup> Peiris JS, Chu CM, Cheng VC, et al.

Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. Lancet. 2003;361(9371):1767-1772. doi:10.1016/s0140-6736(03)13412-5 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7112410/>

<sup>29</sup> van Erp EA, Luytjes W, Ferwerda G, van Kasteren PB.

Fc-Mediated Antibody Effector Functions During Respiratory Syncytial Virus Infection and Disease. Front Immunol. 2019;10:548. Published 2019 Mar 22. doi:10.3389/fimmu.2019.00548 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00548/full>

con i recettori Fc sulle cellule immunitarie (innate) o con il C1q, la molecola di riconoscimento del sistema del complemento.

Gli isotipi degli anticorpi IgG, IgA e IgM, presentano strutture primarie e attività immunitarie diverse.

La produzione di IgM segnala l'inizio di nuove risposte delle cellule B, mentre le IgA sono centrali nell'immunità della mucosa e le IgG sono l'isotipo dominante nell'immunità antivirale sistemica.<sup>30</sup>

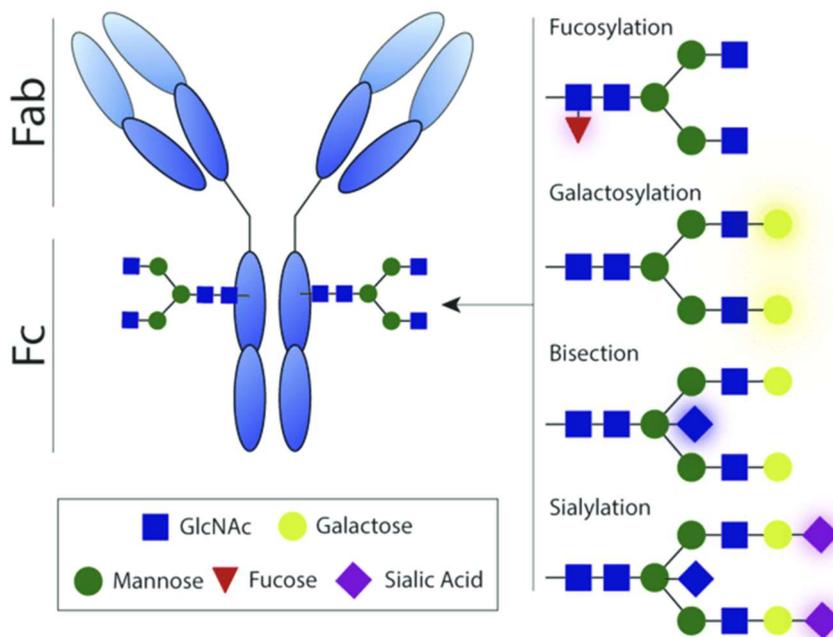
Gli anticorpi IgG mediano le funzioni effettrici grazie alla loro capacità di fare da ponte tra gli antigeni attraverso il dominio Fab e il reclutamento di cellule effettrici mediante le interazioni tra il dominio Fc e FcγR.

Poiché la maggior parte degli FcγR ha una bassa affinità per le IgG monomeriche, si verificano interazioni Fc-FcγR quando si formano complessi immunitari IgG-antigene multivalenti, consentendo così interazioni basate sull'avidità e conferendo specificità \* alla risposta delle cellule effettrici.

**\* Definizioni: legame antigene-anticorpo**

La struttura dei domini Fc contenuti in un dato complesso immunitario determina quali cellule effettrici e FcγR possono essere coinvolti nella formazione del complesso.<sup>31</sup>

La struttura Fc, a sua volta, è determinata da due variabili: la sottoclasse di IgG e la composizione del complesso glicano biantennario presente su tutte le catene pesanti di IgG all'interno del dominio CH2.<sup>32</sup>



<sup>30</sup> <https://www.tesionline.it/appunti/scienze-matematiche,-fisiche-e-naturali/immunologia-cellulare-e-molecolare/272>  
[https://elearning.uniroma1.it/pluginfile.php/826820/mod\\_resource/content/1/Lezione10FunzioniAb.pdf](https://elearning.uniroma1.it/pluginfile.php/826820/mod_resource/content/1/Lezione10FunzioniAb.pdf)  
<https://docplayer.it/15845386-Tecniche-immunologiche.html>

<sup>31</sup> Hamdan TA, Lang PA, Lang KS. The Diverse Functions of the Ubiquitous Fcγ Receptors and Their Unique Constituent, Fcγ<sub>3</sub> Subunit. Pathogens. 2020;9(2):140. Published 2020 Feb 20. doi:10.3390/pathogens9020140 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7168688/>

<sup>32</sup> Seeling M, Brückner C, Nimmerjahn F. Differential antibody glycosylation in autoimmunity: sweet biomarker or modulator of disease activity?. Nat Rev Rheumatol. 2017;13(10):621-630. doi:10.1038/nrrheum.2017.146 <https://www.nature.com/articles/nrrheum.2017.146>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6438959/>

**Glicosilazione degli anticorpi.** Ogni molecola di IgG contiene un sito di glicosilazione che può ospitare una varietà di glicani, costituita da diverse combinazioni di mannosio, N-acetilglucosamina (bisecante), fucosio, galattosio e acido sialico. L'attività dell'effettore anticorpale è sostanzialmente compromessa in assenza di questo glicano. Fab, frammento legante l'antigene; Fc, frammento cristallizzabile; GlcNAc, N-acetilglucosamina.

### Sottoclassi di IgG

Nell'uomo sono presenti quattro sottoclassi di IgG (IgG1-4), con IgG1 e IgG3 con la più alta affinità per gli FcγR di tipo I attivanti (FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIIa).

Al contrario, IgG2 ha la più alta affinità di tutte le sottoclassi per l'FcγR inibitore, FcγRIIb.

L'attività delle diverse sottoclassi di IgG è ulteriormente regolata da modifiche al glicano dell'Fc che spostano l'equilibrio dei recettori Fcγ di tipo I e II.

Complessivamente, la composizione delle sottoclassi di IgG e dei glicani Fc all'interno dei complessi immunitari determina se si attiverà l'attività pro o antinfiammatoria delle cellule effettrici e regola la qualità della risposta immunitaria adattativa contro l'antigene presente nel complesso.<sup>33</sup>

### Glicosilazione

La porzione di zucchero attaccata a ciascuno dei residui di asparagina 297 dei due domini CH2 delle IgG è costituita da una struttura biantennale eptamerica ed è un determinante critico degli effetti pro-infiammatori o anti-infiammatori delle IgG.<sup>34</sup>

<https://www.nature.com/articles/nrrheum.2017.146>

**Effetti della glicosilazione di IgG sul riconoscimento dell'antigene e sulle funzioni degli effettori.** **a** | Strutture schematiche e singoli componenti della porzione di zucchero che possono essere collegati alla variabile IgG o al dominio Fc. I residui di zucchero sono codificati a colori secondo le linee guida fornite dal consorzio per i glicosidi funzionali.<sup>35</sup> La porzione di zucchero viene indicata come IgG – G1F o IgG – G2F, a seconda della presenza di uno o due residui di galattosio. Le frazioni di zucchero senza residui di acido sialico terminale (SA) e galattosio (Gal) sono denominate glicoforme IgG – G0F. La porzione di zucchero completamente trasformata contiene residui di galattosio e acido sialico terminali su entrambi i bracci. **b** | Le frazioni di zucchero attaccate al dominio IgG – Fc sono raramente completamente trattate e possono differire nella composizione all'interno di domini 2 costanti pesanti 2 (CH2) della stessa molecola IgG. Alcune frazioni di zucchero, come fucosio, galattosio e acido sialico sono in grado di influenzare le funzioni effettrici delle IgG. Alcune molecole di IgG sono glicosilate nella regione variabile dell'anticorpo (Fab), a causa della generazione di siti di glicosilazione durante l'ipermutazione somatica. La glicosilazione di Fab può avere implicazioni positive o negative per il legame con l'antigene e l'emivita dell'anticorpo e potrebbe anche avere effetti immunomodulatori. CH, regione costante pesante; CL, regione costante leggera; GlcNAc, N-acetilglucosamina; Man, mannosio; VH, regione variabile pesante; VL, regione variabile leggera

<sup>33</sup> Anthony, R. & Shade, Kai-Ting. (2013).

Antibody Glycosylation and Inflammation.

Antibodies. 2. 392-414. 10.3390/antib2030392.

[https://www.researchgate.net/publication/269632289\\_Antibody\\_Glycosylation\\_and\\_Inflammation](https://www.researchgate.net/publication/269632289_Antibody_Glycosylation_and_Inflammation)

Dekkers G, Treffers L, Plomp R, et al.

Decoding the Human Immunoglobulin G-Glycan Repertoire Reveals a Spectrum of Fc-Receptor- and Complement-Mediated-Effector Activities.

Front Immunol. 2017;8:877. Published 2017 Aug 2. doi:10.3389/fimmu.2017.00877

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5539844/>

<sup>34</sup> Pincetic A, Bournazos S, DiLillo DJ, et al.

Type I and type II Fc receptors regulate innate and adaptive immunity.

Nat Immunol. 2014;15(8):707-716. doi:10.1038/ni.2939

<https://www.nature.com/articles/ni.2939>

Jefferis R.

Isotype and glycoform selection for antibody therapeutics.

Arch Biochem Biophys. 2012;526(2):159-166. doi:10.1016/j.abb.2012.03.021

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22465822/>

Edward B Irvine, Galit Alter,

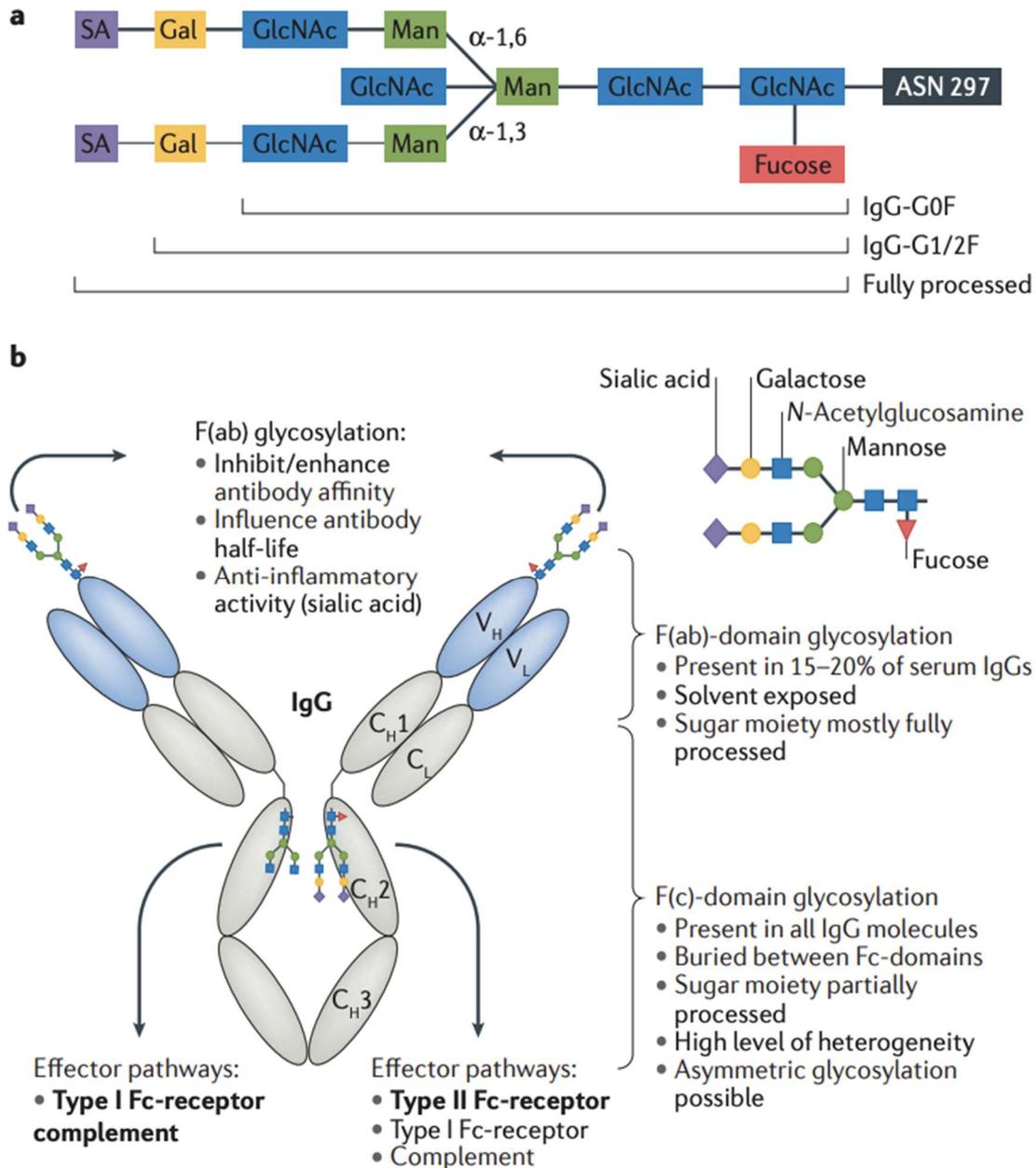
Understanding the role of antibody glycosylation through the lens of severe viral and bacterial diseases,

Glycobiology, Volume 30, Issue 4, April 2020, Pages 241–253, <https://doi.org/10.1093/glycob/cwaa018>

<https://academic.oup.com/glycob/article/30/4/241/5760369>

<sup>35</sup> The Consortium for functional genomics. Symbol and Text Nomenclature for Representation of Glycan Structure.

Functional Genomics Gateway <http://www.functionalglycomics.org/static/consortium/Nomenclature.shtml>



Nonostante l'esistenza di cambiamenti associati all'età nella glicosilazione delle IgG, la notevole abbondanza di diverse glicoforme rimane conservata negli individui senza malattie autoimmuni, consentendo di identificare le deviazioni da questo stato di glicosilazione stabile nei pazienti con malattia autoimmune<sup>36</sup>

<sup>36</sup> Gudelj I, Lauc G, Pezer M. Immunoglobulin G glycosylation in aging and diseases. Cell Immunol. 2018;333:65-79. doi:10.1016/j.cellimm.2018.07.009 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008874918303253?via%3Dihub>

Maverakis E, Kim K, Shimoda M, et al. Glycans in the immune system and The Altered Glycan Theory of Autoimmunity: a critical review. J Autoimmun. 2015;57:1-13. doi:10.1016/j.jaut.2014.12.002 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4340844/>

Variances in antibody glycan composition.

	Glycan Modification	Reference
Rheumatoid Arthritis	Decreased N-linked galactosylation and sialylation of IgG Decreased N-linked galactosylation and terminal sialylation of ACPA IgG1 Increased fucosylation of ACPA-IgG1	[109,110]
IgA Nephropathy	Decreased terminal O-linked galactosylation on the hinge region of IgA1 heavy chains	[111–114]
Gastric Cancer	Decreased galactosylation and sialylation of IgG	[60]
Henoch-Schonlein Purpura	Decreased galactosylation and sialylation of IgA1	[111]
HIV	Decreased galactosylation, sialylation, and fucosylation in HIV-specific antibodies associated with enhanced Fc-mediated reduction of viral replication and enhanced Fc receptor binding	[51]
Influenza and Tetanus Vaccination	Increased galactosylation and sialylation of anti-vaccine IgG Increased number of sialic acid per glucose during vaccination	[61]
Lambert-Eaton Syndrome	Decreased IgG1 bisecting N-acetylglucosamine Decreased galactosylation of IgG1 and IgG2	[59]
ANCA Vasculitis	Increased levels of bisecting N-acetylglucosamine on IgG1 and IgG2 in patients less than 50 years old Decreased galactosylation of IgG Decreased sialylation of IgG Fab'2	[56,115]
Myasthenia Gravis	Decreased galactosylation of IgG2	[59]
Ovarian Cancer	Increased agalactosylated biantennary glycans on IgG heavy chains	[58]
PR3-ANCA Vasculitis	Decreased N-glycan 2,6-linked sialylation Decreased galactosylation of IgG	[56,116]
Sjogren's Syndrome	Decreased sialylation of IgG	[117]

ACPA: anti-citrullinated protein antibodies; Ig: immunoglobulin; MPO: myeloperoxidase; PR3: anti-proteinase 3.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896841114001759>

### La sializzazione

Per il contenimento delle risposte infiammatorie è necessaria una segnalazione bilanciata attraverso gli FcγR di tipo I e di tipo II. Questo equilibrio viene raggiunto, in parte, attraverso la sializzazione regolata dei glicani dell'Fc, fattore determinante per il legame con gli FcγR di tipo II.

La **sializzazione** di Fc ha l'effetto di ridurre l'associazione a FcγR di tipo I, consentendo al contempo il coinvolgimento degli FcγR di tipo II.

L'aumentata segnalazione di FcγR di tipo II dovuta alla presenza di glicani sializzati degli Fc può indurre una potente attività antinfiammatoria.

*Un esempio classico è quello osservato con la somministrazione di immunoglobuline endovenose ad alte dosi (IVIG) durante malattie infiammatorie acute come la trombocitopenia immunitaria, la malattia di Kawasaki, la polineuropatia demielinizzante infiammatoria cronica e la sindrome di Guillain-Barrè.*

*L'IVIG è un aggregato di IgG da migliaia di donatori e la sua attività antinfiammatoria è mediata dal sottogruppo minore di IgG che contiene Fc sializzati <sup>37</sup>.*

Special issue: The role of glycans in immunology

Edited by Brian Cobb, Mark Jones

Cellular Immunology Volume 333, Pages 1-92 (November 2018)

<https://www.sciencedirect.com/journal/cellular-immunology/vol/333/suppl/C>

Biermann MH, Griffante G, Podolska MJ, et al.

Sweet but dangerous - the role of immunoglobulin G glycosylation in autoimmunity and inflammation.

Lupus. 2016;25(8):934-942. doi:10.1177/0961203316640368

<https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0961203316640368>

Alter G, Ottenhoff THM, Joosten SA.

Antibody glycosylation in inflammation, disease and vaccination.

Semin Immunol. 2018;39:102-110. doi:10.1016/j.smim.2018.05.003

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S104453231830006X?via%3Dihub>

Dennis JW, Nabi IR, Demetriou M.

Metabolism, cell surface organization, and disease.

Cell. 2009;139(7):1229-1241. doi:10.1016/j.cell.2009.12.008

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3065826/>

<sup>37</sup> Kaneko Y, Nimmerjahn F, Ravetch JV.

Anti-inflammatory activity of immunoglobulin G resulting from Fc sialylation.

Science. 2006;313(5787):670-673. doi:10.1126/science.1129594

[https://www.researchgate.net/publication/6898979\\_Anti-Inflammatory\\_Activity\\_of\\_Immunoglobulin\\_G\\_Resulting\\_from\\_Fc\\_Sialylation](https://www.researchgate.net/publication/6898979_Anti-Inflammatory_Activity_of_Immunoglobulin_G_Resulting_from_Fc_Sialylation)

***L'attività antinfiammatoria delle IVIG può quindi essere potenziata aumentando l'abbondanza di Fc sializzati all'interno del pool di IgG.*** <sup>38</sup>

Un altro meccanismo con cui i glicoforni IgG di Fc agiscono nella regolazione omeostatica dell'infiammazione coinvolge l'FcγR di tipo I, FcγRIIIa.

Questo recettore attivante è espresso sulle cellule NK e sottogruppi di monociti e macrofagi dove media attività che comprendono la citotossicità cellulare, l'attivazione di cellule effettrici, e la produzione di citochine infiammatorie <sup>39</sup>.

L'attività disregolata di FcγRIIIa è associata a sequele patologiche come malattie alloanticorpo-mediate nei neonati <sup>40</sup> e la progressione verso la malattia grave e la patologia autoimmune durante l'infezione da Dengue.

**La Fucosilazione e il COVID-19**

Un meccanismo critico per controllare la segnalazione mediata da FcγRIIIa in vivo è attraverso la regolazione della fucosilazione del glicano di Fc. <sup>41</sup>

<sup>38</sup> Washburn N, Schwab I, Ortiz D, et al.

Controlled tetra-Fc sialylation of IVIg results in a drug candidate with consistent enhanced anti-inflammatory activity [published correction appears in Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Aug 4;112(31):E4339]. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015;112(11):E1297-E1306. doi:10.1073/pnas.1422481112  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4371931/>

<sup>39</sup> Bournazos S, Wang TT, Ravetch JV.

The Role and Function of Fcγ Receptors on Myeloid Cells. Microbiol Spectr. 2016;4(6):10.1128/microbiolspec.MCHD-0045-2016. doi:10.1128/microbiolspec.MCHD-0045-2016  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5240797/>

Pincetic A, Bournazos S, DiLillo DJ, et al.

Type I and type II Fc receptors regulate innate and adaptive immunity. Nat Immunol. 2014;15(8):707-716. doi:10.1038/ni.2939  
<https://www.nature.com/articles/ni.2939>

<sup>40</sup>Wuhrer M, Porcelijn L, Kapur R, et al.

Regulated glycosylation patterns of IgG during alloimmune responses against human platelet antigens. J Proteome Res. 2009;8(2):450-456. doi:10.1021/pr800651j  
[https://pure.uva.nl/ws/files/2248622/136391\\_07.pdf](https://pure.uva.nl/ws/files/2248622/136391_07.pdf)

<sup>41</sup> IgG Fc Glycosylation in Human Immunity

Taia T. Wang  
<https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5041751/course/section/5962982/IgG%20Fc%20Glycosylation%20in%20Human%20Immunity.pdf>  
 Current Topics in Microbiology and Immunology  
[https://doi.org/10.1007/82\\_2019\\_152](https://doi.org/10.1007/82_2019_152) © Springer Nature Switzerland AG 2019  
 Fc Mediated Activity of Antibodies  
 Structural and Functional Diversity  
<https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-030-31053-0>

Peipp M, Lammerts van Bueren JJ, Schneider-Merck T, et al.

Antibody fucosylation differentially impacts cytotoxicity mediated by NK and PMN effector cells. Blood. 2008;112(6):2390-2399. doi:10.1182/blood-2008-03-144600  
[https://www.dialogoroche.com/content/dam/CAC/Documents/biotecnologicos/June\\_2017/Antibody\\_fucosylation\\_differentially\\_impacts\\_cytotoxicity\\_mediated\\_by\\_NK\\_and\\_PMN\\_effector\\_cells.pdf](https://www.dialogoroche.com/content/dam/CAC/Documents/biotecnologicos/June_2017/Antibody_fucosylation_differentially_impacts_cytotoxicity_mediated_by_NK_and_PMN_effector_cells.pdf)

Bruggeman CW, Dekkers G, Bentlage AEH, et al.

Enhanced Effector Functions Due to Antibody Defucosylation Depend on the Effector Cell Fcγ Receptor Profile. J Immunol. 2017;199(1):204-211. doi:10.4049/jimmunol.1700116  
<https://www.jimmunol.org/content/199/1/204.long>

Seeling M, Brückner C, Nimmerjahn F.

Differential antibody glycosylation in autoimmunity: sweet biomarker or modulator of disease activity? Nat Rev Rheumatol. 2017;13(10):621-630. doi:10.1038/nrrheum.2017.146  
<https://www.nature.com/articles/nrrheum.2017.146>

Negli adulti sani, i glicani Fc afucosilati delle IgG1 si trovano quasi sempre a livelli <10% di tutti i glicoforni, ma possono raggiungere > 20% in alcuni individui.

Durante le infezioni acute da Dengue, l'afucosilazione di IgG1 è elevata e può avvicinarsi al 30% in alcuni soggetti con malattia grave.

42

In un recente studio preprint<sup>43</sup> è stata studiata la struttura delle Fc delle IgG nei pazienti adulti con diagnosi di COVID-19 e nei bambini asintomatici sieropositivi per SARS-Cov-2, ed è stato riscontrato che i pazienti con COVID-19 avevano titoli sierici significativamente più alti di anticorpi IgM, IgA e IgG anti-RBD (recettore del dominio di legame della proteina Spike del SARS-Cov-2) rispetto ai bambini sieropositivi.

Le IgG1 Anti-RBD dei pazienti con COVID-19 erano significativamente ridotte in glicosilazione rispetto alle IgG1 totali di 18 controlli adulti sani, ed erano meno fucosilate all'Fc rispetto all'IgG1 RBD dei bambini.

**La ridotta fucosilazione era l'unica modifica del glicano che distingueva gli anticorpi provenienti da pazienti COVID-19 e bambini sieropositivi.**

Mads Delbo Larsen et al, nel loro articolo *"Afucosylated immunoglobulin G responses are a hallmark of enveloped virus infections and show an exacerbated phenotype in COVID-19"*<sup>44</sup> hanno proposto un modello ipotetico rappresentato nella figura seguente per spiegare in che modo l'antigene può portare ad un'alterata segnalazione immunitaria, dando origine ad una glicosilazione delle IgG alterata.

- A) Risposta immunitaria all'antigene proteico solubile: il recettore delle cellule B (BCR, un'immunoglobulina di membrana) viene attivato, con conseguente produzione di normali anticorpi fucosilati. (triangolo rosso: fucosio)
- B) Risposta immunitaria agli allo-antigeni: l'allo-antigene paterno su un globulo rosso (RBC) riconosciuto dal BCR, e probabilmente da una coppia regolatoria immunitaria di recettore-ligando ancora sconosciuta, fornisce un segnale per il self.
- C) **Risposta immunitaria all'infezione con virus con involucro: il riconoscimento delle cellule infettate dal virus da parte delle cellule B è simile a quello del riconoscimento cellulare con alloantigene.**

Il riconoscimento iniziale si verifica verso le cellule infette e dopo l'assemblaggio virale (estrema destra). La segnalazione proposta in b-c) provoca un'alterata glicoprogrammazione delle cellule B che culmina in una risposta IgG unica caratterizzata da una bassa fucosilazione e il potenziamento dell'ADCC.

<sup>42</sup> Wang TT, Sewatanon J, Memoli MJ, et al.

IgG antibodies to dengue enhanced for FcγRIIIA binding determine disease severity. *Science*. 2017;355(6323):395-398. doi:10.1126/science.aai8128  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5557095/>

<sup>43</sup>Maverakis E, Kim K, Shimoda M, et al.

Glycans in the immune system and The Altered Glycan Theory of Autoimmunity: a critical review. *Autoimmun*. 2015;57:1-13. doi:10.1016/j.jaut.2014.12.002  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4340844/>

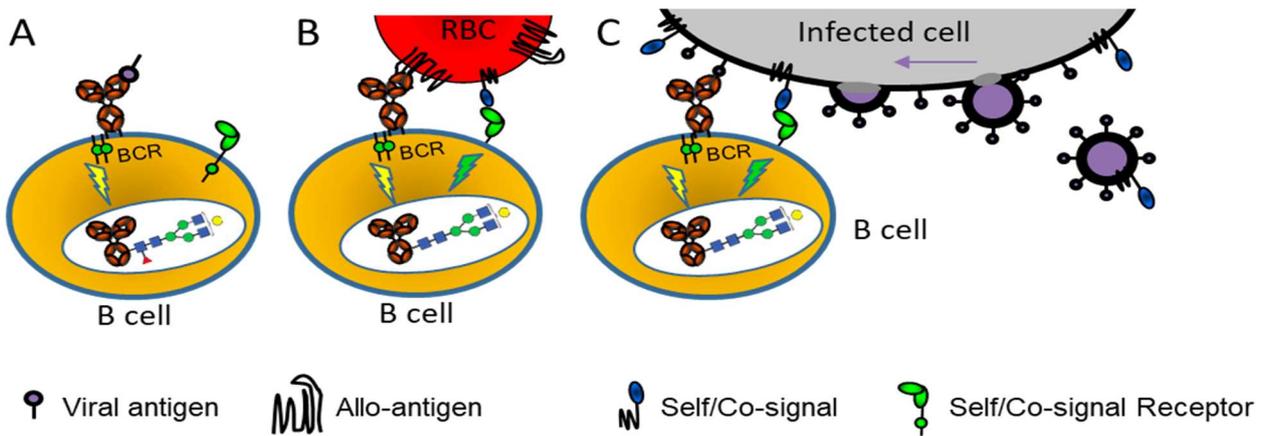
Chakraborty S, Edwards K, Buzzanco AS, et al.

Symptomatic SARS-CoV-2 infections display specific IgG Fc structures. Preprint. medRxiv. 2020;2020.05.15.20103341. Published 2020 May 18. doi:10.1101/2020.05.15.20103341  
<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.05.15.20103341v1.full.pdf>

<sup>44</sup>Larsen et al. (2020).

Afucosylated immunoglobulin G responses are a hallmark of enveloped virus infections and show an exacerbated phenotype in COVID-19. 10.1101/2020.05.18.099507.  
<https://www.biorxiv.org/content/biorxiv/early/2020/05/18/2020.05.18.099507.full.pdf>

Il modello spiega perché la risposta immunitaria alle proteine solubili, i virus nudi e i patogeni cellulari come i batteri è diversa dalle risposte ai virus con involucro e perché le risposte immunitarie agli allo-antigeni imitano quelle di un'infezione da virus con involucro.



Nel caso dei pazienti COVID-19 è stato riscontrato che le IgG contro la proteina S di pazienti con sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS) ricoverati in unità di terapia intensiva erano fucosilate in maniera **significativamente inferiore** rispetto a quelle dei donatori di plasma convalescente provenienti da soggetti asintomatici o con sintomi lievi relativi (non ARDS).

Questi dati quindi suggeriscono che l'afucosilazione può contribuire all'esacerbazione della malattia e alla tempesta di citochine.

Per quanto riguarda i trattamenti con plasma iperimmune, è importante tenere presente che sarebbe opportuno arricchirlo con anticorpi anti-SARS-Cov-2 fucosilati, in modo da promuovere la neutralizzazione virale e competere con gli anticorpi afucosilati contro il SARS-Cov-2

## Anticorpi IgA

Numerosi studi hanno valutato i titoli dei vari isotipi di anticorpi nei pazienti con coronavirus e Covid-19.<sup>45</sup> Di seguito si riporteranno i risultati di due ricerche approfondite.<sup>46</sup>

Il dato che risulta confermato in entrambe è che i livelli relativi di IgA e IgG sono marcatamente più alti nei pazienti gravi rispetto ai pazienti non gravi.

In ulteriori analisi di sottogruppi, è stata trovata un'associazione positiva significativa dei livelli di IgA specifiche per la proteina S di SARS-CoV-2 e il punteggio APACHE-II<sup>47</sup> in pazienti critici con COVID-19 ( $r = 0,72$ ,  $P = 0,01$ ), mentre il livello delle IgG e le IgM specifiche non hanno mostrato correlazioni con la gravità della malattia.

<sup>45</sup> To KK, Tsang OT, Leung WS, et al.

Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study.

Lancet Infect Dis. 2020;20(5):565-574. doi:10.1016/S1473-3099(20)30196-1

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7158907/>

Ni L, Ye F, Cheng ML, et al.

Detection of SARS-CoV-2-Specific Humoral and Cellular Immunity in COVID-19 Convalescent Individuals.

Immunity. 2020;52(6):971-977.e3. doi:10.1016/j.immuni.2020.04.023

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7196424/>

Randad PR, Pisanic N, Kruczynski K, et al.

COVID-19 serology at population scale: SARS-CoV-2-specific antibody responses in saliva.

Preprint. medRxiv. 2020;2020.05.24.20112300. Published 2020 May 26. doi:10.1101/2020.05.24.20112300

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7273305/>

Suhandynata RT, Hoffman MA, Kelner MJ, McLawhon RW, Reed SL, Fitzgerald RL.

Longitudinal Monitoring of SARS-CoV-2 IgM and IgG Seropositivity to Detect COVID-19

[published online ahead of print, 2020 May 19]. J Appl Lab Med. 2020;jfaa079. doi:10.1093/jalm/jfaa079

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32428207/>

Dogan M, Kozhaya L, Placek L, et al.

Novel SARS-CoV-2 specific antibody and neutralization assays reveal wide range of humoral immune response during COVID-19.

Preprint. medRxiv. 2020;2020.07.07.20148106. Published 2020 Jul 8. doi:10.1101/2020.07.07.20148106

<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.07.07.20148106v1.full.pdf>

Yongchen Z, Shen H, Wang X, et al.

Different longitudinal patterns of nucleic acid and serology testing results based on disease severity of COVID-19 patients.

Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):833-836. doi:10.1080/22221751.2020.1756699

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32306864/>

<sup>46</sup> Yu HQ, Sun BQ, Fang ZF, et al.

Distinct features of SARS-CoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients

[published online ahead of print, 2020 Jun 8]. Eur Respir J. 2020;2001526. doi:10.1183/13993003.01526-2020

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7236821/>

Systemic and mucosal antibody secretion specific to SARS-CoV-2 during mild versus severe COVID-19

Carlo Cervia et al

bioRxiv 2020.05.21.108308; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.21.108308>

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.05.21.108308v1>

<sup>47</sup> Scala di valutazione APACHE II\* (Acute Physiologic Assessment and Chronic Health Evaluation II)

<https://www.msmanuals.com/professional/critical-care-medicine/approach-to-the-critically-ill-patient/critical-care-scoring-systems>

[https://it.iliveok.com/health/valutare-la-gravita-delle-condizioni-del-paziente-e-predire-il-risultato\\_105699i15958.html](https://it.iliveok.com/health/valutare-la-gravita-delle-condizioni-del-paziente-e-predire-il-risultato_105699i15958.html)

Nei casi gravi di COVID-19, i titoli di IgA e IgG sierici specifici per la proteina S sono diventati positivi in campioni ottenuti in media 3-5 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi, in accordo con pubblicazioni precedenti.<sup>48</sup>

Le risposte anticorpali hanno mostrato una forte correlazione con la durata della malattia, ma erano indipendenti dall'età del paziente, dal sesso e dalle co-morbilità preesistenti.

È significativo il fatto che titoli sierici molto elevati di IgA specifiche della proteina S, ma non di IgG, erano correlati con l'ARDS grave, giustificando così ulteriori studi per valutare il ruolo di IgA nell'ARDS grave associato a SARS-CoV-2.

Al contrario, in casi lievi di infezione, la produzione di IgA sierica specifica per la proteina S è stata transitoria, ritardata o addirittura assente, accompagnata da una risposta IgG sierica specifica avvenuta in ritardo o che è rimasta negativa.

I livelli di IgA specifici della mucosa (campioni provenienti da lacrime, saliva e secrezione nasale) erano rilevabili in diversi siti in circa il 15-20% di individui sieronegativi.

È stato riscontrato che i livelli di IgA specifici della mucosa erano correlati inversamente con l'età del paziente. Come virus mirato alla mucosa, il SARS-CoV-2 dovrebbe generare IgA secretorie (sIgA) e indurre una forte immunità della mucosa.

In effetti, l'immunità antivirale della mucosa ha dimostrato di derivare in parte dalle interazioni mediate dalle IgA con i microrganismi patogeni per impedire ai patogeni di aderire alla superficie cellulare<sup>49</sup>.

Tuttavia, nuovi studi hanno anche scoperto che le sIgA sono in grado di indurre la produzione di IL-6, IL-8, la proteina chemoattrattante monocita (MCP) -1 e la produzione del fattore stimolante le colonie di granulociti-macrofagi (GM-CSF) da parte dei normali fibroblasti polmonari umani (NHLF)<sup>50</sup>.

Si ritiene inoltre che le sIgA possano avere effetti sinergici con le IgG nel promuovere la citotossicità cellulare anticorpale (ADCC)<sup>51</sup>.

Contrariamente alle IgA della mucosa, il ruolo delle IgA sieriche è stato poco esplorato.

Precedenti studi hanno dimostrato che le IgA mediano gli effetti pro o antinfiammatori nelle cellule immunitarie innate e hanno suggerito un ruolo plausibile delle IgA come attivatore delle malattie autoimmuni e regolatore dell'iperattivazione immunitaria<sup>52</sup>.

<sup>48</sup> To KK, Tsang OT, Leung WS, et al.

Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study.

Lancet Infect Dis. 2020;20(5):565-574. doi:10.1016/S1473-3099(20)30196-1

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7158907/>

<sup>49</sup> Corthésy B.

Role of secretory IgA in infection and maintenance of homeostasis.

Autoimmun Rev. 2013;12(6):661-665. doi:10.1016/j.autrev.2012.10.012

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23201924/>

<sup>50</sup> Arakawa S, Suzukawa M, Watanabe K, et al.

Secretory immunoglobulin A induces human lung fibroblasts to produce inflammatory cytokines and undergo activation.

Clin Exp Immunol. 2019;195(3):287-301. doi:10.1111/cei.13253

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6378381/>

<sup>51</sup> Shen L, Fanger MW.

Secretory IgA antibodies synergize with IgG in promoting ADCC by human polymorphonuclear cells, monocytes, and lymphocytes.

Cell Immunol. 1981;59(1):75-81. doi:10.1016/0008-8749(81)90435-4

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7214546/>

<sup>52</sup> Olas K, Butterweck H, Teschner W, Schwarz HP, Reipert B.

Immunomodulatory properties of human serum immunoglobulin A: anti-inflammatory and pro-inflammatory activities in human monocytes and peripheral blood mononuclear cells.

Clin Exp Immunol. 2005;140(3):478-490. doi:10.1111/j.1365-2249.2005.02779.x

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1809399/>

È stato suggerito che il legame del monomero delle IgA sieriche al recettore alfa Fc (Fc $\alpha$ RI) medi la funzione inibitoria in varie cellule mieloidi<sup>53</sup>.

Al contrario, la reticolazione di Fc $\alpha$ RI da parte di IgA e patogeni è in grado di trasmettere segnali di attivazione che portano a fagocitosi, scoppio respiratorio (respiratory burst o esplosione ossidativa), ADCC, aumento della presentazione dell'antigene, degranolazione e rilascio di citochine<sup>54</sup>.

E' stato inoltre dimostrato che le citochine, tra cui il fattore di crescita trasformante beta (TGF- $\beta$ ) e IL-10, possono indurre la commutazione dell'isotipo di anticorpo<sup>55</sup>.

La produzione di IgA non regolata può essere il risultato di un aumento dei livelli di TGF- $\beta$  e IL-10 che promuovono la commutazione degli anticorpi nell'infezione SARS-CoV-2.

Sulla base del ruolo delle mucose e delle IgA sistemiche nel COVID-19, è stata proposta come nuova terapia per i casi gravi l'induzione della produzione di IgA, ad es. con l'utilizzo di **lattoferrina** per attivare la segnalazione canonica di TGF- $\beta$ <sup>56</sup> o con **acido retinoico** per potenziare le risposte di IgA indotte da lattoferrina<sup>57</sup>.

Tuttavia, l'aumento delle risposte alle IgA osservate nel COVID-19 grave potrebbe potenziare gli effetti dannosi e gli autori dello studio "*Distinct features of SARS-CoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients*"<sup>58</sup> ipotizzano che il COVID-19 grave potrebbe essere almeno in parte una malattia mediata da IgA (correlata alla deposizione di IgA e alla vasculite), che potrebbe spiegare le lesioni nel COVID-19 agli organi, ad es. l'embolia polmonare acuta, il danno renale, ecc.<sup>59</sup>.

Gli autori dello studio "*Systemic and mucosal antibody secretion specific to SARS-CoV-2 during mild versus severe COVID-19*"<sup>60</sup> suggeriscono un modello in cui l'estensione e la durata dei sintomi clinici correlati al SARS-

<sup>53</sup> Oortwijn BD, Roos A, van der Boog PJ, et al.

Monomeric and polymeric IgA show a similar association with the myeloid Fc $\alpha$ RI/CD89.

Mol Immunol. 2007;44(5):966-973. doi:10.1016/j.molimm.2006.03.014

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16675016/>

<sup>54</sup> Leong KW, Ding JL.

The unexplored roles of human serum IgA.

DNA Cell Biol. 2014;33(12):823-829. doi:10.1089/dna.2014.2639

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4248255/>

<sup>55</sup> Dullaers M, Li D, Xue Y, et al.

A T cell-dependent mechanism for the induction of human mucosal homing immunoglobulin A-secreting plasmablasts.

Immunity. 2009;30(1):120-129. doi:10.1016/j.immuni.2008.11.008

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2659635/>

<sup>56</sup> Jang YS, Seo GY, Lee JM, et al.

Lactoferrin causes IgA and IgG2b isotype switching through betaglycan binding and activation of canonical TGF- $\beta$  signaling.

Mucosal Immunol. 2015;8(4):906-917. doi:10.1038/mi.2014.121

<https://www.nature.com/articles/mi2014121>

<sup>57</sup> Lee JM, Jang YS, Jin BR, et al.

Retinoic acid enhances lactoferrin-induced IgA responses by increasing betaglycan expression.

Cell Mol Immunol. 2016;13(6):862-870. doi:10.1038/cmi.2015.73

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5101447/>

<sup>58</sup> Yu HQ, Sun BQ, Fang ZF, et al.

Distinct features of SARS-CoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients

[published online ahead of print, 2020 Jun 8]. Eur Respir J. 2020;2001526. doi:10.1183/13993003.01526-2020

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7236821/>

<sup>59</sup> Danzi GB, Loffi M, Galeazzi G, Gherbesi E. Acute pulmonary embolism and COVID-19 pneumonia: a random association? Eur Heart J. 2020;41(19):1858.

doi:10.1093/eurheartj/ehaa254

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7184406/>

<sup>60</sup> Systemic and mucosal antibody secretion specific to SARS-CoV-2 during mild versus severe COVID-19

Carlo Cervia et al

bioRxiv 2020.05.21.108308; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.21.108308>

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.05.21.108308v1.full.pdf>

CoV-2, probabilmente correlati con la replicazione del virus, determinano il livello di immunità umorale specifica del virus.

Questa ipotesi è coerente con precedenti pubblicazioni che dimostrano che l'entità della risposta umorale verso SARS-CoV-2 dipende dalla durata e dall'entità dell'esposizione virale all'antigene.<sup>61</sup>

Una bassa esposizione all'antigene susciterà risposte mediate dalle IgA delle mucose, accompagnate dalla produzione sistemica di IgA che può anche essere assente, transitoria o ritardata. Questo tipo di risposta anticorpale "IgA della mucosa" sembra essere particolarmente diffusa nei soggetti più giovani con infezione da SARS-CoV-2 lieve senza evidenza di danno polmonare.

Estrapolando questo modello nella fascia di età pediatrica, è plausibile che i bambini abbiano innescato la risposta innata della mucosa e degli anticorpi IgA a causa delle frequenti infezioni del tratto respiratorio superiore e rispondano preferibilmente in questo modo all'infezione da SARS-CoV-2. Questa ipotesi potrebbe anche spiegare perché i bambini raramente presentano un'infezione sintomatica da SARS-CoV-2.

Guardando l'altra estremità dello spettro dell'età, studi precedenti hanno dimostrato che la cinetica e la forza delle risposte immunitarie antivirali, inclusa l'attivazione e la proliferazione delle cellule T, diventano più lente con l'aumentare dell'età.<sup>62</sup>

Con un aumento dei sintomi clinici correlati al SARS-CoV-2, e quindi all'esposizione all'antigene, è stata osservata una risposta anticorpale di tipo "IgA e IgG sistemica", caratterizzata da IgA specifiche per la proteina S transitorie o ritardate e la presenza delle IgG specifiche per la proteina S.

Con un ulteriore aumento della gravità clinica, le IgA sieriche sono da alte a molto alte e le risposte IgG sono elevate in casi gravi e ARDS.

Pertanto, gli autori suggeriscono quattro gradi di risposte anticorpali dipendenti dalla gravità di COVID-19:

1. malattia oligosintomatica e risposte anticorpali della mucosa in assenza di produzione di anticorpi sistemici,
2. malattia da lieve a moderata e produzione di IgG e IgA sistemiche transitoria o ritardata,
3. casi gravi con elevate IgA sieriche e alte risposte di IgG e
4. casi molto gravi, inclusi ARDS gravi, con IgA sieriche molto alte e titoli elevati di IgG.

<sup>61</sup> Liu Y, Yan LM, Wan L, et al.

Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19.

Lancet Infect Dis. 2020;20(6):656-657. doi:10.1016/S1473-3099(20)30232-2

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7158902/>

Zhou F, Yu T, Du R, et al.

Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study

[published correction appears in Lancet. 2020 Mar 28;395(10229):1038] [published correction appears in Lancet. 2020 Mar 28;395(10229):1038]. Lancet. 2020;395(10229):1054-1062. doi:10.1016/S0140-6736(20)30566-3

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7270627/>

<sup>62</sup> van Deursen JM.

The role of senescent cells in ageing.

Nature. 2014;509(7501):439-446. doi:10.1038/nature13193

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4214092/>

Goronzy JJ, Weyand CM.

Successful and Maladaptive T Cell Aging.

Immunity. 2017;46(3):364-378. doi:10.1016/j.immuni.2017.03.010

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5433436/>

Se queste risposte anticorpali specifiche per le proteine S conferiscano l'immunità a un'infezione secondaria con SARS-CoV-2 è tuttora una questione di intenso dibattito non ancora risolto.

L'accuratezza diagnostica del test sierologico per il SARS-Cov-2 <sup>63</sup> sarà approfondita nel capitolo dedicato ai test, tuttavia vale la pena riportare un estratto dell'esito della revisione pubblicata recentemente del Cochrane "Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2" <sup>64</sup>:

*"La sensibilità dei test anticorpali è troppo bassa nella prima settimana dall'esordio dei sintomi per avere un ruolo primario nella diagnosi di COVID-19, ma possono comunque avere un ruolo complementare ad altri test negli individui che si presentano in seguito, quando i test RT-PCR sono negativi o non sono fatti.*

*È probabile che i test anticorpali abbiano un ruolo utile per rilevare la precedente infezione da SARS-CoV-2 se usato 15 o più giorni dopo l'insorgenza dei sintomi.*

*Tuttavia, la durata dell'aumento degli anticorpi è attualmente sconosciuta e abbiamo trovato pochissimi dati oltre 35 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi.*

*Pertanto, non siamo sicuri dell'utilità di questi test per le indagini sulla sieroprevalenza ai fini della gestione della salute pubblica.*

*Le preoccupazioni relative all'elevato rischio di parzialità e applicabilità rendono probabile che l'accuratezza dei test quando utilizzati nelle cure cliniche sarà inferiore rispetto a quanto riportato negli studi inclusi.*

*La sensibilità è stata principalmente valutata in pazienti ospedalizzati, quindi non è chiaro se i test siano in grado di rilevare livelli di anticorpi più bassi probabilmente osservabili con la malattia più lieve e asintomatica di COVID-19.*

*La progettazione, l'esecuzione e la comunicazione di studi sull'accuratezza dei test COVID-19 richiedono un notevole miglioramento"*

## Anticorpi IgE

L'infezione da coronavirus (indipendentemente dai vari tipi di coronavirus) viene attaccata principalmente dalle cellule immunitarie compresi i mastociti (MC), che si trovano nella sottomucosa delle vie respiratorie e nella cavità nasale e rappresentano una barriera di protezione contro i microrganismi.

Il virus attiva gli MC che rilasciano i primi composti chimici infiammatori tra cui istamina e proteasi, mentre l'attivazione tardiva provoca la generazione di membri della famiglia IL-1 pro-infiammatori tra cui IL-1 e IL-33.

<sup>63</sup> Lisboa Bastos M, Tavaziva G, Abidi SK, et al. Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis. BMJ. 2020;370:m2516. Published 2020 Jul 1. doi:10.1136/bmj.m2516 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32611558/>

Infantino M, Damiani A, Gobbi FL, et al. Serological Assays for SARS-CoV-2 Infectious Disease: Benefits, Limitations and Perspectives. Isr Med Assoc J. 2020;22(4):203-210. <https://www.ima.org.il/FilesUploadPublic/IMAJ/0/423/211570.pdf>

<sup>64</sup> Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. Cochrane Database Syst Rev. 2020;6:CD013652. Published 2020 Jun 25. doi:10.1002/14651858.CD013652 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32584464/>

Gli MC sono responsabili principalmente delle reazioni allergiche, ma partecipano anche nell'inflammatione e nella difesa dell'organismo contro gli elminti e le infezioni batteriche e virali.<sup>65</sup>

### **Mastociti, basofili ed eosinofili**

*I mastociti sono cellule residenti nei tessuti e sono coinvolti principalmente nell'ipersensibilità immediata e l'anafilassi, tuttavia nuove evidenze supportano il loro contributo in un'ampia varietà di malattie.*

*I basofili sono in gran parte cellule circolanti, mentre gli eosinofili sono residenti nel tratto gastrointestinale ma possono entrambi risiedere anche in aree di inflammatione allergica durante la risposta della fase avanzata.*<sup>66</sup>

#### APPROFONDIMENTO

[Ipersensibilità](#)

[Immunopatologia](#)

[Pathophysiology of Allergic Reactions](#)

### **I mastociti**

Gli MC possono essere attivati classicamente dalle IgE e da antigeni allergenici specifici, ma anche da batteri e virus. Gli MC normalmente esprimono sulla loro superficie un gran numero di recettori per le IgE ad alta affinità, **FcεRI**.

Durante le risposte immunitarie IgE-dipendenti, il cross-linking di IgE antigene-specifiche ad FcεRI induce l'aggregazione di FcεRI, promuovendo l'attivazione di eventi di segnalazione a valle che portano alla secrezione di prodotti biologicamente attivi implicati nelle reazioni allergiche.<sup>67</sup>

<sup>65</sup> Kritas SK, Ronconi G, Caraffa A, Gallenga CE, Ross R, Conti P.

Mast cells contribute to coronavirus-induced inflammation: new anti-inflammatory strategy. J Biol Regul Homeost Agents. 2020 January-February, 34(1):9-14. doi: 10.23812/20-Editorial-Kritas. PMID: 32013309. [https://www.researchgate.net/publication/339066959\\_Mast\\_cells\\_contribute\\_to\\_coronavirus-induced\\_inflammation\\_New\\_anti-inflammatory\\_strategy](https://www.researchgate.net/publication/339066959_Mast_cells_contribute_to_coronavirus-induced_inflammation_New_anti-inflammatory_strategy)

<sup>66</sup> Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD.

IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. J Allergy Clin Immunol. 2010;125(2 Suppl 2):S73-S80. doi:10.1016/j.jaci.2009.11.017 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2847274/pdf/nihms-179520.pdf>

Hellman LT, Akula S, Thorpe M, Fu Z.

Tracing the Origins of IgE, Mast Cells, and Allergies by Studies of Wild Animals. Front Immunol. 2017;8:1749. Published 2017 Dec 19. doi:10.3389/fimmu.2017.01749 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5742104/>

Metcalfe DD, Pawankar R, Ackerman SJ, et al.

Biomarkers of the involvement of mast cells, basophils and eosinophils in asthma and allergic diseases. World Allergy Organ J. 2016;9:7. Published 2016 Feb 11. doi:10.1186/s40413-016-0094-3 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4751725/>

<sup>67</sup> Galli SJ, Kalesnikoff J, Grimbaldeston MA, Piliponsky AM, Williams CM, Tsai M.

Mast cells as "tunable" effector and immunoregulatory cells: recent advances. Annu Rev Immunol. 2005;23:749-86. doi: 10.1146/annurev.immunol.21.120601.141025. PMID: 15771585.

Reber LL, Sibilano R, Mukai K, Galli SJ.

Potential effector and immunoregulatory functions of mast cells in mucosal immunity. Mucosal Immunol. 2015;8(3):444-463. doi:10.1038/mi.2014.131 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4739802/>

Galli SJ, Borregaard N, Wynn TA.

Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: macrophages, mast cells and neutrophils. Nat Immunol. 2011;12(11):1035-1044. Published 2011 Oct 19. doi:10.1038/ni.2109 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3412172/>

Gli MC attivati rilasciano immediatamente mediatori chimici e/o la produzione tardiva di proteine pro-infiammatorie come citochine e chemochine.

In particolare, gli MC attivati da virus possono provocare il rilascio, dopo pochi secondi, di mediatori chimici immagazzinati come istamina, triptasi e chimesi, mentre dopo ore di incubazione, secernono citochine infiammatorie sintetizzate de novo tra cui IL-6, IL-1, IL-31, IL-33 e TNF e chemochine CC5, CCL2, MCP-1 e CXCL8 che attraggono i globuli bianchi verso i siti infiammatori.

Tutti questi composti hanno un ruolo importante nell'infiammazione. Gli MC producono, immagazzinano e sintetizzano TNF altamente infiammatorio, sia intracellulare che extracellulare <sup>68</sup> e rilasciano IL-33 <sup>69</sup>, un membro della famiglia di citochine IL-1 denominate "allarmine". <sup>70</sup>

Le cellule immunitarie MC innate sono delle vere sentinelle del corpo umano, pronte ad attaccare immediatamente gli invasori esterni che possono essere dannosi per cellule, tessuti e organi. <sup>71</sup>

Queste cellule, comunicando con l'ambiente esterno, neutralizzano vari patogeni, ma così facendo producono anche composti pro-infiammatori che possono essere dannosi per l'organismo. <sup>72</sup>

Di seguito si riporta una figura che approfondisce il meccanismo delle reazioni allergiche mediate da mastociti, basofili ed eosinofili:

---

Kim M, Kwon Y, Jung HS, Kim Y, Jeoung D.

FcεRI-HDAC3-MCP1 Signaling Axis Promotes Passive Anaphylaxis Mediated by Cellular Interactions.

Int J Mol Sci. 2019;20(19):4964. Published 2019 Oct 8. doi:10.3390/ijms20194964

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6801807/pdf/ijms-20-04964.pdf>

<sup>68</sup> Nakae S, Suto H, Kakurai M, Sedgwick JD, Tsai M, Galli SJ.

Mast cells enhance T cell activation: Importance of mast cell-derived TNF.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(18):6467-6472. doi:10.1073/pnas.0501912102

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1088381/>

<sup>69</sup> Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): A nuclear cytokine from the IL-1 family.

Immunol Rev. 2018 Jan;281(1):154-168. doi: 10.1111/imr.12619. PMID: 29247993.

[https://www.researchgate.net/publication/321880357\\_Interleukin-33\\_IL-33\\_A\\_nuclear\\_cytokine\\_from\\_the\\_IL-1\\_family](https://www.researchgate.net/publication/321880357_Interleukin-33_IL-33_A_nuclear_cytokine_from_the_IL-1_family)

<sup>70</sup> Gallenga CE, Pandolfi F, Caraffa AI, Kritas SK, Ronconi G, Toniato E, Martinotti S, Conti P.

Interleukin-1 family cytokines and mast cells: activation and inhibition.

J Biol Regul Homeost Agents. 2019 Jan-Feb;33(1):1-6. PMID: 30656901.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30656901/>

Yang D, Han Z, Oppenheim JJ.

Alarmins and immunity.

Immunol Rev. 2017;280(1):41-56. doi:10.1111/imr.12577

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5699517/>

<sup>71</sup> da Silva EZ, Jamur MC, Oliver C.

Mast cell function: a new vision of an old cell.

J Histochem Cytochem. 2014;62(10):698-738. doi:10.1369/0022155414545334

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4230976/>

<sup>72</sup> Theoharides TC, Tsilioni I, Ren H.

Recent advances in our understanding of mast cell activation - or should it be mast cell mediator disorders?

Expert Rev Clin Immunol. 2019;15(6):639-656. doi:10.1080/1744666X.2019.1596800

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7003574/>

He SH, Zhang HY, Zeng XN, Chen D, Yang PC.

Mast cells and basophils are essential for allergies: mechanisms of allergic inflammation and a proposed procedure for diagnosis.

Acta Pharmacol Sin. 2013;34(10):1270-1283. doi:10.1038/aps.2013.88

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4002163/>

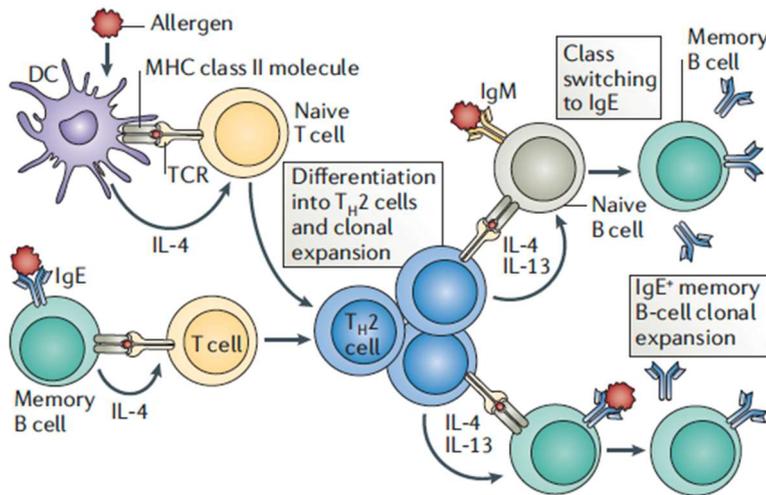
Larché M, Akdis CA, Valenta R.

Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy.

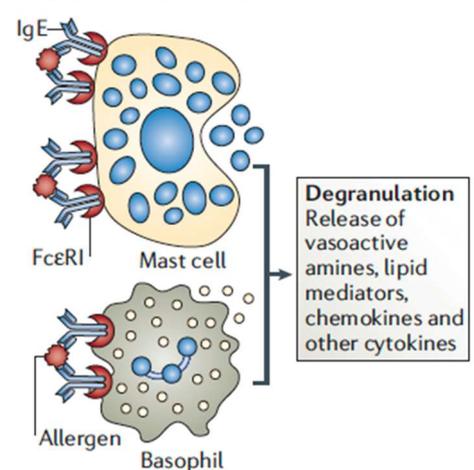
Nat Rev Immunol. 2006 Oct;6(10):761-71. doi: 10.1038/nri1934. PMID: 16998509.

<https://www.semanticscholar.org/paper/Immunological-mechanisms-of-allergen-specific-Larche%20et%20al-Akdis/7c1f1cd02e8ee45b22648c256f4d267e60ba1e88>

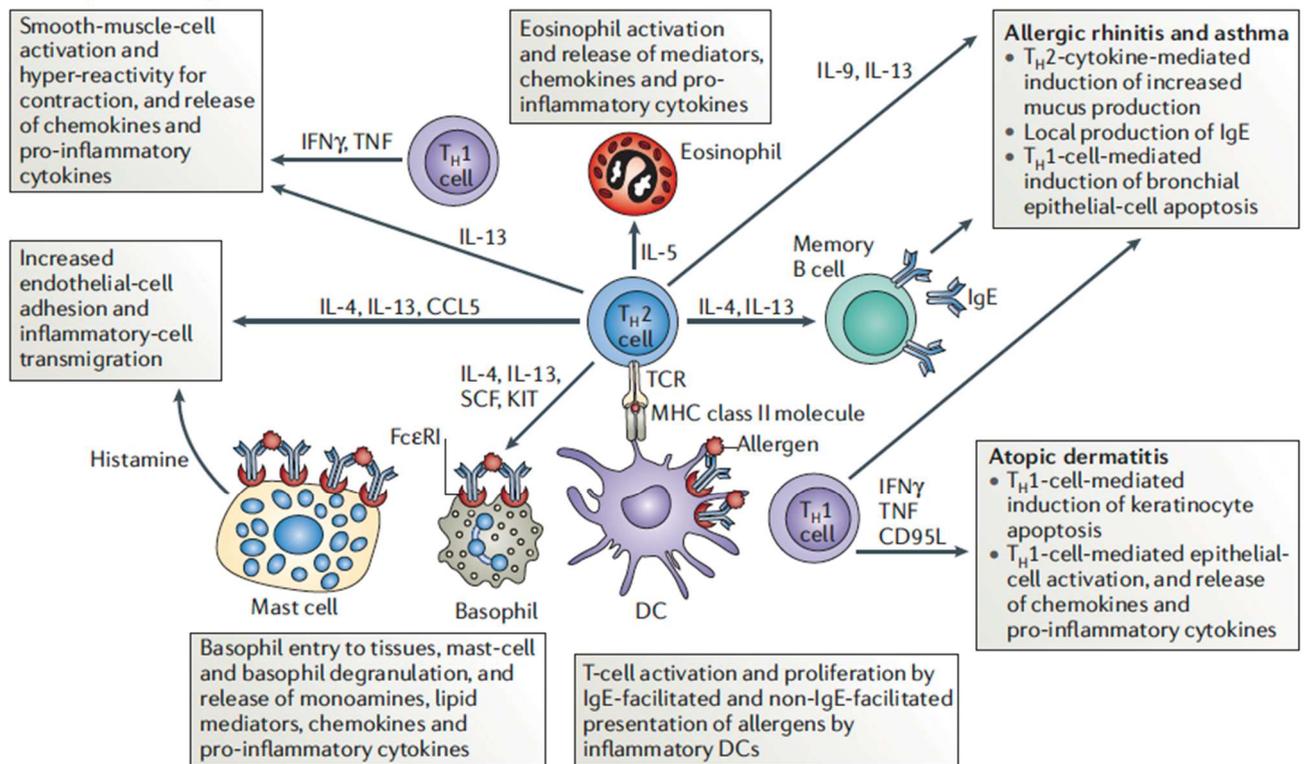
**a Sensitization and memory induction**



**b Immediate phase: type 1 reaction**



**c Late phase: allergic inflammation**



<https://www.semanticscholar.org/paper/Immunological-mechanisms-of-allergen-specific-Larch%3%A9-Akdis/7c1f1cd02e8ee45b22648c256f4d267e60ba1e88>

**Meccanismi delle reazioni allergiche.**

**A) Sensibilizzazione agli allergeni e sviluppo della memoria specifica dei linfociti B e T.** La differenziazione e l'espansione clonale delle cellule T helper 2 (TH2) allergene-specifiche porta alla produzione di citochine (interleuchina-4 (IL-4) e IL-13), che inducono il passaggio della classe di immunoglobuline a IgE e l'espansione clonale di popolazioni di cellule B di memoria naïve e IgE<sup>+</sup>. Le IgE sulla superficie delle cellule B IgE<sup>+</sup> allergene-specifiche e di altre cellule presentanti l'antigene IgE sensibilizzate facilitano la presentazione dell'antigene. L'attivazione dei linfociti T in presenza di IL-4 aumenta la differenziazione in cellule TH2.

**B) Reazione di ipersensibilità di tipo 1** (fase immediata della reazione allergica). La reticolazione delle IgE legate agli FcεRI (recettore ad alta affinità per IgE) presenti sulla superficie dei mastociti e ai basofili da parte degli allergeni porta al rilascio di ammine vasoattive (come l'istamina), mediatori lipidici (come la prostaglandina D, fattore di attivazione delle piastrine, leucotriene C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>), LTD<sub>4</sub> e LTE<sub>4</sub>), chemochine (CXC-

chemochina ligando 8 (CXCL8), CXCL10, CC-chemochina ligando 2 (CCL2), CCL4 e CCL5) e altre citochine (come IL-4, IL-5 e IL-13) e ai sintomi immediati della malattia allergica.

**C) Infiammazione allergica** (fase tardiva della reazione allergica). A seguito della migrazione verso siti di esposizione agli allergeni sotto l'influenza di chemochine e altre citochine, le cellule T specifiche dell'allergene vengono riattivate e si espandono clonalmente. La presentazione dell'antigene facilitata da IgE locali da parte delle cellule dendritiche (DC) aumenta l'attivazione delle cellule T. La produzione locale di IgE si osserva nella rinite allergica e nell'asma, ma non nell'infiammazione cutanea allergica (il principale esempio delle quali è la dermatite atopica). Gli eosinofili sono una delle principali cellule infiammatorie (che costituiscono fino al 50% dell'infiltrato cellulare) nei polmoni degli individui asmatici ma non nella pelle di quelli con dermatite atopica (1-2% dell'infiltrato cellulare). Le cellule TH1, che producono l'interferone  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) e il fattore di necrosi tumorale (TNF), contribuiscono all'attivazione e all'apoptosi dei cheratinociti (nella pelle), delle cellule epiteliali bronchiali e delle cellule muscolari lisce polmonari. Anche l'attivazione dei mastociti e dei basofili, che rilasciano istamina, chemochine e altre citochine, contribuisce alla reazione allergica in fase avanzata.

CD95L, CD95 ligando; SCF, fattore delle cellule staminali (noto anche come KIT ligando); TCR, recettore delle cellule T.

I mastociti sono solitamente identificati in microscopia elettronica dalla presenza di granuli secretori simili a lisosomi densi di elettroni.

Questi granuli secretori sono riempiti con varie molecole preformate come proteine lisosomiali, istamina, eparina e  $\beta$  esosaminidasi.

Dopo l'esposizione a vari stimoli, come l'esposizione a IgE e ai suoi ligandi antigenici, componenti del complemento, e peptidi/neuropeptidi, i mastociti rilasciano il contenuto di questi granuli in pochi minuti mediante un processo chiamato **degranulazione**.

E' da notare che la degranulazione è stata descritta non solo nei mastociti ma anche negli eosinofili, basofili, neutrofili, cellule neuroendocrine e neuroni.

Oltre alla degranulazione convenzionale mediata dai recettori Fc $\epsilon$ RI, i mastociti possono secernere in maniera selettiva parte del contenuto dei granuli (**piecemeal degranulation PMD, degranulazione frammentaria**) durante processi patologici (allergia, morbo di Crohn, orticaria, infiammazione cronica, tumori). Inoltre, attraverso la **transgranulazione** (o traslocazione di pseudopodi) sono in grado di comunicare tra cellule vicine (altri mastociti, fibroblasti, cellule endoteliali vascolari e neuroni).

Recentemente sono stati identificati come nuovi componenti del secretoma dei mastociti anche gli **esosomi** e le microvescicole (di cui si discuterà in dettaglio in seguito) che possono contenere molecole sintetizzate de novo (citochine e mediatori dell'infiammazione). È stato dimostrato che gli esosomi dei mastociti stimolati dagli allergeni possono attivare i macrofagi e le cellule tumorali.<sup>73</sup>

[https://www.researchgate.net/publication/313521982\\_Mast\\_cell\\_secretome\\_Soluble\\_and\\_vesicular\\_components/link/5c544dc3a6fdccd6b5da49c2/download](https://www.researchgate.net/publication/313521982_Mast_cell_secretome_Soluble_and_vesicular_components/link/5c544dc3a6fdccd6b5da49c2/download)

#### Il secretoma dei mastociti

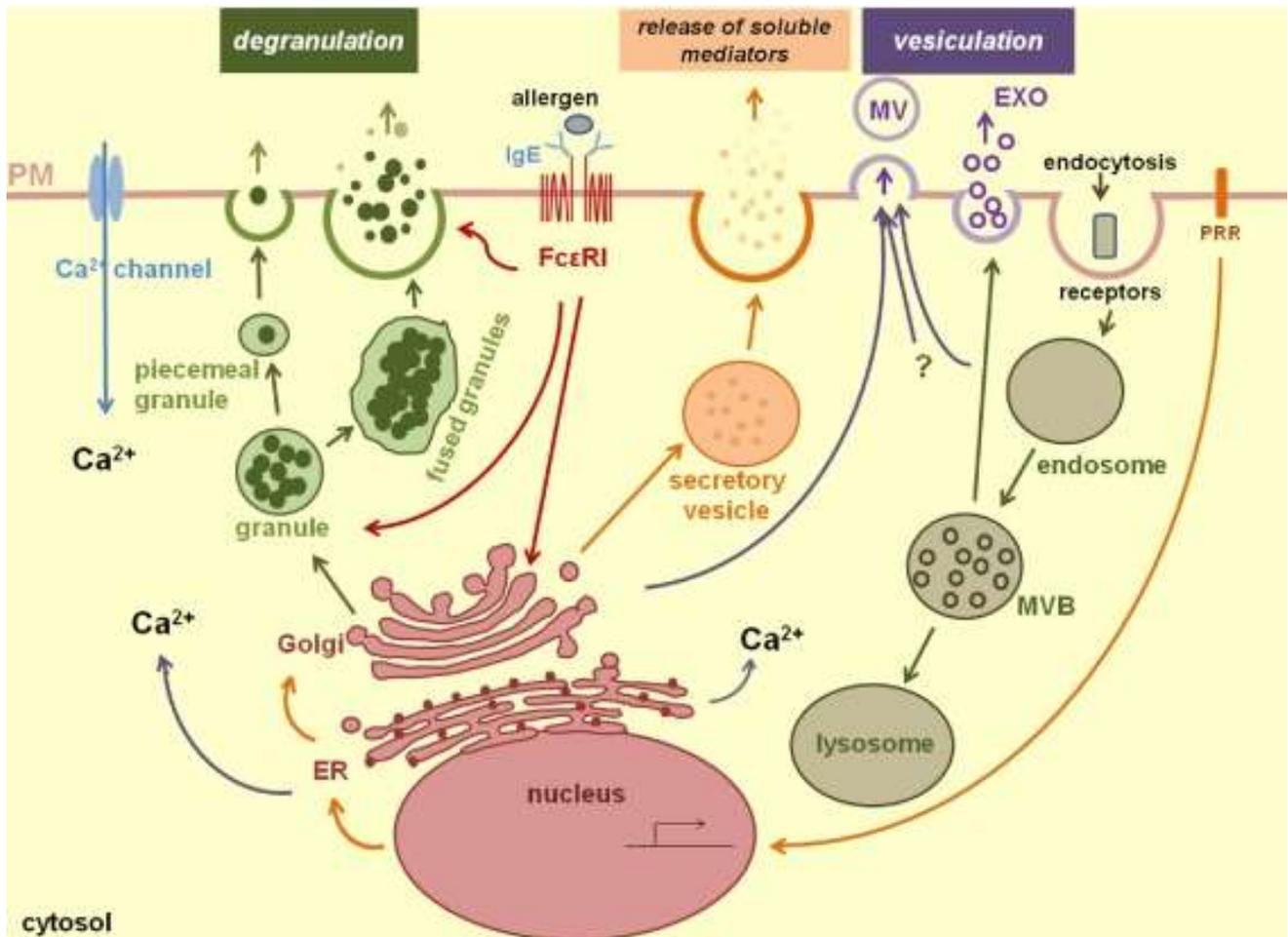
I mastociti possono essere attivati da vari stimoli come allergeni, patogeni o ligandi del canale Ca<sup>2+</sup> attraverso la reticolazione IgE dei recettori Fc $\epsilon$ RI, il riconoscimento dei patogeni da parte dei PRR e il legame del ligando ai canali Ca<sup>2+</sup>, rispettivamente. Dopo la stimolazione, i mastociti possono secernere mediatori preformati mediante degranulazione o degranulazione frammentaria (PMD). Inoltre secernono molecole sintetizzate de novo attraverso vescicole secretorie. I mastociti sono in grado di rilasciare le microvescicole (MV) per diffusione dalla loro membrana plasmatica o dagli esosomi (EXO) per esocitosi dei corpi multivescicolari (MVB). PM: membrana plasmatica, PRR: recettore di riconoscimento dei pattern, ER: reticolo endoplasmatico.

<sup>73</sup> Vukman KV, Försönits A, Oszvald Á, Tóth EÁ, Buzás EI.

Mast cell secretome: Soluble and vesicular components.

Semin Cell Dev Biol. 2017 Jul;67:65-73. doi: 10.1016/j.semdb.2017.02.002. Epub 2017 Feb 9. PMID: 28189858.

[https://www.researchgate.net/publication/313521982\\_Mast\\_cell\\_secretome\\_Soluble\\_and\\_vesicular\\_components](https://www.researchgate.net/publication/313521982_Mast_cell_secretome_Soluble_and_vesicular_components)



### I meccanismi dell'anafilassi mediata da anticorpi

L'anafilassi è una reazione allergica multisistemica acuta e pericolosa per la vita. Deriva da risposte cellulari inadeguate innescate da anticorpi contro antigeni generalmente inoffensivi ed è caratterizzata da un massiccio rilascio di mediatori e da disfunzioni vascolari e d'organo che si verificano rapidamente.<sup>74</sup> I modelli sperimentali hanno chiarito due differenti vie di anafilassi anticorpo-dipendenti.

Il **percorso "classico"** si basa sugli anticorpi della classe delle immunoglobuline E (IgE), che, quando legati al recettore FcεRI ad alta affinità su basofili e mastociti, inducono l'attivazione cellulare in seguito all'esposizione all'allergene responsabile.

La **via "alternativa"** dell'anafilassi è innescata dagli anticorpi IgG che, quando aggregati da un antigene specifico, attivano le cellule mieloidi tramite i recettori IgG (FcγR). Sebbene l'anafilassi umana sia stata classicamente vista come una reazione dipendente da anticorpi IgE, nuove evidenze indicano che le reazioni dipendenti da anticorpi IgG possono essere responsabili di casi di anafilassi umana, in particolare nel contesto di anafilassi indotta da farmaci.<sup>75</sup>

<sup>74</sup> Reber LL, Hernandez JD, Galli SJ. The pathophysiology of anaphylaxis. J Allergy Clin Immunol. 2017;140(2):335-348. doi:10.1016/j.jaci.2017.06.003 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5657389/>

<sup>75</sup> Kim M, Kwon Y, Jung HS, Kim Y, Jeoung D. FcεRI-HDAC3-MCP1 Signaling Axis Promotes Passive Anaphylaxis Mediated by Cellular Interactions. Int J Mol Sci. 2019;20(19):4964. Published 2019 Oct 8. doi:10.3390/ijms20194964 <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/19/4964/htm>

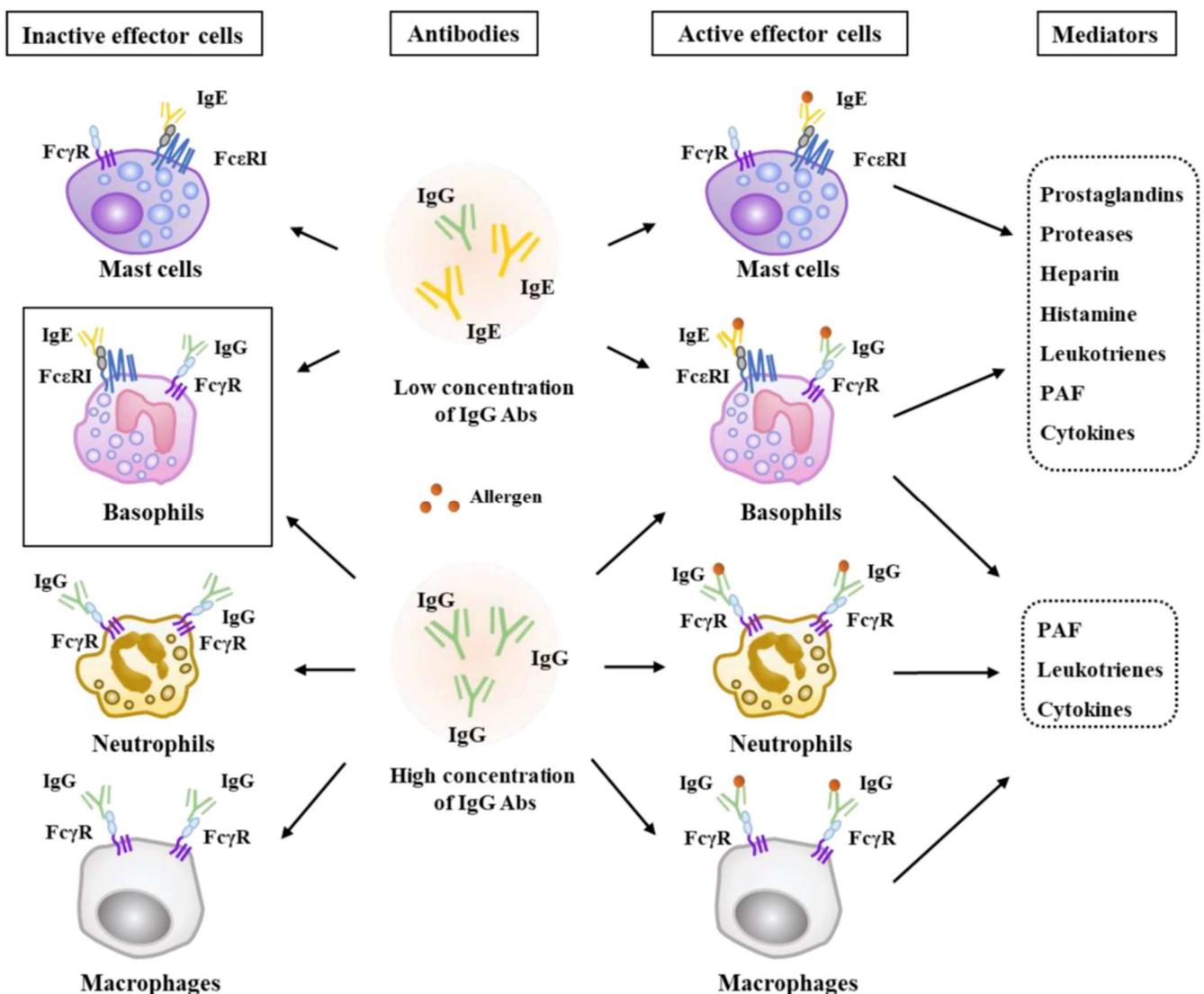
L'anafilassi mediata da IgE richiede una quantità considerevolmente inferiore di anticorpi e antigeni rispetto all'anafilassi mediata da IgG.

Di conseguenza, quando i livelli di anticorpi sono bassi, può verificarsi solo l'anafilassi mediata da IgE.

Quando i livelli di antigene sono bassi ma i livelli di anticorpi IgG sono alti, gli anticorpi IgG "bloccanti" prevengono l'anafilassi mediata da IgE intercettando l'antigene prima che possa legarsi all'IgE associato a FcεRI e legandosi al recettore inibitorio FcγRIIB. Tuttavia la quantità di complessi IgG/antigene è troppo bassa per innescare l'anafilassi mediata da IgG. Di conseguenza, l'anafilassi non si verifica.

Quando i livelli di antigene e anticorpo sono entrambi alti ma i livelli di anticorpi IgG sono in eccesso rispetto ai livelli di antigene, gli anticorpi IgG bloccano il legame dell'antigene alle IgE legate a FcεRI, però i complessi IgG/antigene possono legarsi a FcγR; di conseguenza, si verifica solo l'anafilassi mediata da IgG.

Quando i livelli di antigene e anticorpo sono entrambi alti ma i livelli di antigene sono in eccesso, i complessi IgG/anticorpo sono sufficienti per innescare l'anafilassi mediata da IgG e una quantità sufficiente di antigene sfugge al blocco IgG per legarsi alle IgE associate a FcεRI e innescare anafilassi IgE-mediata.



Finkelman FD, Khodoun MV, Strait R. Human IgE-independent systemic anaphylaxis. J Allergy Clin Immunol. 2016 Jun;137(6):1674-1680. doi: 10.1016/j.jaci.2016.02.015. Epub 2016 Apr 26. PMID: 27130857. <https://www.jacionline.org/action/showPdf?pii=S0091-6749%2816%2900382-1>

<https://www.mdpi.com/1422-0067/20/19/4964/htm>

**I meccanismi dell'anafilassi mediata da anticorpi.** Gli anticorpi dell'immunoglobulina E (IgE) allergene-specifici e le cellule effettrici portatrici di FcεRI svolgono un ruolo critico nell'anafilassi indotta quando le concentrazioni di anticorpi dell'immunoglobulina G (IgG) sono basse. Mastociti e basofili mediano l'anafilassi mediata da IgE. L'anafilassi mediata da IgE coinvolge molecole effettrici tra cui prostaglandine, istamina, leucotrieni, PAF, eparina, varie citochine ed enzimi. Le frecce → indicano una regolazione positiva.

Ne segue quindi che l'attivazione dei mastociti IgE-dipendente è uno dei principali meccanismi effettori alla base della patologia associata ai disturbi allergici.

Il più drammatico di questi disturbi associati alle IgE è l'anafilassi fatale che può verificarsi in alcune persone che hanno sviluppato anticorpi IgE contro antigeni altrimenti innocui, come quelli contenuti in determinati alimenti e medicinali.

È importante chiedersi perché una risposta immunitaria così altamente "disadattiva" si è sviluppata nell'evoluzione e si è mantenuta fino ai giorni nostri.

La difesa dell'ospite contro i parassiti è stata a lungo considerata l'unica funzione benefica che potrebbe essere conferita dalle IgE e dai mastociti.

Studi recenti hanno però dimostrato che, oltre a partecipare alla resistenza dell'ospite a determinati parassiti, i mastociti e le IgE sono componenti critici delle risposte immunitarie innate (mastociti) e adattive (mastociti e IgE) che possono migliorare la difesa dell'ospite contro la tossicità di alcuni veleni di artropodi e animali, incluso l'aumento della sopravvivenza dei topi a cui sono stati iniettati tali veleni.

### Mastociti e SARS-Cov-2

I coronavirus sviluppano meccanismi particolari per invadere il corpo e le cellule immunitarie, incluse le MC. La risposta dell'ospite all'invasione del virus RNA attiva i TLR3 presenti sulle MC con produzione di IFN antivirale e di chemochine, IFN $\gamma$  e CXCL8, con conseguente reclutamento di cellule NK che producono a loro volta interferoni di tipo I (IFN) (effetto positivo).

Tuttavia spesso il virus provoca solo la sensibilizzazione delle MC con la sintesi di IgE che si legano al recettore FcεRI e innescano una violenta reazione infiammatoria, oppure stimola le MC della mucosa a rilasciare citochine pro-infiammatorie come TNF, IL-1, IL-6 e proteasi, che aggravano lo stato infiammatorio e le risposte autoimmuni (effetto negativo).<sup>76</sup>

Le MC attivate dal virus producono istamina, prostaglandina D2 (PGD2) e leucotriene C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) che inducono broncocostrizione acuta e infiammazione polmonare.

Pertanto, le infezioni virali possono attivare MC che rispondono con duplici effetti, uno positivo che aiuta il sistema immunitario a combattere le infezioni e uno negativo che causa il rilascio di mediatori chimici dell'infiammazione e la secrezione di citochine proinfiammatorie come IL-1, IL-33, IL-18 e TNF, aggravando lo stato patologico del paziente.<sup>65</sup>

<sup>76</sup> Criado PR, Pagliari C, Criado RFJ, Marques GF, Belda W Jr.

What the physicians should know about mast cells, dendritic cells, urticaria, and omalizumab during COVID-19 or asymptomatic infections due to SARS-CoV-2?

Dermatol Ther. 2020 Jul 25:e14068. doi: 10.1111/dth.14068. Epub ahead of print. PMID: 32713127.

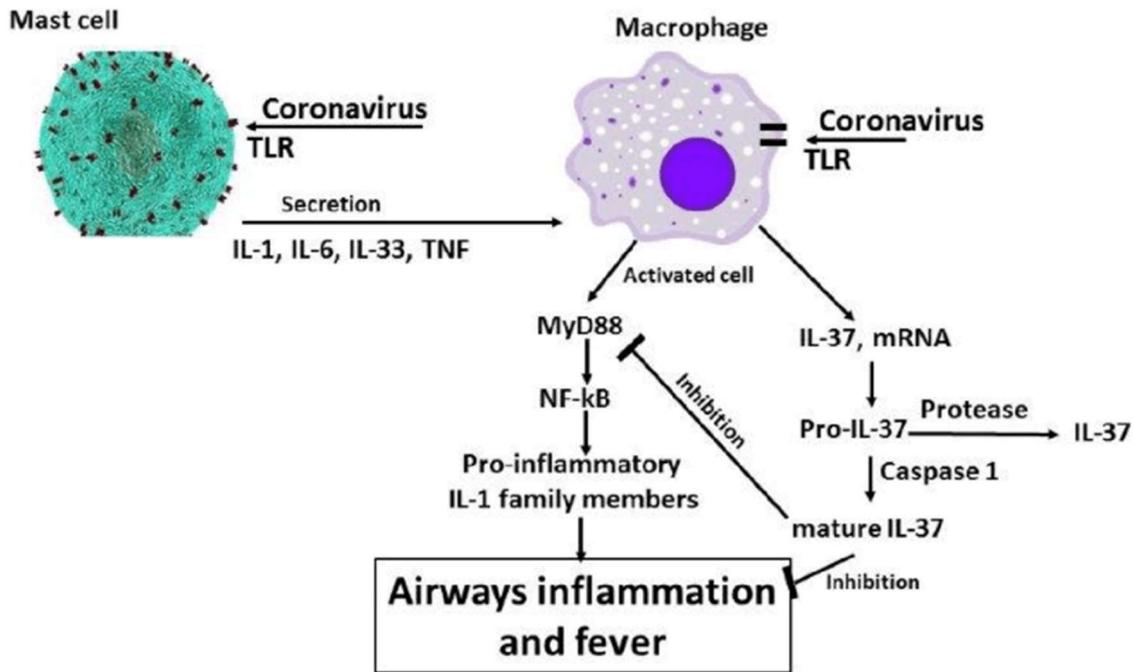
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/dth.14068>

Henault J, Riggs JM, Karnell JL, et al.

Self-reactive IgE exacerbates interferon responses associated with autoimmunity.

Nat Immunol. 2016;17(2):196-203. doi:10.1038/ni.3326

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4718782/>



[https://www.researchgate.net/publication/339066959\\_Mast\\_cells\\_contribute\\_to\\_coronavirus-induced\\_inflammation\\_New\\_anti-inflammatory\\_strategy](https://www.researchgate.net/publication/339066959_Mast_cells_contribute_to_coronavirus-induced_inflammation_New_anti-inflammatory_strategy)

**Recettore Toll-like che lega il coronavirus e attiva i mastociti che secernono i membri della famiglia IL-1 (IL-1, IL-33), IL-6 e TNF.** Queste citochine insieme al coronavirus attivano i macrofagi. Questa stimolazione provoca doppi effetti: uno è l'infiammazione delle vie aeree e la febbre e l'altro la produzione di IL-37 che inibisce l'infiammazione delle vie aeree e la febbre.

La polmonite grave indotta da coronavirus umani, incluso SARS-CoV-2, è associata a risposte di citochine proinfiammatorie aumentate, che provocano danno polmonare acuto, sindrome respiratoria acuta grave e possibile fibrosi polmonare cronica.

I mastociti sono la principale fonte di queste citochine proinfiammatorie e mediatori broncostrittori <sup>77</sup> e la causa della **sindrome da attivazione dei mastociti** <sup>78</sup>, potenzialmente associata alle forme gravi da COVID-19 e al maggiore rischio di fibrosi polmonari post-infettive, e da influenza A <sup>79</sup>.

<sup>77</sup> <https://www.cebm.net/covid-19/mast-cell-stabilisers-leukotriene-antagonists-and-antihistamines-a-rapid-review-of-effectiveness-in-covid-19/>

Mast Cell Stabilizers as a Supportive Therapy Can Contribute to Alleviate Fatal Inflammatory Responses and Severity of Pulmonary Complications in COVID-19 Infection  
<https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/1061074>

<sup>78</sup> Afrin LB, Weinstock LB, Molderings GJ.  
 Covid-19 Hyperinflammation and Post-Covid-19 Illness May Be Rooted in Mast Cell Activation Syndrome [published online ahead of print, 2020 Sep 10]. Int J Infect Dis. 2020;S1201-9712(20)30732-3. doi:10.1016/j.ijid.2020.09.016  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7529115/pdf/main.pdf>

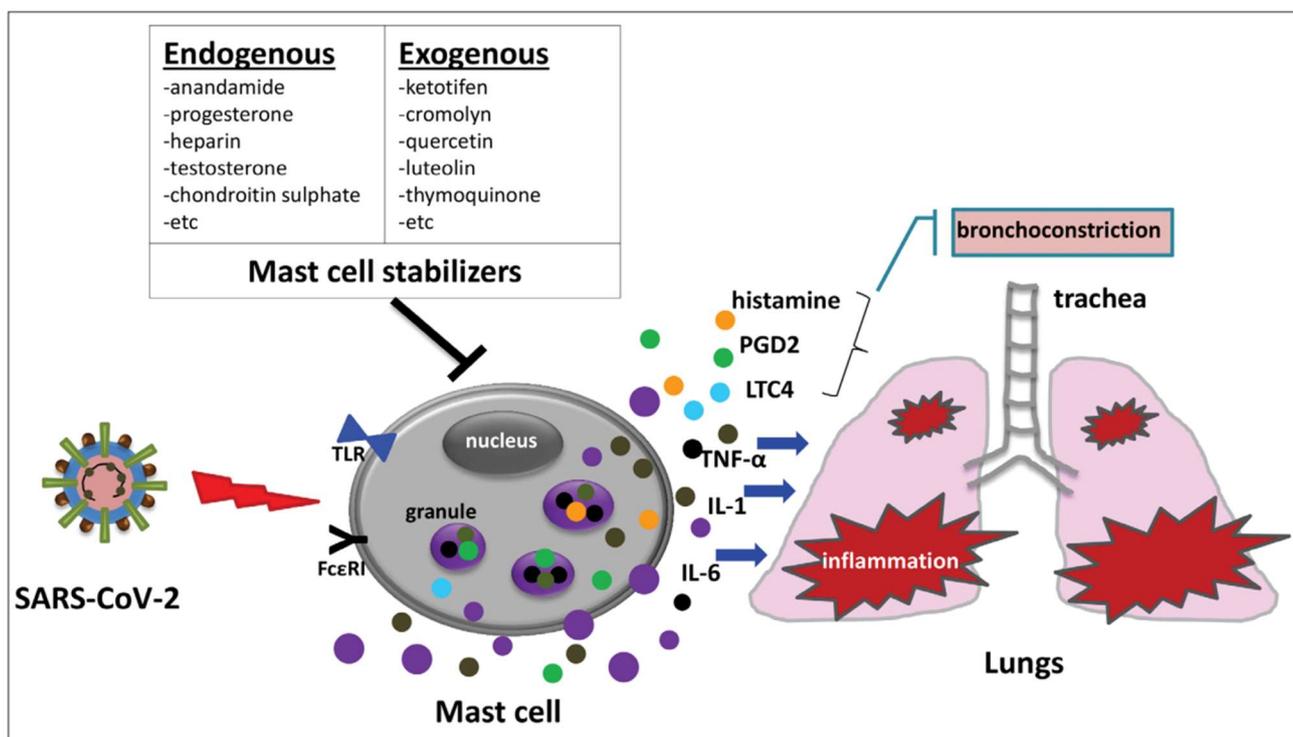
Theoharides TC, Tsilioni I, Ren H.  
 Recent advances in our understanding of mast cell activation - or should it be mast cell mediator disorders? Expert Rev Clin Immunol. 2019;15(6):639-656. doi:10.1080/1744666X.2019.1596800  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7003574/>

<sup>79</sup> Graham AC, Temple RM, Obar JJ.  
 Mast cells and influenza a virus: association with allergic responses and beyond. Front Immunol. 2015;6:238. Published 2015 May 18. doi:10.3389/fimmu.2015.00238  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4435071/>

È quindi possibile che i farmaci mirati all'allergia (antistaminici) e composti naturali che inibiscono l'attivazione dei mastociti (es. polifenoli)<sup>80</sup> possano anche alleviare i sintomi del COVID-19.

È noto che la vitamina D è necessaria per mantenere la stabilità dei mastociti e la sua carenza provoca l'attivazione dei mastociti.<sup>81</sup>

Inoltre la vitamina C ha un effetto antistaminico, l'idrossiclorochina migliora l'asma mediata da IgE e l'azitromicina ha un effetto antinfiammatorio sull'infiammazione indotta dall'istamina.<sup>82</sup>



<https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/1061074>

**Illustrazione ipotetica dei potenziali meccanismi di attivazione dei mastociti indotta da SARS-CoV-2 e attenuazione dei sintomi da stabilizzatori dei mastociti.** SARS-CoV-2 può attivare i mastociti nel sistema respiratorio attraverso i recettori Toll-like o inducendo il cross-linking delle IgE-FcεRI. I mastociti attivati rilasciano citochine pro-infiammatorie come IL-1, IL-6 e TNF-α così come mediatori broncoconstrictori come istamina, prostaglandina-D2 e leucotriene-C4. La produzione e il rilascio anormali di questi mediatori dai mastociti possono ulteriormente esacerbare l'infiammazione indotta da SARS-CoV-2 nel sistema respiratorio. Pertanto, gli stabilizzatori endogeni o esogeni dei mastociti possono alleviare le risposte infiammatorie e le complicanze polmonari sopprimendo l'attivazione dei mastociti nell'infezione da SARS-CoV-2. TLR: recettore Toll-like, TNF-α: fattore di necrosi tumorale-α, IL: interleuchina, LTC4: leucotriene-C4, PGD2: prostaglandina-D2.

<sup>80</sup> Chojnacka K, Witek-Krowiak A, Skrzypczak D, Mikula K, Młynarz P. Phytochemicals containing biologically active polyphenols as an effective agent against Covid-19-inducing coronavirus. *J Funct Foods*. 2020;73:104146. doi:10.1016/j.jff.2020.104146 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7392194/>

Shaik Y, Caraffa A, Ronconi G, Lessiani G, Conti P. Impact of polyphenols on mast cells with special emphasis on the effect of quercetin and luteolin. *Cent Eur J Immunol*. 2018;43(4):476-481. doi:10.5114/ceji.2018.81347 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6384425/>

Hogan Ii RB, Hogan Iii RB, Cannon T, et al. Dual-histamine receptor blockade with cetirizine - famotidine reduces pulmonary symptoms in COVID-19 patients. *Pulm Pharmacol Ther*. 2020;63:101942. doi:10.1016/j.pupt.2020.101942 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7455799/>

<sup>81</sup> Liu ZQ, Li XX, Qiu SQ, Yu Y, Li MG, Yang LT, Li LJ, Wang S, Zheng PY, Liu ZG, Yang PC. Vitamin D contributes to mast cell stabilization. *Allergy*. 2017 Aug;72(8):1184-1192. doi: 10.1111/all.13110. Epub 2017 Jan 17. PMID: 27998003. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27998003/>

<sup>82</sup> Immunological mechanisms explaining the role of IgE, mast cells, histamine, elevating ferritin, IL-6, D-dimer, VEGF levels in COVID-19 and dengue, potential treatments such as mast cell stabilizers, antihistamines, Vitamin C, hydroxychloroquine, ivermectin and azithromycin Arumugham, Vinu [https://zenodo.org/record/3748304?fbclid=IwAR3dnb-C\\_h5cVSiELUw\\_\\_6XCR1-JfMyxROIYnHgHD\\_LUH8JWnWEwxPpsn6U#.X3z-ZS1abjC](https://zenodo.org/record/3748304?fbclid=IwAR3dnb-C_h5cVSiELUw__6XCR1-JfMyxROIYnHgHD_LUH8JWnWEwxPpsn6U#.X3z-ZS1abjC)

### Eosinofili e SARS-Cov-2

In un loro recente articolo preprint dal titolo “*Asthma and Covid-19: the eosinophilic link*”<sup>83</sup>, Rodriguez et al. hanno presentato un nuovo postulato sul meccanismo d’induzione del danno polmonare da COVID-19, partendo dalle seguenti osservazioni:

- tra tutte le serie di pazienti COVID-19 (presentazioni lievi o gravi allo stesso modo), vi è una notevole **assenza di pazienti con asma cronico o con altre malattie comuni correlate come rinite allergica o atopia**.<sup>84</sup>
- un recente studio dall'Italia su 23.188 pazienti deceduti per COVID-19, tra le 16 possibili comorbidity citate nel paper non si parla di asma o rinite allergica, nonostante l'elevata prevalenza di queste condizioni nella popolazione generale<sup>85</sup>.

Le domande che gli autori si sono posti è se soffrire di asma sia di per sé un fattore protettivo contro lo sviluppo di una malattia Covid-19 sintomatica e, soprattutto, contro la presentazione delle complicanze letali della malattia.

## APPROFONDIMENTO

### Gli eosinofili

#### Endotipi dell'asma

Il termine **endotipo** è stato proposto nel 2008 come quadro concettuale per guidare il nuovo pensiero sull'eterogeneità molecolare dell'asma.

In particolare, è stato proposto che un endotipo sia un sottotipo di malattia definito da un meccanismo funzionale o patobiologico distinto.

È distinto dal fenotipo di una malattia, che è una qualsiasi caratteristica o un tratto osservabile di una malattia senza alcuna implicazione per il meccanismo.

Il vantaggio di classificare l'asma come gruppi di endotipi sarebbe che ciascun endotipo potrebbe essere il target di trattamenti specifici per il meccanismo molecolare causale.<sup>86</sup>

<sup>83</sup> ASTHMA AND COVID-19: THE EOSINOPHILIC LINK

Carlos Rodriguez<sup>1</sup>, Carlos Veciana<sup>2</sup>  
<https://www.qeios.com/read/5IY4IF>

<sup>84</sup> Zhang JJ, Dong X, Cao YY, Yuan YD, Yang YB, Yan YQ, Akdis CA, Gao YD.

Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy*. 2020 Jul;75(7):1730-1741. doi: 10.1111/all.14238. Epub 2020 Feb 27. PMID: 32077115.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/all.14238>

<sup>85</sup> Characteristics of SARS-CoV-2 patients dying in Italy Report based on available data on April 23th , 2020

[https://www.epicentro.iss.it/en/coronavirus/bollettino/Report-COVID-2019\\_23\\_april\\_2020.pdf](https://www.epicentro.iss.it/en/coronavirus/bollettino/Report-COVID-2019_23_april_2020.pdf)

<sup>86</sup> Fahy JV.

Type 2 inflammation in asthma--present in most, absent in many.

*Nat Rev Immunol*. 2015;15(1):57-65. doi:10.1038/nri3786  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4390063/>

Robinson D, Humbert M, Buhl R, Cruz AA, Inoue H, Korom S, Hanania NA, Nair P.

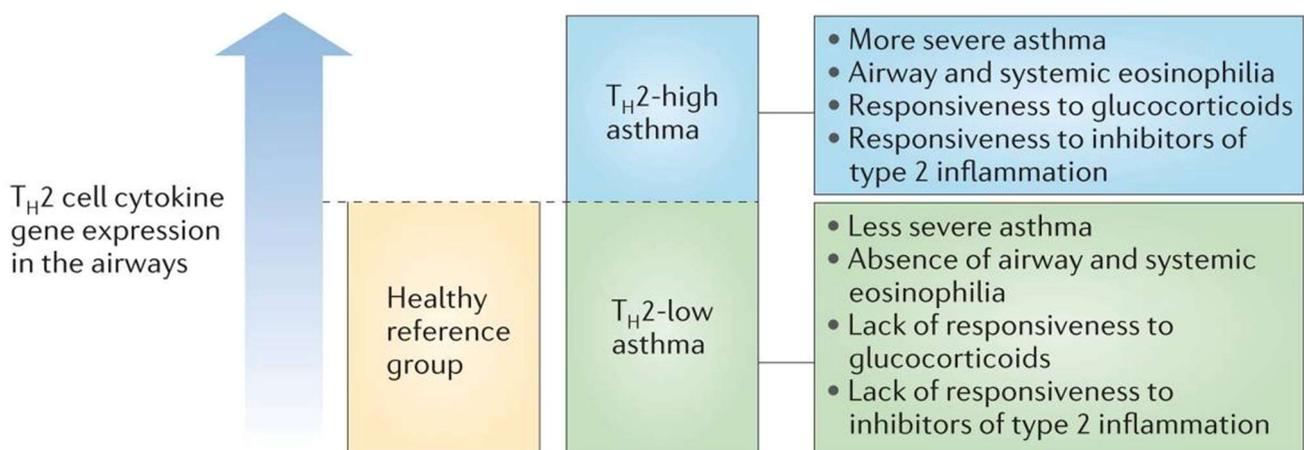
Revisiting Type 2-high and Type 2-low airway inflammation in asthma: current knowledge and therapeutic implications.

*Clin Exp Allergy*. 2017 Feb;47(2):161-175. doi: 10.1111/cea.12880. PMID: 28036144.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cea.12880>

L'endotipo dell'asma tradizionale è caratterizzato da livelli aumentati di infiammazione di tipo 2 mediati principalmente da mastociti, eosinofili, basofili, cellule T-helper 2, cellule linfoidi innate del gruppo 2 (ILC2s) e cellule B che producono immunoglobuline E (IgE)<sup>87</sup>. I pazienti con asma T2 hanno eosinofilia e altri segni di infiammazione di tipo 2 inclusi livelli elevati di IL-4, IL-5 e IL-13.

Come già discusso in altre sedi, il termine T2 si riferisce a un tipo di risposta immunitaria: il modello classico di risposta immunitaria di tipo 1 e di tipo 2 è relativo alle diverse risposte immunitarie che sono regolate da sottopopolazioni di cellule T CD4<sup>+</sup> note rispettivamente come cellule T helper 1 (Th1) e Th2.

Le cellule Th1 secernono interleuchina-2 (IL-2), interferone-γ (IFNγ) e linfotossina-α e stimolano l'immunità di tipo 1, caratterizzata da una prominente attività fagocitica, mentre le cellule Th2 secernono principalmente le citochine prototipiche IL -4, IL-5 e IL-13 e stimolano l'immunità di tipo 2, caratterizzata da titoli anticorpali elevati ed eosinofilia.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4390063/>

I livelli di espressione genica per le citochine delle cellule T helper 2 (TH2) o per l'attivazione delle cellule epiteliali da parte delle citochine delle cellule TH2 mostrano un continuum nelle vie aeree dei pazienti con asma (piuttosto che una distribuzione bimodale). Gli individui con asma che hanno livelli di espressione superiori al range riscontrato nei controlli sani hanno caratteristiche cliniche, patologiche e di risposta al trattamento specifiche. Ciò suggerisce un effetto soglia delle citochine delle cellule TH2 nelle vie aeree al di sopra del quale l'infiammazione di tipo 2 influenza le caratteristiche cliniche dell'asma e la reattività a trattamenti specifici. I biomarcatori dell'infiammazione di tipo 2 nel sangue e nell'aria espirata possono identificare individui con asma che sono al di sopra e al di sotto di questa soglia e si stanno dimostrando promettenti come predittori di reattività a un elenco crescente di inibitori delle citochine di tipo 2 che sono in studi clinici in fase avanzata per l'asma.

[https://www.researchgate.net/publication/282911674\\_Targeting\\_key\\_proximal\\_drivers\\_of\\_type\\_2\\_inflammation\\_in\\_disease](https://www.researchgate.net/publication/282911674_Targeting_key_proximal_drivers_of_type_2_inflammation_in_disease)

**Infiammazione di tipo 2 nell'asma grave, dermatite atopica e sinusite cronica con polipi nasali.**

a) La citochina di tipo 2 interleuchina-4 (IL - 4) guida la differenziazione e l'espansione clonale delle cellule T helper (TH) nelle cellule TH2 e l'ulteriore produzione di citochine IL - 4, IL - 5 e IL - 13. I segni distintivi dell'attivazione della via di tipo 2 includono la produzione di immunoglobuline E (IgE) e l'eosinofilia. In particolare, IL - 5 guida principalmente la differenziazione degli eosinofili nel midollo osseo e IL - 4, IL - 5 e IL - 13 hanno ruoli nel traffico tessuto-specifico. IL - 4 e IL - 13 sono i principali responsabili della commutazione della classe di isotipo delle cellule B per produrre IgE. IL-13 è implicato in effetti sui tessuti come secrezione di muco, contrattilità della muscolatura liscia e iperplasia.

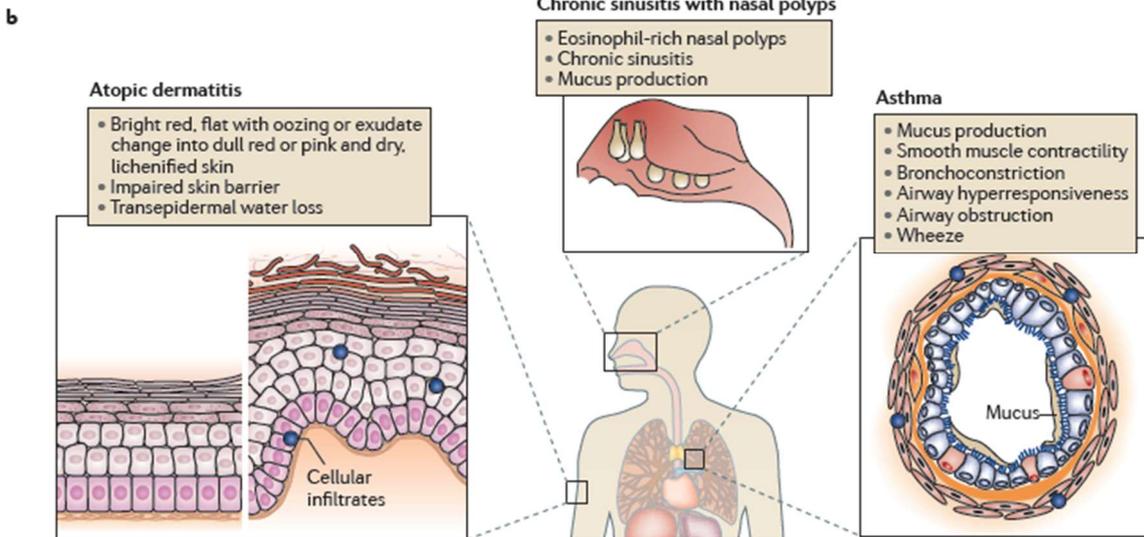
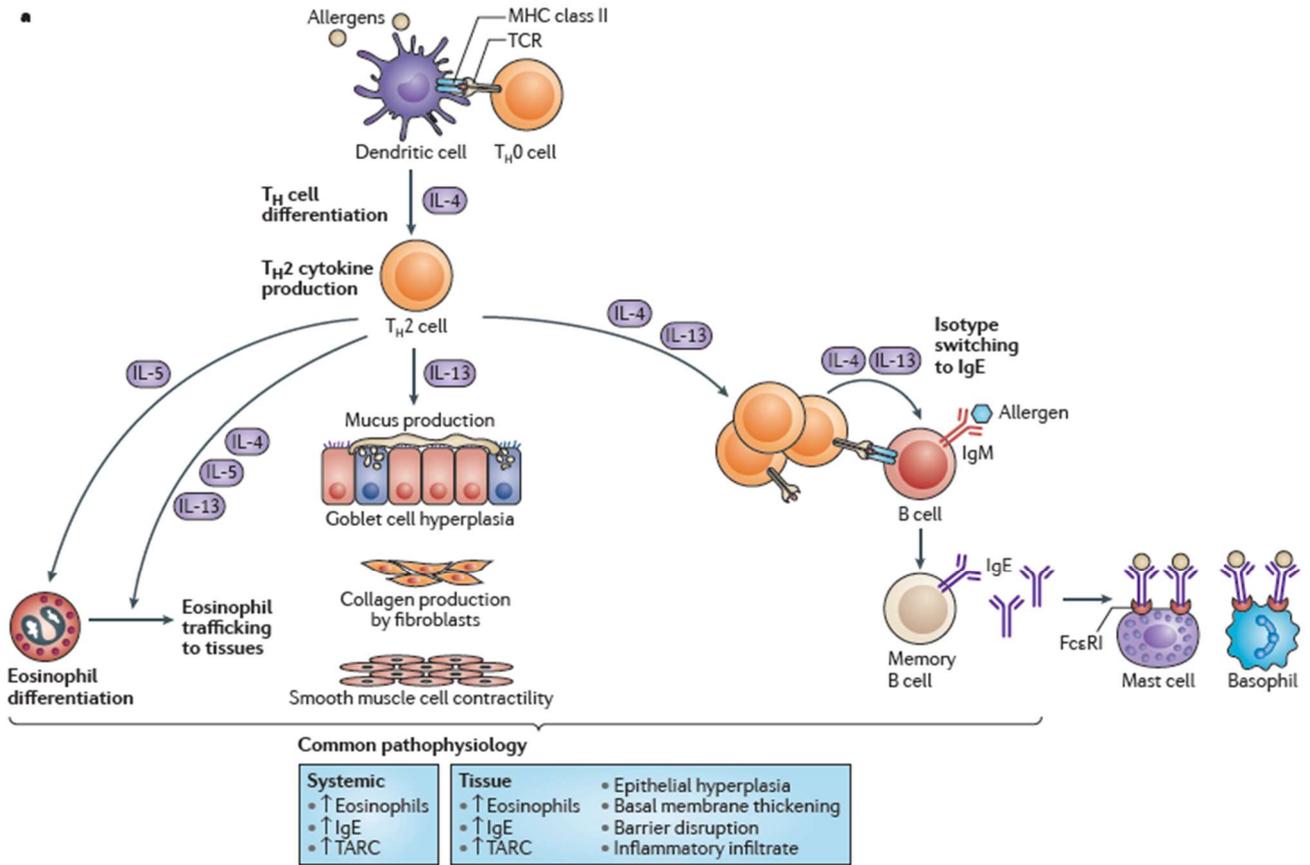
b) L'attivazione della via patologica sottostante di tipo 2 comune determina diverse malattie allergiche in base al tessuto colpito. FcεRI, recettore IgE ad alta affinità; TARC, chemochina regolata dal timo e dall'attivazione

<sup>87</sup> Gandhi NA, Bennett BL, Graham NM, Pirozzi G, Stahl N, Yancopoulos GD.

Targeting key proximal drivers of type 2 inflammation in disease.

Nat Rev Drug Discov. 2016 Jan;15(1):35-50. doi: 10.1038/nrd4624. Epub 2015 Oct 16. PMID: 26471366.

[https://www.researchgate.net/publication/282911674\\_Targeting\\_key\\_proximal\\_drivers\\_of\\_type\\_2\\_inflammation\\_in\\_disease](https://www.researchgate.net/publication/282911674_Targeting_key_proximal_drivers_of_type_2_inflammation_in_disease)



## Eosinofili

Gli eosinofili sono leucociti polimorfonucleati che si sviluppano nel midollo osseo e migrano nel sangue, costituendo circa l'1-6% dei globuli bianchi.<sup>88</sup>

Sono chiamati così perché contengono granuli intracellulari che sono intensamente colorati dal colorante acidofilo eosina.

La presenza di grandi granuli specifici, noti anche come granuli secondari, è una caratteristica che distingue gli eosinofili da altri granulociti (neutrofili e basofili).

Le sostanze predominanti in questi granuli sono quattro proteine:

- la proteina basica principale antiparassitaria (elmintotossica) (MBP),
- la perossidasi eosinofila battericida (EPO),
- la proteina cationica eosinofila (ECP)
- la neurotossina derivata dagli eosinofili (EDN)<sup>89</sup>.

Le ultime due proteine sono membri della superfamiglia emergente del gene RNase A e sono in grado di degradare substrati di RNA a filamento singolo (ssRNA) con alta efficienza<sup>90</sup>.

<sup>88</sup> Ramirez GA, Yacoub MR, Ripa M, et al.

Eosinophils from Physiology to Disease: A Comprehensive Review.  
Biomed Res Int. 2018;2018:9095275. Published 2018 Jan 28. doi:10.1155/2018/9095275  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5829361/>

Simon HU, Yousefi S, Germic N, Arnold IC, Haczku A, Karaulov AV, Simon D, Rosenberg HF.  
The Cellular Functions of Eosinophils: Collegium Internationale Allergologicum (CIA) Update 2020.  
Int Arch Allergy Immunol. 2020;181(1):11-23. doi: 10.1159/000504847. Epub 2019 Nov 29. PMID: 31786573; PMCID: PMC6940515.  
<https://www.karger.com/Article/FullText/504847>

Hogan SP, Rosenberg HF, Moqbel R, Phipps S, Foster PS, Lacy P, Kay AB, Rothenberg ME.  
Eosinophils: biological properties and role in health and disease.  
Clin Exp Allergy. 2008 May;38(5):709-50. doi: 10.1111/j.1365-2222.2008.02958.x. Epub 2008 Apr 1. PMID: 18384431.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2222.2008.02958.x>

Travers J, Rothenberg ME.  
Eosinophils in mucosal immune responses.  
Mucosal Immunol. 2015;8(3):464-475. doi:10.1038/mi.2015.2  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4476057/>

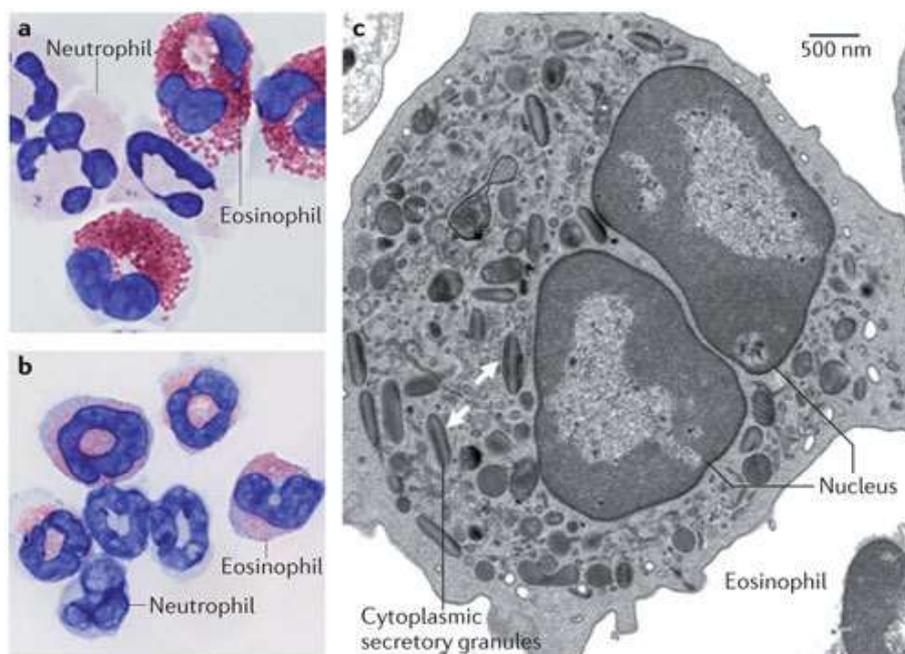
<sup>89</sup> McBrien CN, Menzies-Gow A.  
The Biology of Eosinophils and Their Role in Asthma.  
Front Med (Lausanne). 2017;4:93. Published 2017 Jun 30. doi:10.3389/fmed.2017.00093  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5491677/>

Rosenberg HF, Dyer KD, Foster PS.  
Eosinophils: changing perspectives in health and disease.  
Nat Rev Immunol. 2013;13(1):9-22. doi:10.1038/nri3341  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4357492/>

Acharya KR, Ackerman SJ.  
Eosinophil granule proteins: form and function.  
J Biol Chem. 2014;289(25):17406-17415. doi:10.1074/jbc.R113.546218  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4067173/>

<sup>90</sup> Lu L, Li J, Moussaoui M, Boix E.  
Immune Modulation by Human Secreted RNases at the Extracellular Space.  
Front Immunol. 2018;9:1012. Published 2018 May 16. doi:10.3389/fimmu.2018.01012  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5964141/>

Il fatto che due delle quattro proteine specifiche eosinofile più abbondanti siano ssRNAsi ha un ruolo centrale nella fisiopatogenesi dell'asma ma anche, come vedremo più avanti, potrebbe avere un'importante incidenza sui possibili meccanismi fisiopatologici alla base del ruolo protettivo dell'asma contro la SARS<sup>91</sup>.



Nature Reviews | Immunology

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4357492/>

**a)** Gli eosinofili umani da sangue periferico colorati con Giemsa modificato mostrano caratteristici nuclei bilobati e grandi granuli secretori citoplasmatici di colore rosso. Le cellule con nuclei multilobati e senza grandi granuli sono neutrofili. Ingrandimento originale,  $\times 100$ . **b)** L'immagine mostra eosinofili e neutrofili isolati dalla milza di un topo transgenico Cd2-interleuchina-5 e colorati con Giemsa modificato. **c)** L'immagine mostra una micrografia elettronica a trasmissione di un eosinofilo di topo. I granuli secretori citoplasmatici sono indicati dalle frecce; il nucleo centrale di questi granuli contiene la proteina principale basica cationica e la loro periferia contiene le rimanenti principali proteine cationiche, citochine, chemochine, fattori di crescita ed enzimi. Ingrandimento originale,  $\times 6.000$ .

Il contenuto specifico dei granuli può essere rilasciato tramite tre diversi processi di degranulazione. L'**esocitosi** convenzionale prevede la fusione dei granuli specifici con la membrana cellulare eosinofila, con conseguente rilascio dell'intero contenuto del granulo specifico.

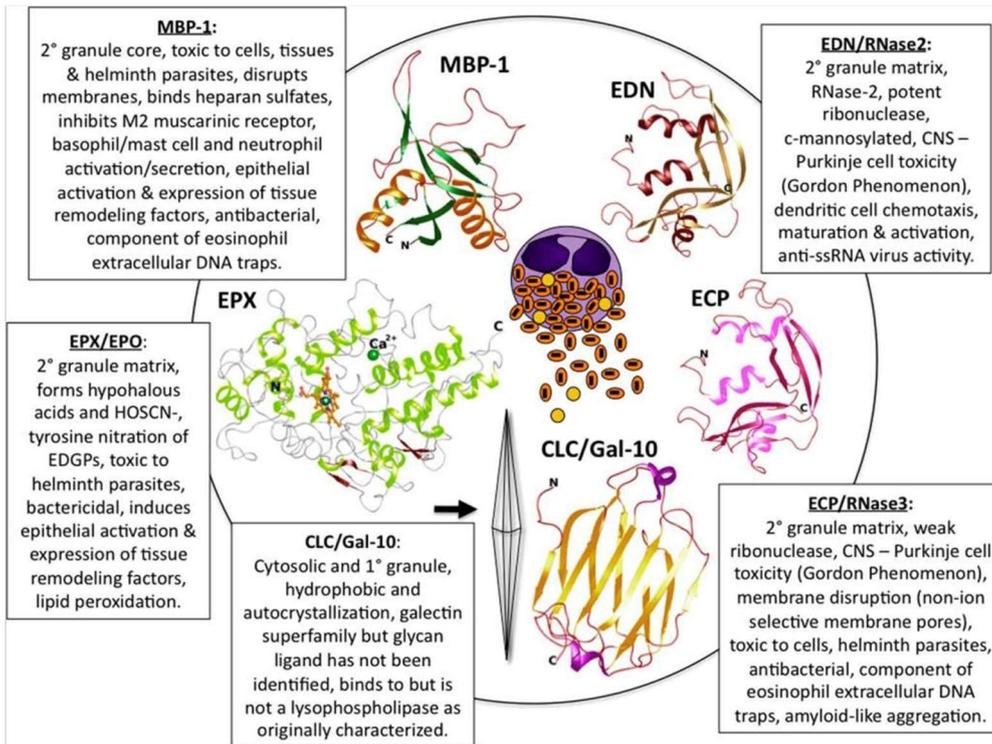
In alternativa, l'eosinofilo può essere lisato (**citolisi**), rilasciando tutto il contenuto cellulare, compresi i granuli specifici intatti. Questi granuli extracellulari possono essere trovati nei tessuti affetti da malattia mediata da eosinofili e possono successivamente rilasciare il loro contenuto in risposta a stimoli pro-infiammatori.

Il meccanismo più comune di granulazione degli eosinofili è chiamato **degranulazione frammentaria** (PMD). In questo processo, le vescicole (sia rotonde che tubolari) vengono rilasciate da specifici granuli e viaggiano verso la membrana cellulare per scaricare il loro contenuto nel dominio extracellulare.

Le vescicole tubolari tendono ad arricciarsi in una morfologia simile a un cerchio, dando origine al termine "**vescicole a sombrero degli eosinofili**".

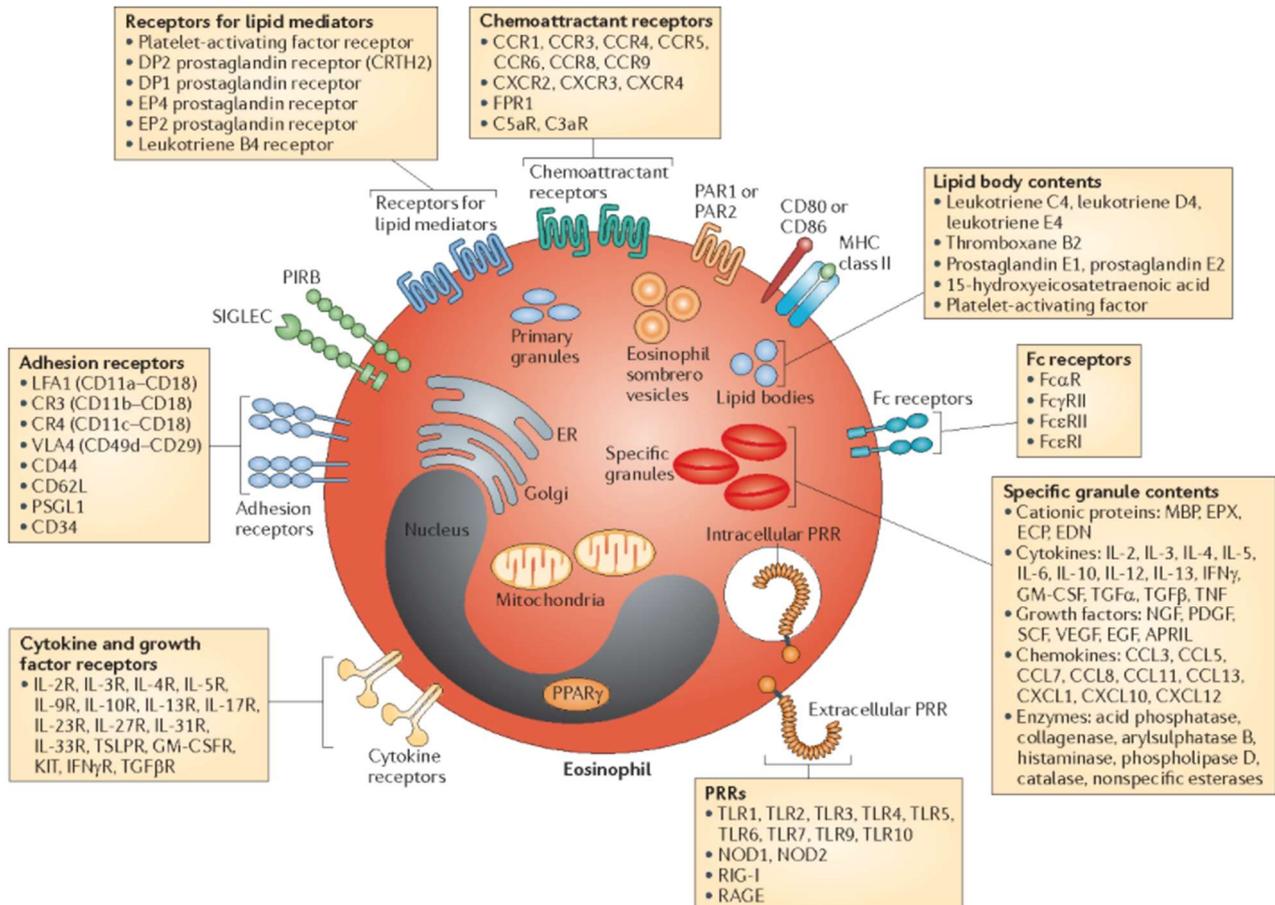
Possono essere rilasciate anche vescicole con contenuto particolare selettivamente in risposta a particolari citochine, consentendo agli eosinofili di fornire una specifica combinazione di mediatori citotossici su richiesta.

<sup>91</sup> Marone G, Granata F, Pucino V, et al. The Intriguing Role of Interleukin 13 in the Pathophysiology of Asthma. Front Pharmacol. 2019;10:1387. Published 2019 Dec 6. doi:10.3389/fphar.2019.01387 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6908970/>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4067173/>

**Rappresentazioni strutturali delle proteine dei granuli eosinofili umani che mostrano la loro posizione e le funzioni note.** Le proteine cationiche dei granuli mostrate sono: MBP-1 (Protein Data Bank (PDB) code 1H8U); EDN (RNase-2) (codice PDB 1HI2); ECP (RNase-3) (codice PDB 1QMT); e EPX / EPO (basato su modelli molecolari utilizzando una struttura della mieloperoxidasi, codice PDB 1D2V). Viene mostrato anche CLC / Gal-10 (codice PDB 1LCL), che è principalmente citosolico ma presente anche in una piccola popolazione residua di granuli primari grandi privi di nucleo nell'eosinofilo maturo. CLC / Gal-10 forma i cristalli bipiramidali esagonali (freccia) considerati un segno distintivo dell'infiammazione eosinofila nei tessuti e nei fluidi corporei nelle malattie associate agli eosinofili.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4357492/>

#### Caratteristiche cellulari degli eosinofili.

Gli eosinofili sono dotati di caratteristiche che promuovono le interazioni con l'ambiente. In una di queste interazioni, gli eosinofili rilasciano il contenuto dei loro specifici granuli in risposta a stimoli esterni. Alcuni di questi contenuti in granuli vengono rilasciati tramite vescicole legate alla membrana note come vescicole sombrero eosinofili. Gli eosinofili sintetizzano anche mediatori lipidici per il rilascio nei corpi lipidici citoplasmatici e immagazzinano la proteina dei cristalli di Charcot-Leyden (CLC) in granuli primari. Sebbene non altamente biosintetici, gli eosinofili maturi hanno un numero minimo di mitocondri e un reticolo endoplasmatico limitato (ER) e Golgi, oltre a un nucleo. Gli eosinofili esprimono un'ampia varietà di recettori che modulano adesione, crescita, sopravvivenza, attivazione, migrazione e riconoscimento di pattern. Gli eosinofili di topo non esprimono il CLC o il recettore Fcε1 (FcεR1) e hanno omologhi divergenti della lectina 8 immunoglobuline-simile legante l'acido sialico (SIGLEC-8) e delle ribonucleasi dei granuli neurotossina derivata dagli eosinofili (EDN) e dalla proteina cationica eosinofila (ECP) 12. APRILE, un ligando che induce la proliferazione; CCL, CC-chemochina ligando; CCR, recettore CC-chemochina; CXCL, CXC-chemochina ligando; CXCR, recettore CXC-chemochine; EGF, fattore di crescita epidermico; EPX, perossidasi eosinofila; FPR1, recettore 1 del peptide formilico; GM-CSF, fattore stimolante le colonie di granulociti-macrofagi; IFN, interferone; IL, interleuchina; MBP, principale proteina di base; NGF, fattore di crescita nervoso; NOD, proteina del dominio di oligomerizzazione legante i nucleotidi; PAR, recettore attivato dalla proteinasi; PDGF, fattore di crescita derivato dalle piastrine; PIRB, recettore B simile alle immunoglobuline accoppiato; PPARγ, recettore-γ attivato dal proliferatore del perossisoma; PRR, recettore per il riconoscimento del pattern; PSGL1, legante 1 della glicoproteina P-selettiva; RAGE, recettore per i prodotti finali della glicazione avanzata; RIG-I, gene I inducibile dall'acido retinoico; TGF, fattore di crescita trasformante; TLR, recettore Toll-like; TNF, fattore di necrosi tumorale; SCF, fattore delle cellule staminali; VEGF, fattore di crescita endoteliale vascolare.

#### Interazioni tra eosinofili e patogeni respiratori <sup>92</sup>

Gli eosinofili migrano nel tratto gastrointestinale durante lo sviluppo embrionale, cioè prima dello sviluppo di qualsiasi flora intestinale vitale.

In salute, sono presenti in tutto il tratto gastrointestinale, con la notevole eccezione dell'esofago.

Gli eosinofili contribuiscono alla difesa immunitaria contro i microrganismi intestinali, grazie alle molteplici proprietà antimicrobiche.

Altri potenziali ruoli omeostatici degli eosinofili nell'intestino non sono attualmente ben definiti ma possono riguardare la loro capacità di interagire con il sistema neuronale enterico e aumentare la reattività della muscolatura liscia (tramite il rilascio di MBP).

Gli eosinofili sono stati tradizionalmente considerati come cellule effettrici allo stadio terminale, che rispondono direttamente alle infezioni, cioè rilasciando sostanze tossiche per i patogeni (in particolare gli elminti) e provocando l'effetto secondario indesiderato del danno ai tessuti umani.

Tuttavia, le ricerche condotte negli ultimi 30 anni hanno rivelato ruoli aggiuntivi svolti dagli eosinofili, che coinvolgono legami sia con il sistema immunitario innato che con quello adattativo. Questi ruoli includono la presentazione dell'antigene e l'interazione con altre parti del sistema immunitario, come la via del complemento.

I recettori del pattern di riconoscimento sulle membrane cellulari degli eosinofili consentono loro di rilevare la presenza di PAMP come lipopolisaccaridi (LPS) e beta-glucani, componenti della parete cellulare di batteri e funghi, rispettivamente. <sup>93</sup>

Le proteasi di cisteina e serina prodotte da acari e funghi attivano gli eosinofili tramite i recettori attivati dalla proteasi.

TLR-7, il TLR più comune espresso dagli eosinofili, è attivato dall'RNA virale a filamento singolo.

Il contenuto dei granuli specifici degli eosinofili è direttamente citotossico per i patogeni. L'MBP causa la rottura delle membrane cellulari a causa della sua natura altamente basica.

L'ECP ha attività antivirale e può anche agglutinare batteri Gram-negativi legandosi a LPS e peptidoglicani. L'EDN è solo leggermente tossico per gli elminti, rispetto a MBP ed ECP. Tuttavia, l'EDN riduce

<sup>92</sup> McBrien CN, Menzies-Gow A.

The Biology of Eosinophils and Their Role in Asthma.

Front Med (Lausanne). 2017;4:93. Published 2017 Jun 30. doi:10.3389/fmed.2017.00093

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5491677/>

<sup>93</sup> Ravin KA, Loy M.

The Eosinophil in Infection.

Clin Rev Allergy Immunol. 2016 Apr;50(2):214-27. doi: 10.1007/s12016-015-8525-4. PMID: 26690368.

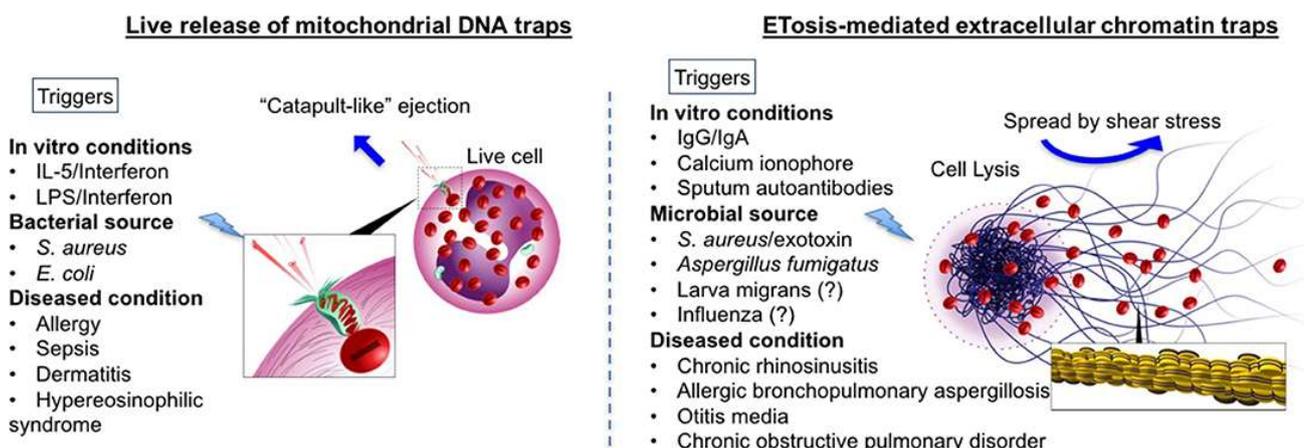
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26690368/>

significativamente l'infettività del virus respiratorio sinciziale di gruppo B, indicando un ruolo nella risposta immunitaria ai virus.

L'**EPO** facilita la generazione di specie tossiche reattive dell'ossigeno.

Oltre a rilasciare proteine citotossiche, è stato dimostrato che gli eosinofili **fagocitano i batteri** (anche se in modo meno efficiente dei neutrofili).

Più recentemente, è stata osservata l'estruzione di "**trappole simili a catapulta**" costituite da DNA mitocondriale e il contenuto di granuli di eosinofili, in risposta a batteri Gram-negativi <sup>94</sup>.



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.02763/full>

**Schema completo di due teorie sulle formazioni di trappole extracellulari di eosinofili: Confronto tra trappole di DNA mitocondriale (mtDNA) (a sinistra) e trappole extracellulari mediate da ETosi (a destra).** Le frecce blu indicano come si diffondono le trappole a livello extracellulari. Nella teoria del mtDNA, l'eosinofilo vivo espelle rapidamente il mtDNA, che è caricato con una proteina granulare eosinofila specifica. Gli mtDNA vengono lanciati e diffusi nello spazio extracellulari con una velocità di almeno 10-20 micrometri s<sup>-1</sup>, mediante un meccanismo sconosciuto [suggerito essere l'energia elastica immagazzinata come le piante che catapultano il polline nell'aria]. Al contrario, le trappole extracellulari generate dall'ETosi sono mediate attraverso il programma di morte cellulare attiva. La disintegrazione dei componenti nucleari e plasmatici durante un evento di citolisi, consente il rilascio di trappole extracellulari a rete a base di cromatina (come illustrato nell'immagine ingrandita in quadrato). Le Trappole extracellulari vengono diffuse mediante un processo passivo. Lo stress da taglio (ad esempio, tosse, respirazione, flusso di fluido compreso il movimento browniano) consente di distribuire granuli liberi (rossi) e trappole extracellulari. È stato anche dimostrato che altri fattori scatenanti come immunoglobuline e microbi rilasciano EET rivestiti di istoni con evidenza di morte cellulare. Sono stati elencati i diversi trigger noti (o riportati in letteratura) per il rilascio di EET tramite entrambi i meccanismi (si prega di notare che questo non è un elenco esclusivo). Per quelli con prove inconcludenti (o con prove solo da modelli murini) sono stati indicati con un punto interrogativo.

Gli eosinofili esprimono recettori per varie proteine del complemento, comprese C3a e C5a, che sono noti per promuovere il reclutamento, lo stravasamento e l'attivazione di eosinofili.

Si ritiene che il complemento faciliti l'aderenza degli eosinofili e il danneggiamento delle larve di nematodi, sebbene lo sviluppo dell'immunità secondaria non sia influenzato nei topi carenti di complemento.

Poiché i funghi sono noti per innescare la produzione di citochine associate a Th2 ed eosinofilia, è stato ipotizzato che l'infezione fungina subclinica/colonizzazione delle vie aeree possa svolgere un ruolo nella genesi di malattie caratterizzate da eosinofilia.

Tali malattie includono **asma eosinofila grave**, nonché condizioni correlate (ad es. **rinosinusite cronica**).

Uno studio su pazienti sottoposti a chirurgia sinusale ha rilevato che il 74% di quelli con condizioni associate a Th2 aveva evidenza di micosi della superficie delle vie aeree, rispetto a solo il 16% dei controlli. Tuttavia, è necessario considerare potenziali fattori confondenti come l'uso di corticosteroidi per via inalatoria e/o sistemici.

<sup>94</sup> Yousefi S, Gold JA, Andina N, Lee JJ, Kelly AM, Kozłowski E, Schmid I, Straumann A, Reichenbach J, Gleich GJ, Simon HU.

Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense.

Nat Med. 2008 Sep;14(9):949-53. doi: 10.1038/nm.1855. PMID: 18690244.

[https://www.researchgate.net/publication/23158997\\_Catapult-like\\_release\\_of\\_mitochondrial\\_DNA\\_by\\_eosinophils\\_contributes\\_to\\_antibacterial\\_defense](https://www.researchgate.net/publication/23158997_Catapult-like_release_of_mitochondrial_DNA_by_eosinophils_contributes_to_antibacterial_defense)

La maggiore suscettibilità alle infezioni virali respiratorie osservata nei pazienti con asma è stata collegata alla ridotta produzione di interferoni di tipo I e III. Gli eosinofili possono contribuire a questa compromissione producendo TGF- $\beta$ , che ha dimostrato di diminuire la capacità delle cellule epiteliali bronchiali di produrre interferoni in risposta al rinovirus umano in vitro.

Il polmone è noto per ospitare comunità di batteri, nota come microbioma polmonare, che è squilibrata in stati di malattia tra cui l'asma. Recentemente sono stati pubblicati dati che suggeriscono un possibile collegamento tra il livello di eosinofilia e l'alterazione della struttura della comunità del microbioma nell'asma.<sup>95</sup>

### Asma e SARS: la connessione eosinofila<sup>96</sup>

All'inizio della pandemia da SARS-Cov-2, è stata fatta un'osservazione in tutte le serie di pazienti:

L'**Eosinopenia** o bassa conta degli eosinofili nel sangue (definita come una riduzione degli eosinofili circolanti  $<0,01 \times 10^9/Lt$ ) era spesso presente nei pazienti COVID-19 ospedalizzati e, cosa più importante, era correlata alla gravità della malattia.<sup>97</sup>

In una serie di pazienti SARS-CoV-2 positivi confermati con RT-PCR (n = 52) e pazienti negativi (n = 53), il tasso di eosinopenia nei pazienti positivi (79%) era molto più alta di quella dei pazienti negativi (36%) (l'eosinopenia può essere quindi utilizzata come parametro di laboratorio per l'identificazione precoce dei pazienti COVID-19).<sup>98</sup>

<sup>95</sup> Sverrild A, Kiilerich P, Brejnrod A, Pedersen R, Porsbjerg C, Bergqvist A, Erjefält JS, Kristiansen K, Backer V. Eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients is associated with an altered airway microbiome. *J Allergy Clin Immunol.* 2017 Aug;140(2):407-417.e11. doi: 10.1016/j.jaci.2016.10.046. Epub 2016 Dec 29. PMID: 28042058. [https://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(16\)32475-7/pdf](https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(16)32475-7/pdf)

<sup>96</sup> <https://www.qeios.com/read/5IY4IF>

<sup>97</sup> Azkur AK, Akdis M, Azkur D, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy.* 2020;75(7):1564-1581. doi:10.1111/all.14364 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/all.14364>

<sup>98</sup> A simple laboratory parameter facilitates early identification of COVID-19 patients Qilin Li, Xiuli Ding, Geqing Xia, Zhi Geng, Fenghua Chen, Lin Wang, Zheng Wang *medRxiv* 2020.02.13.20022830; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.13.20022830>; <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.13.20022830v1.full.pdf>

Sun DW, Zhang D, Tian RH, et al. The underlying changes and predicting role of peripheral blood inflammatory cells in severe COVID-19 patients: A sentinel? *Clin Chim Acta.* 2020;508:122-129. doi:10.1016/j.cca.2020.05.027 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7224669/>

Li Q, Ding X, Xia G, et al. Eosinopenia and elevated C-reactive protein facilitate triage of COVID-19 patients in fever clinic: A retrospective case-control study. *EClinicalMedicine.* 2020;23:100375. Published 2020 May 3. doi:10.1016/j.eclinm.2020.100375 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7196382/>

Xia Z. Eosinopenia as an early diagnostic marker of COVID-19 at the time of the epidemic. *EClinicalMedicine.* 2020;23:100398. Published 2020 Jun 18. doi:10.1016/j.eclinm.2020.100398 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7299848/>

Tan Y, Zhou J, Zhou Q, Hu L, Long Y. Role of eosinophils in the diagnosis and prognostic evaluation of COVID-19. *J Med Virol.* 2020 Sep 11. doi: 10.1002/jmv.26506. Epub ahead of print. PMID: 32915476. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jmv.26506>

Andreozzi F, Hermans C, Yombi JC. Eosinopenia and COVID-19 patients: So specific ?. *EClinicalMedicine.* 2020;24:100439. Published 2020 Jun 27. doi:10.1016/j.eclinm.2020.100439 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7320257/>

Ajeneye F, Olofin O.

In un breve report <sup>99</sup> è stato riportato l'esito del test della conta degli eosinofili in due gruppi di 50 pazienti affetti da COVID-19 e influenza.

Il giorno dell'ammissione in ospedale, 30 pazienti nel gruppo COVID-19 (60%) e 8 pazienti nel gruppo influenza (16%) avevano una conta degli eosinofili di 0 (non rilevabile). Altri 14 pazienti nel gruppo COVID-19 avevano 0 eosinofili durante i 2 giorni successivi; il numero totale di pazienti nel gruppo COVID-19 che avevano 0 eosinofili al momento del ricovero o durante i 2 giorni successivi era 44 (88%). Inoltre, 18 pazienti su 21 (86%) deceduti nel gruppo COVID-19 che inizialmente presentavano eosinopenia sono rimasti eosinopenici rispetto a 13 su 26 (50%) sopravvissuti. Ne segue che l'assenza di una conta degli eosinofili nell'emocromo può aiutare nella diagnosi precoce di COVID-19 e nella diagnosi differenziale con altre infezioni respiratorie come l'influenza.

L'eosinopenia persistente dopo il ricovero era correlata all'elevata gravità della malattia e ai bassi tassi di guarigione.

Ciò è coerente con le conoscenze già a disposizione sulla SARS, una malattia iper-infiammatoria caratterizzata da una massiccia migrazione di cellule infiammatorie e dal rilascio di citochine nel polmone.

Una diminuzione della conta ematica degli eosinofili è stata costantemente osservata in diversi contesti di malattia, tutti con un'origine comune: l'infiammazione. Pertanto, una diminuzione rapida e persistente del numero di eosinofili circolanti è un aspetto distintivo della risposta fisiologica all'infiammazione acuta.

L'eosinopenia è anche un predittore indipendente di morte nei pazienti con polmonite ma non con malattia respiratoria cronica. Infatti, un cut-off di <220 eosinofili/mm<sup>3</sup> è risultato sensibile al 100% per la previsione della sepsi nei pazienti critici.

La fisiopatologia per l'eosinopenia nel COVID-19 potrebbe essere multifattoriale, coinvolgendo la soppressione del rilascio di eosinofili dal midollo osseo, l'inibizione dell'eosinofiloipoiesi, la riduzione delle citochine attivanti gli eosinofili o l'apoptosi diretta indotta dall'interferone.<sup>100</sup> Un altro meccanismo che contribuisce alla deplezione degli eosinofili associata all'infiammazione è il loro reclutamento nei tessuti in seguito al rilascio in circolo di fattori chemoattrattivi.<sup>101</sup>

Gli autori<sup>91</sup> ritengono però che ci sia molto di più di una semplice correlazione con la gravità della malattia infiammatoria da COVID-19 e cioè che la bassa conta ematica periferica (a volte l'assenza) di eosinofili rifletta qualcosa di molto rilevante per la fisiopatologia dell'infiammazione in generale, e più concretamente per l'ARDS che si verifica durante il corso delle complicazioni da COVID-19.

Alcune osservazioni rilevanti dalla letteratura permettono di comprendere quanto ipotizzato:

---

Eosinopenia as a Diagnostic Marker in Covid-19?

Hematol Blood Disord 2020;2(1):31-33.

<https://www.alliedacademies.org/articles/eosinopenia-as-a-diagnostic-marker-in-covid19-12892.html>

<sup>99</sup> Eosinopenia and COVID-19

Fahmina Tanni, et al

The Journal of the American Osteopathic Association, August 2020, Vol. 120, 504-508. doi:<https://doi.org/10.7556/jaoa.2020.091>

<https://jaoa.org/article.aspx?articleid=2765190>

<sup>100</sup> Zhao L, Zhang YP, Yang X, Liu X.

Eosinopenia is associated with greater severity in patients with coronavirus disease 2019

[published online ahead of print, 2020 Jun 16]. Allergy. 2020;10.1111/all.14455. doi:10.1111/all.14455

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7323424/>

<sup>101</sup> Gleich GJ.

Mechanisms of eosinophil-associated inflammation.

J Allergy Clin Immunol. 2000 Apr;105(4):651-63. doi: 10.1067/mai.2000.105712. PMID: 10756213.

[https://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(00\)46762-X/fulltext](https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(00)46762-X/fulltext)

Hassani M, Leijte G, Bruse N, et al.

Differentiation and activation of eosinophils in the human bone marrow during experimental human endotoxemia.

J Leukoc Biol. 2020;1-7. <https://doi.org/10.1002/JLB.1AB1219-493R>

[https://www.researchgate.net/publication/338518575\\_Differentiation\\_and\\_activation\\_of\\_eosinophils\\_in\\_the\\_human\\_bone\\_marrow\\_during\\_experimental\\_human\\_endotoxemia](https://www.researchgate.net/publication/338518575_Differentiation_and_activation_of_eosinophils_in_the_human_bone_marrow_during_experimental_human_endotoxemia)

- Campioni da biopsie polmonari o aspirati broncoalveolari di pazienti affetti da SARS covid-19 mostrano una massiccia infiltrazione di cellule infiammatorie (in particolare macrofagi FCN1) in un magma proteico, ma c'è una notevole assenza di eosinofili nei campioni SARS-Cov o Covid-19.
- L'analisi del profilo sia delle cellule immunitarie che delle citochine nei polmoni della SARS indica un fortissimo spostamento della risposta immunitaria verso un fenotipo infiammatorio Th1.
- Sia l'asma che la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) sono caratterizzati da un processo infiammatorio. Tuttavia, nell'asma, la caratteristica più evidente è l'infiltrazione eosinofila, mentre, nella BPCO, è l'infiltrazione linfocitica T CD8 della parete delle vie aeree.
- In pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), una condizione infiammatoria predominante Th1, numerosi studi hanno dimostrato che maggiore è la conta degli eosinofili nel sangue, maggiore è la risposta positiva ai corticosteroidi inalatori sotto forma di ridotta esacerbazione, suggerendo un effetto causale dell'aumento degli eosinofili sul miglioramento clinico in quei pazienti.
- L'eosinofilia nelle vie aeree è una caratteristica dei pazienti rinitici (anche senza asma) e anche la rinite allergica è sottorappresentata nei pazienti con covid-19.

Finora è stato dimostrato che la massiccia risposta immunitaria che sta alla base della SARS è prevalentemente di tipo proinfiammatorio (principalmente Th1 ma possibili anche altri come i Th17), mentre i segni di una attivazione anche minima del tipo Th2 sembrano essere assenti nella SARS.

Ciò include la mancanza del principale effettore cellulare dell'attivazione Th2: l'eosinofilo.

È quindi ragionevole pensare che sia l'assenza di eosinofili nei campioni istologici polmonari di pazienti COVID-19, sia la bassa conta degli eosinofili nel sangue periferico, insieme alla massiccia presenza di eosinofili in condizioni di "basso rischio di SARS" come asma e rinite, siano indicativi di un **ruolo protettivo** di queste cellule contro la malattia COVID-19 e le sue complicanze.<sup>102</sup>

Inoltre, si può ipotizzare che gli eosinofili attivati presenti per esempio nell'asma, attraverso la massiccia produzione di ribonucleasi ssRNA **potrebbero ostacolare l'infettività virale della SARS-cov2**, il cui genoma, come i membri della famiglia dei coronavirus, è costituito da una singola catena di ssRNA.

### Immunopatologia mediata dagli eosinofili associata al vaccino.<sup>103</sup>

Dagli studi preclinici per i vaccini contro la SARS, è noto che l'immunizzazione con il vaccino SARS-CoV-1 inattivato provoca infiltrazione eosinofila e immunopatologia polmonare a seguito di riesposizione virale nei topi. Anche l'immunizzazione con l'intera proteina spike (S), ha innescato un'inflammatione di tipo 2 inclusa l'eosinofilia dopo la provocazione virale nei topi.<sup>104</sup>

<sup>102</sup> Liu S, Zhi Y, Ying S.

COVID-19 and Asthma: Reflection During the Pandemic.

Clin Rev Allergy Immunol. 2020 Aug;59(1):78-88. doi: 10.1007/s12016-020-08797-3. PMID: 32468411.

[https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/wp-content/uploads/2020/07/Liu2020\\_Article\\_COVID-19AndAsthmaReflectionDur.pdf](https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/wp-content/uploads/2020/07/Liu2020_Article_COVID-19AndAsthmaReflectionDur.pdf)

Ciprandi G, Licari A, Filippelli G, Tosca MA, Marseglia GL.

Children and adolescents with allergy and/or asthma seem to be protected from coronavirus disease 2019.

Ann Allergy Asthma Immunol. 2020;125(3):361-362. doi:10.1016/j.anai.2020.06.001

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7447212/>

<sup>103</sup> Simon HU, Karaulov AV, Bachmann MF.

Strategies to Prevent SARS-CoV-2-Mediated Eosinophilic Disease in Association with COVID-19 Vaccination and Infection.

Int Arch Allergy Immunol. 2020;181(8):624-628. doi:10.1159/000509368

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7360494/>

Lindsley AW, Schwartz JT, Rothenberg ME.

Eosinophil responses during COVID-19 infections and coronavirus vaccination.

J Allergy Clin Immunol. 2020;146(1):1-7. doi:10.1016/j.jaci.2020.04.021

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194727/>

<sup>104</sup> Bolles M, Deming D, Long K, et al.

*La malattia polmonare mostrava le caratteristiche di un'immunopatologia di tipo Th2 con eosinofili nelle sezioni polmonari, suggerendo un'ipersensibilità che ricordava le descrizioni della reazione immunopatologica di tipo Th2 nei bambini piccoli trattati con un vaccino RSV inattivato e successivamente infettati da RSV naturale. La maggior parte di questi bambini ha avuto una grave malattia con infezione che ha portato ad un'alta frequenza di ricoveri e due decessi. La conclusione di quell'esperienza era chiara, la malattia polmonare da RSV è stata potenziata dalla precedente vaccinazione.*

Studi successivi su modelli animali che si ritiene imitino l'esperienza umana indicano che il vaccino inattivato da RSV induce una maggiore risposta dei linfociti T CD4<sup>+</sup>, principalmente delle cellule Th2 e l'insorgenza di deposizioni di immunocomplessi nei tessuti polmonari.

Questo tipo di risposta tissutale è associata a un aumento delle citochine di tipo 2 comprese IL-4, IL-5 e IL-13 e un afflusso di eosinofili nel polmone infetto. Le sezioni istologiche dei tessuti che mostrano questo tipo di risposta hanno una notevole componente eosinofila negli infiltrati cellulari.

Oltre all'esperienza con l'RSV, la preoccupazione per una risposta inappropriata tra le persone vaccinate con un vaccino SARS-CoV è derivata da esperienze negli animali vaccinati in precedenza con un vaccino contro il coronavirus che hanno poi presentato un aggravamento della malattia alla reinfezione.<sup>105</sup>

Ne segue che l'immunopatologia polmonare con infiltrazione eosinofila potrebbe essere un meccanismo plausibile per il vaccino anti-SARS-Cov-2.

Nella seguente figura è illustrato il possibile meccanismo del potenziamento della patologia polmonare associato agli eosinofili.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194727/>

**Immunità del SARS-CoV.** Vengono mostrate le proteine strutturali della particella virale SARS-CoV e dettagliate risposte immunitarie mediate da TH1 e TH2. La glicoproteina Spike (S) media il legame del virus alla proteina dell'enzima 2 di conversione dell'angiotensina e la successiva fusione/entrata nelle cellule ospiti. I sieri di pazienti in convalescenza hanno rivelato che gli anticorpi anti-proteina nucleocapsidica e anti-proteina S predominano nella risposta immunitaria umorale a SARS-CoV-1, ma che solo gli anticorpi anti-proteina S (specialmente quelli che prendono di mira la regione del dominio di legame del recettore) sono neutralizzanti e protettivi. Le risposte antivirali benefiche sembrano essere collegate all'immunità TH1-asimmetrica, mentre l'immunopotenziamento TH2 in più sistemi di modelli animali è associata a malattia potenziata dalla vaccinazione, che porta all'eosinofilia polmonare. Ad oggi, queste conseguenze potenzialmente avverse sono state osservate solo in sistemi di modelli animale in seguito alla stimolazione virale con alcune formulazioni di vaccini (vedere [Table 1](#)). Sono attualmente in fase di sviluppo vari candidati vaccini contro la SARS-CoV-2 (vedi riquadro), che dovrebbero essere esaminati per verificarne la sicurezza prima della diffusione su vasta scala. CTL, linfociti T citotossici; ssRNA, RNA a filamento singolo.

A double-inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine provides incomplete protection in mice and induces increased eosinophilic proinflammatory pulmonary response upon challenge.

J Virol. 2011;85(23):12201-12215. doi:10.1128/JVI.06048-11

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3209347/>

Tseng CT, Sbrana E, Iwata-Yoshikawa N, et al.

Immunization with SARS coronavirus vaccines leads to pulmonary immunopathology on challenge with the SARS virus

[published correction appears in PLoS One. 2012;7(8). doi:10.1371/annotation/2965cfae-b77d-4014-8b7b-236e01a35492]. PLoS One.

2012;7(4):e35421. doi:10.1371/journal.pone.0035421

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3335060/>

Iwata-Yoshikawa N, Uda A, Suzuki T, et al.

Effects of Toll-like receptor stimulation on eosinophilic infiltration in lungs of BALB/c mice immunized with UV-inactivated severe acute respiratory syndrome-related coronavirus vaccine.

J Virol. 2014;88(15):8597-8614. doi:10.1128/JVI.00983-14

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4135953/>

<sup>105</sup> Tseng CT, Sbrana E, Iwata-Yoshikawa N, et al.

Immunization with SARS coronavirus vaccines leads to pulmonary immunopathology on challenge with the SARS virus

[published correction appears in PLoS One. 2012;7(8). doi:10.1371/annotation/2965cfae-b77d-4014-8b7b-236e01a35492]. PLoS One.

2012;7(4):e35421. doi:10.1371/journal.pone.0035421

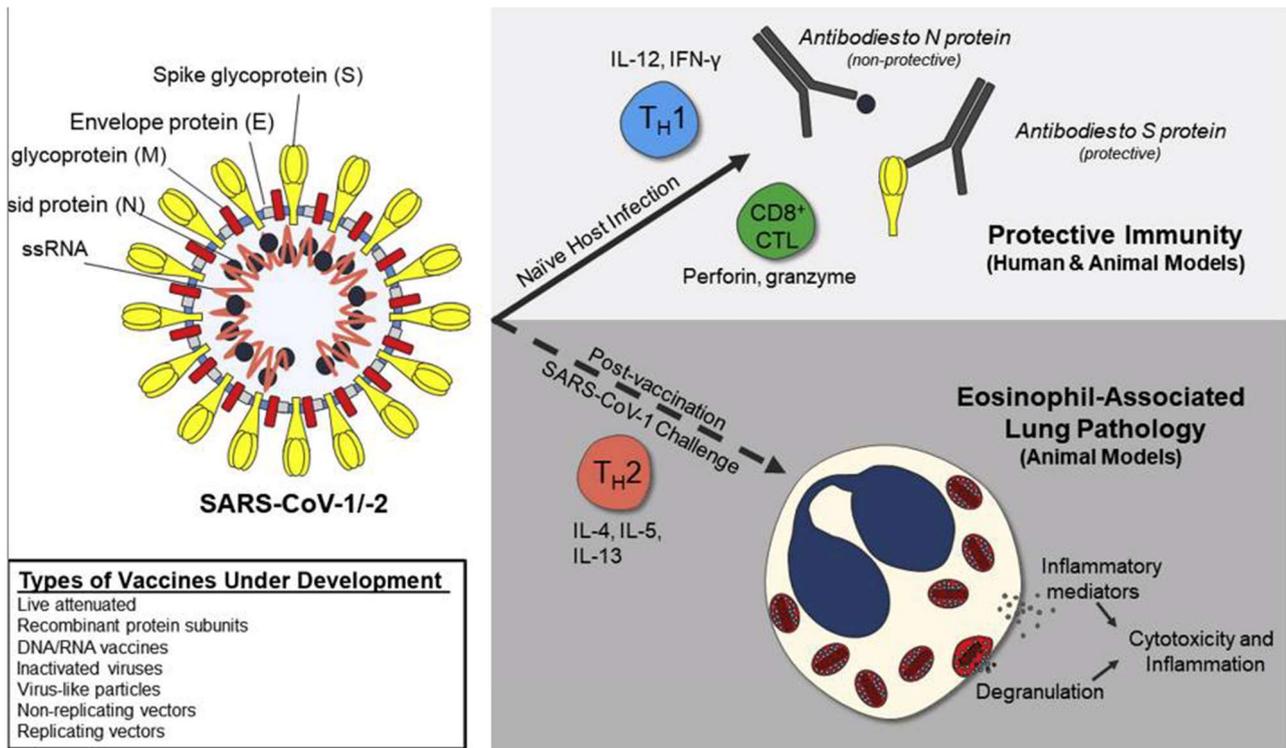
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3335060/>

Lee, W.S., Wheatley, A.K., Kent, S.J. et al.

Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies.

Nat Microbiol 5, 1185–1191 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41564-020-00789-5>

<https://www.nature.com/articles/s41564-020-00789-5>



Un elemento chiave dell'immunopatologia eosinofila è quindi la comparsa di infiltrati infiammatori costituiti da cellule mononucleate, in particolare eosinofili, nelle sezioni istopatologiche dei polmoni o del fegato di animali da esperimento vaccinati, a seguito della stimolazione con i virus infettivi.<sup>106</sup>

L'importanza degli eosinofili polmonari ha portato alcuni ricercatori a concludere che il potenziamento immunitario avviene attraverso l'immunità di tipo Th2.

In effetti, un documento intitolato "*Consensus considerations on the assessment of the risk of disease enhancement with COVID-19 vaccines: Outcome of a Coalition for Epidemic Preparedness from the CEPI alliance*"<sup>107</sup>, ha messo in dubbio la sicurezza dell'uso dell'alluminio e altri adiuvanti perchè potrebbero promuovere le risposte Th2.

Inoltre, anche la contaminazione di proteine esogene da terreni contenenti siero (es. BSA) nella preparazione del vaccino o stock virali può spiegare lo spostamento Th2 osservato in alcuni esperimenti.<sup>108</sup>

Va sottolineato che, sebbene l'epidemia di COVID-19 in corso ponga una nuova enfasi sulla necessità di un vaccino SARS-CoV-2 efficace, la sicurezza deve essere un obiettivo centrale per qualsiasi vaccino progettato per uso generale. Gli attuali rapporti clinici mostrano che la maggior parte (fino all'81%) dei pazienti con COVID-

<sup>106</sup> Hotez PJ, Bottazzi ME, Corry DB. The potential role of Th17 immune responses in coronavirus immunopathology and vaccine-induced immune enhancement. *Microbes Infect.* 2020;22(4-5):165-167. doi:10.1016/j.micinf.2020.04.005 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7162764/>

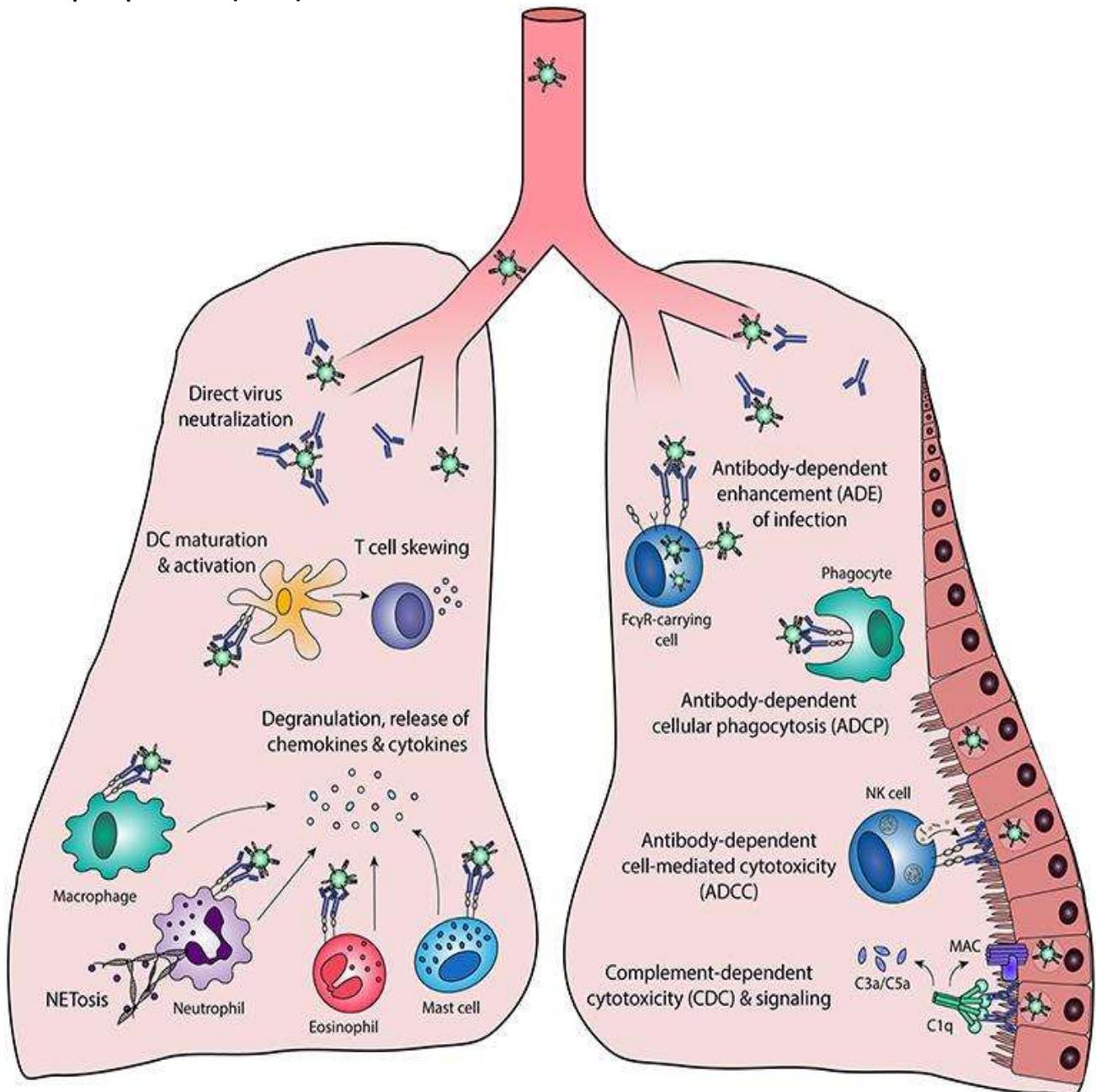
<sup>107</sup> (<https://taskforce.org/brighton-collaboration-cepi-covid-19-web-conference/>; <https://brightoncollaboration.us/brighton-collaboration-cepi-covid-19-web-conference/>)

<sup>108</sup> Immunological mechanisms explaining the role of IgE, mast cells, histamine, elevating ferritin, IL-6, D-dimer, VEGF levels in COVID-19 and dengue, potential treatments such as mast cell stabilizers, antihistamines, Vitamin C, hydroxychloroquine, ivermectin and azithromycin Arumugham, Vinu [https://zenodo.org/record/3748304#.X39\\_zXgzbjA](https://zenodo.org/record/3748304#.X39_zXgzbjA) April 11, 2020

19 ha una malattia lieve, e pertanto, gli studi sui candidati devono vaccini dimostrare rigorosamente l'assenza di potenziamento della malattia associata agli eosinofili prima di una diffusione di massa. <sup>109</sup>

### Altri meccanismi effettori immunitari

L'interazione con i recettori Fc può portare all'uccisione delle cellule infettate dal virus attraverso una varietà di meccanismi effettori immunitari, tra cui la **citotossicità cellulo-mediata (ADCC)** e la **fagocitosi cellulare anticorpo-dipendente (ADCP)**.



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00548/full>

**Funzioni effettrici dell'anticorpo mediate da Fc.** Gli anticorpi suscitano una vasta gamma di funzioni effettrici durante le infezioni virali. Questi includono ma non sono necessariamente limitati alle funzioni illustrate in questa figura. DC, cellula dendritica; FcγR, recettore gamma Fc; MAC, complesso di attacco di membrana; Cellula NK, cellula killer naturale.

<sup>109</sup> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194727/>

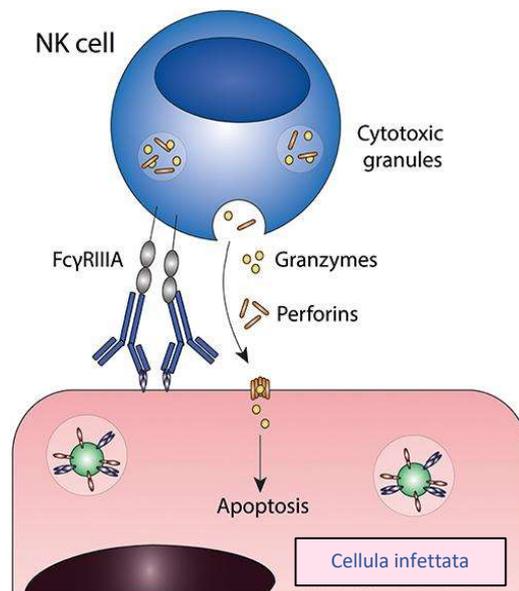
L'attivazione del complemento mediata da anticorpo può portare alla **citotossicità dipendente dal complemento (CDC)**.

Inoltre, sia le interazioni con il recettore Fc che l'attivazione del complemento possono esercitare una vasta gamma di funzioni immunomodulanti.<sup>110</sup>

### Citotossicità cellulo-mediata dipendente dall'anticorpo (Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity (ADCC))

L'ADCC è indotta quando i recettori gamma Fc (FcγR) sulle cellule effettrici innate interagiscono con il dominio Fc degli anticorpi che si legano alle proteine virali presentate sulla superficie delle cellule infettate da virus.

Questa interazione induce il rilascio di granuli citotossici (contenenti perforine e granzimi) con conseguente uccisione di cellule infette<sup>111</sup>. Molteplici cellule effettrici innate, tra cui cellule natural killer (NK), neutrofili, monociti e macrofagi, sono in grado di indurre l'ADCC in vitro, tuttavia, si ritiene che i più importanti contribuenti all'ADCC in vivo siano le cellule NK, che esprimono solo FcγRIIIA.



<sup>110</sup> Biermann MH, Griffante G, Podolska MJ, et al. Sweet but dangerous - the role of immunoglobulin G glycosylation in autoimmunity and inflammation. *Lupus*. 2016;25(8):934-942. doi:10.1177/0961203316640368 <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0961203316640368>

van Erp EA, Luytjes W, Ferwerda G, van Kasteren PB. Fc-Mediated Antibody Effector Functions During Respiratory Syncytial Virus Infection and Disease. *Front Immunol*. 2019;10:548. Published 2019 Mar 22. doi:10.3389/fimmu.2019.00548 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00548/full>

Zohar T, Alter G. Dissecting antibody-mediated protection against SARS-CoV-2. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(7):392-394. doi:10.1038/s41577-020-0359-5 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7278217/>

Anand SP, Finzi A. Understudied Factors Influencing Fc-Mediated Immune Responses against Viral Infections. *Vaccines (Basel)*. 2019;7(3):103. Published 2019 Aug 30. doi:10.3390/vaccines7030103 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6789852/>

<sup>111</sup> Smyth MJ, Cretney E, Kelly JM, et al. Activation of NK cell cytotoxicity. *Mol Immunol*. 2005;42(4):501-510. doi:10.1016/j.molimm.2004.07.034 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15607806/>

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00548/full>

Citotossicità cellulo-mediata dipendente dall'anticorpo (ADCC). I recettori gamma Fc presenti ad esempio sulle cellule natural killer (NK) coinvolgono le cellule infettate legate agli anticorpi e inducono la morte delle cellule bersaglio attraverso il rilascio di granuli citotossici. FcγRIIIA, recettore gamma Fc IIIA; NK cell, cellula killer naturale

### Fagocitosi cellulare dipendente dall'anticorpo (Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis ADCP)<sup>112</sup>

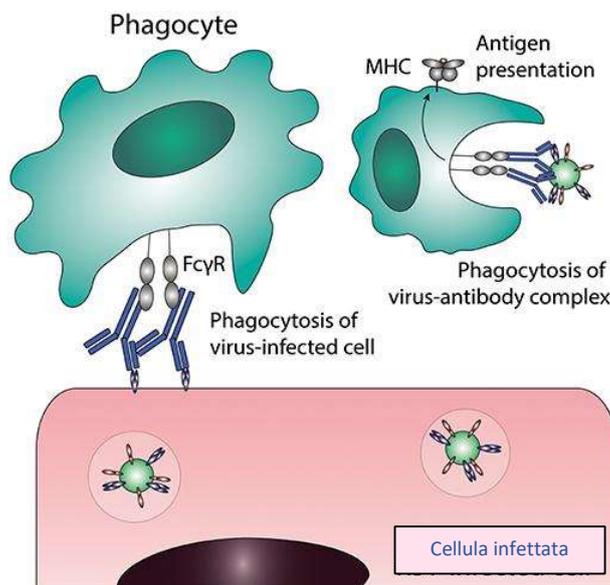
L'ADCP od opsonofagocitosi è la captazione da parte dei fagociti di complessi virus-anticorpi o di cellule infettate da virus a cui si sono legati gli anticorpi sulla superficie cellulare.

Le cellule fagocitiche, inclusi monociti, macrofagi, neutrofili, eosinofili e cellule dendritiche (DC), esprimono FcγRI, FcγRII e FcαRI, che possono mediare l'assorbimento del complesso immunitario.

La capacità fagocitica specifica dei leucociti effettori dipende dal tipo di cellula, dallo stadio di differenziazione e dal livello di espressione di FcγR.

L'ADCP determina l'eliminazione dei complessi immunitari dall'ospite infetto attraverso il trasferimento dei complessi ai lisosomi per la degradazione ed elaborazione dell'antigene, a cui segue la presentazione sulle molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) presente sulla superficie cellulare.

Alcuni virus hanno sfruttato questo meccanismo per infettare i fagociti sfuggendo alla degradazione lisosomiale (Potenziamento dell'infezione dipendente dall'anticorpo).



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00548/full>

**Fagocitosi cellulare anticorpo-dipendente (ADCP).** I fagociti possono eliminare le cellule infettate da virus e i complessi immunitari che sono coinvolti dai recettori gamma Fc attraverso la fagocitosi. L'assorbimento di particelle o proteine virali porta alla presentazione dell'antigene, che induce il sistema immunitario adattativo. FcγR, recettore gamma Fc; MHC, grande complesso di istocompatibilità

### Attivazione del complemento mediata dall'anticorpo

Oltre all'ADCC e all'ADCP, gli anticorpi possono anche indurre l'attivazione del complemento.

La cascata del complemento contribuisce all'eliminazione del patogeno sia direttamente, mediante citotossicità del complemento (CDC), sia indirettamente, attraverso la clearance fagocitica (eliminazione mediata dai fagociti) di bersagli rivestiti di proteine del complemento e l'induzione di una risposta infiammatoria.<sup>113</sup>

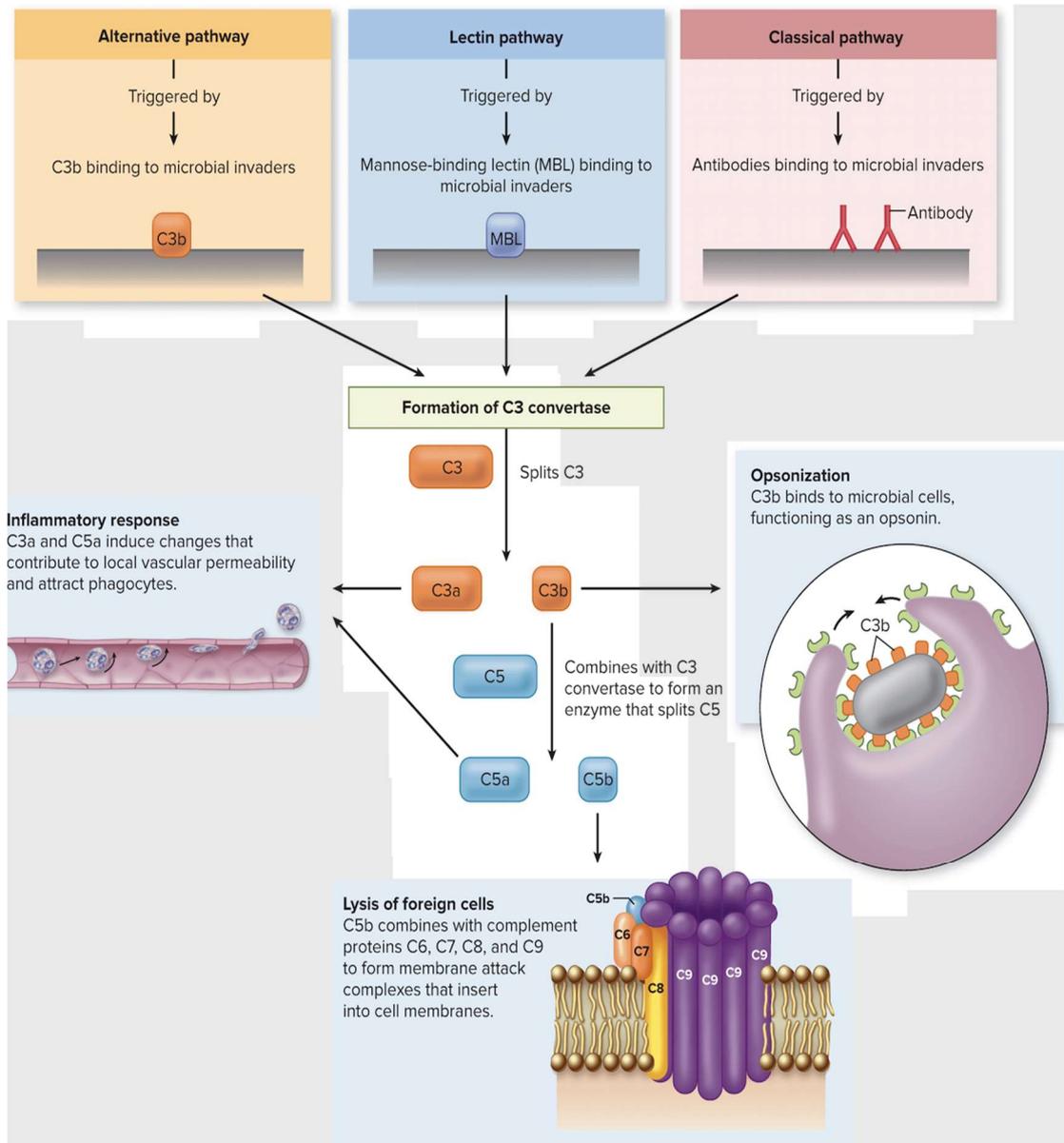
<sup>112</sup> Tay MZ, Wiehe K, Pollara J.

Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis in Antiviral Immune Responses. Front Immunol. 2019;10:332. Published 2019 Feb 28. doi:10.3389/fimmu.2019.00332 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6404786/>

<sup>113</sup> Bajic G, Degn SE, Thiel S, Andersen GR.

Complement activation, regulation, and molecular basis for complement-related diseases. EMBO J. 2015;34(22):2735-2757. doi:10.15252/emboj.201591881

Esistono tre **vie distinte di attivazione del complemento**, la *via classica*, la *via alternativa* e la *via lectinica*, che partendo da momenti differenti conducono alla proteolisi del C3 con conseguente formazione di C5 convertasi. Da questo evento centrale, l'attivazione delle altre componenti procede attraverso una via comune che porta alla formazione del *complesso di attacco della membrana (MAC)*, il quale, legandosi alle membrane cellulari dei microorganismi, ne determina la lisi.



<https://www.pinterest.it/pin/419679259024470245/>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4682646/pdf/EMBJ-34-2735.pdf>

Andrade F.A., Lidani K.C.F., Catarino S.J., Messias-Reason I.J. (2017) Serine Proteases in the Lectin Pathway of the Complement System.

In: Chakraborti S., Dhalla N. (eds) Proteases in Physiology and Pathology. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-2513-6\\_18](https://doi.org/10.1007/978-981-10-2513-6_18)  
[https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-2513-6\\_18](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-2513-6_18)

Merle NS, Church SE, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement System Part I - Molecular Mechanisms of Activation and Regulation. Front Immunol. 2015;6:262. Published 2015 Jun 2. doi:10.3389/fimmu.2015.00262  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4451739/>

Merle NS, Noe R, Halbwachs-Mecarelli L, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement System Part II: Role in Immunity. Front Immunol. 2015;6:257. Published 2015 May 26. doi:10.3389/fimmu.2015.00257  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4443744/>

La **via classica** è attivata dal legame di alcune classi di anticorpi con il relativo antigene e quindi rappresenta un meccanismo dell'immunità umorale specifica.

La **via alternativa** viene attivata direttamente da alcune proteine delle membrane cellulari dei microbi e quindi fa parte dei meccanismi della immunità innata.

La **via della lectina legante il mannosio** utilizza il mannosio come sito di attacco alle membrane dei patogeni.

**Approfondimento Video**  
[Complement System Activation Pathways](#)

Nella seguente figura sono riassunte le funzioni biologiche del sistema del complemento. <sup>114</sup>

**Infiammazione:** l'attivazione del sistema del complemento genera molte anafilatossine, tra cui C3a, C4a e C5a. Il legame di C3a, C4a e C5a ai recettori sui mastociti e sui basofili, porta al rilascio di istamina e altri mediatori vasoattivi.

In risposta all'attivazione da parte delle anafilatossine, i neutrofili rilasciano prostaglandine (PG), specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto (ROS e RNS, rispettivamente) e aumentano l'espressione delle molecole di adesione e chemochinesi. Monociti e macrofagi mostrano una risposta simile e secernono interleuchine 1 e 6 (IL-1 e IL-6).

**Fagocitosi:** iC3b, C4b e principalmente C3b rivestono microrganismi e immunocomplessi, aventi attività opsonizzante. I neutrofili e i macrofagi esprimono i recettori del complemento (CR1, CR2 e CR4), che legano C3b, C4b e iC3b. Questo promuove l'adesione del microrganismo alle cellule ospiti fagocitiche che portano alla fagocitosi.

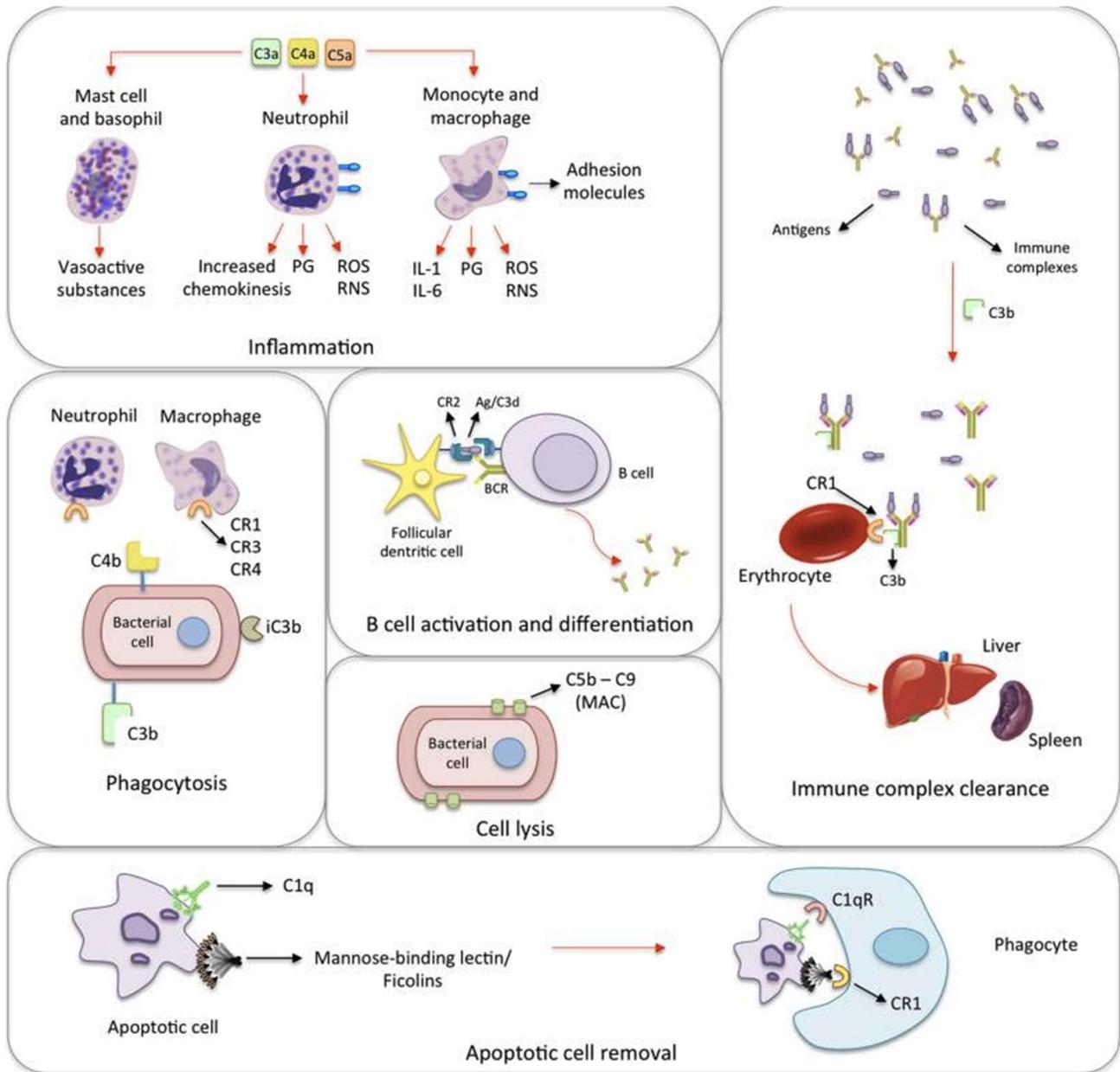
**Attivazione e differenziazione delle cellule B:** il riconoscimento del C3 marcato dall'antigene gioca un ruolo importante nell'attivazione e differenziazione delle cellule B. Il cross-linking tra il recettore del complemento 2 (CR2) e il recettore delle cellule B (BCR) attraverso i complessi C3d-antigene abbassa la soglia di attivazione delle cellule B che porta alla migrazione, all'interazione cellula T / cellula B e al cambio di classe dell'anticorpo.

**Lisi cellulare:** anticorpi specifici, MBL / ficoline e idrolisi spontanea di C3 attivano il complemento sulla superficie dei microrganismi infettivi e portano alla formazione di complessi di attacco di membrana (MAC), che ne provocano la lisi.

**Clearance del complesso immunitario:** gli immunocomplessi attivano il sistema del complemento. Il C3b generato si lega ai complessi e al CR1 presente sulla superficie degli eritrociti. Durante il traffico di eritrociti attraverso le sinusoidi nel fegato e nella milza, i fagociti residenti rimuovono gli immunocomplessi legati che portano alla loro eliminazione.

**Rimozione delle cellule apoptotiche:** la lectina legante il mannosio, le ficoline e il C1q legano i detriti delle cellule apoptotiche, che vengono successivamente rimossi attraverso il legame ai recettori C1qR e CR1 sulle cellule fagocitiche.

<sup>114</sup> Beltrame MH, Catarino SJ, Goeldner I, Boldt AB, de Messias-Reason JJ. The lectin pathway of complement and rheumatic heart disease. *Front Pediatr.* 2015;2:148. Published 2015 Jan 21. doi:10.3389/fped.2014.00148 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4300866/>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4300866/>

L'attivazione della via del complemento classica risulta dal legame della molecola di riconoscimento C1q al dominio Fc di anticorpi legati alle cellule infette da virus.<sup>115</sup>

In seguito al legame di C1q, vengono attivate le proteasi della via classica, portando alla scissione di C2 e C4. Insieme, i prodotti di scissione risultanti formano la convertasi C3 (C4bC2a) che divide C3 in C3a e C3b. Uno dei meccanismi con cui è regolata la cascata del complemento è la scissione del C4b attivo, che funge da marker per l'attivazione del complemento.

<sup>115</sup> Diebold CA, Beurskens FJ, de Jong RN, et al. Complement is activated by IgG hexamers assembled at the cell surface. *Science*. 2014;343(6176):1260-1263. doi:10.1126/science.1248943 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4250092/>

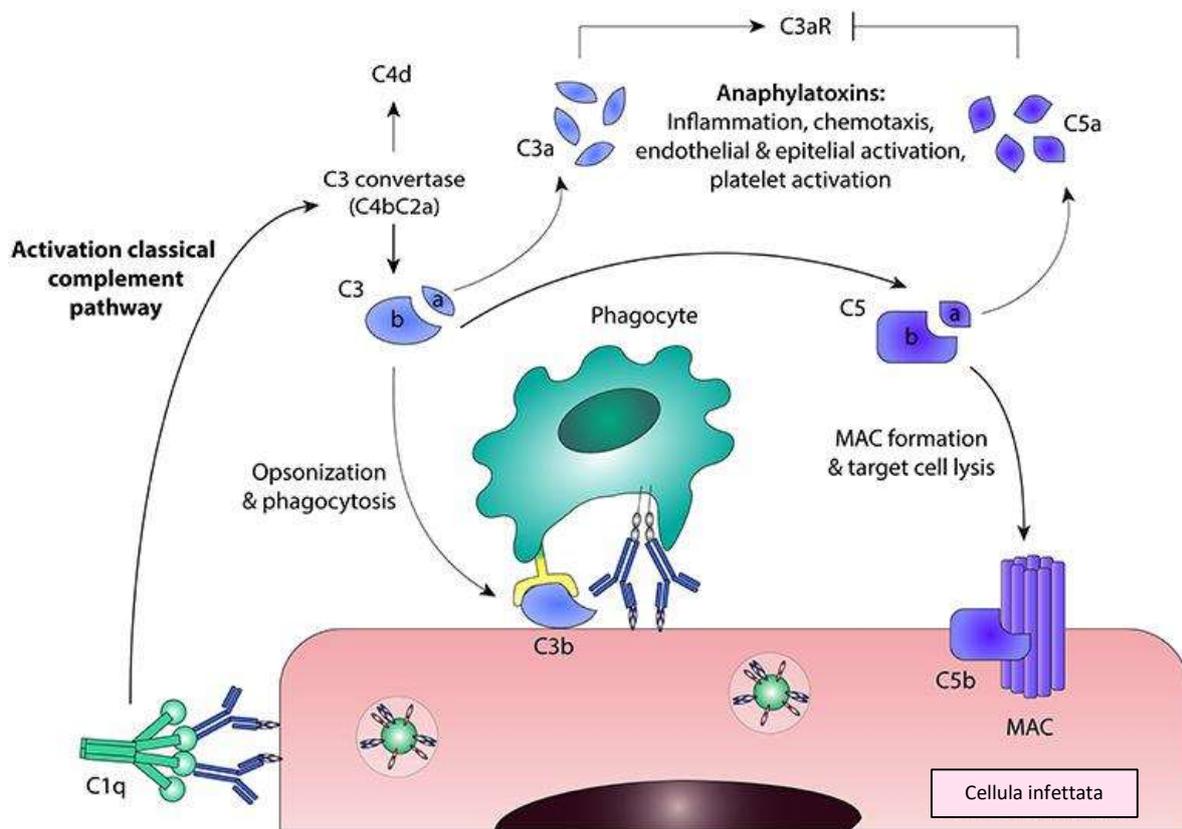
Wang G, de Jong RN, van den Bremer ET, et al. Molecular Basis of Assembly and Activation of Complement Component C1 in Complex with Immunoglobulin G1 and Antigen. *Mol Cell*. 2016;63(1):135-145. doi:10.1016/j.molcel.2016.05.016 [https://www.cell.com/molecular-cell/pdfExtended/S1097-2765\(16\)30179-4](https://www.cell.com/molecular-cell/pdfExtended/S1097-2765(16)30179-4)

Il rilascio delle anafilatossine C3a e C5a stimola un ambiente proinfiammatorio inducendo il reclutamento di cellule effettrici immunitarie e l'attivazione di leucociti, cellule endoteliali, cellule epiteliali e piastrine.<sup>116</sup>

Il C3b altamente reattivo si lega ai patogeni e alle cellule infettate, portando alla clearance del complesso immunitario e alla fagocitosi attraverso i recettori del complemento che si trovano sulle cellule immunitarie.

I componenti terminali del complemento si assemblano nel complesso di attacco della membrana (MAC), determinando la lisi della cellula infetta.

Oltre all'attività antivirale diretta, il sistema del complemento può anche regolare le risposte delle cellule B. È stato riportato che il legame dei complessi immunitari rivestiti con il complemento al recettore 2 del complemento sulle cellule B riduce la soglia di attivazione delle cellule B, promuovendo in tal modo l'immunità adattativa di lunga durata e livelli più elevati di anticorpi<sup>117</sup>.



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00548/full>

**Attivazione del complemento mediata dall'anticorpo.** Il legame di C1q con cellule infettate da virus associate ad anticorpi porta all'attivazione della via del complemento classico. Si forma la convertasi C3 (C4bC2a) che divide C3 in C3a e C3b. Il C4b attivo può essere suddiviso nella forma enzimaticamente inattiva C4d, che funge da marker per l'attivazione del complemento. Più a valle nel percorso del complemento classico, C5 viene suddiviso in C5a e C5b. C3a e C5a sono anafilatossine che stimolano un ambiente pro-infiammatorio, sebbene agiscano in diversi modi: C3a induce la segnalazione di C3aR, mentre C5a inibisce l'espressione di C3aR. La C3b si lega ai patogeni e alle cellule infette, portando alla fagocitosi attraverso i recettori del complemento presenti sulle cellule immunitarie. I componenti del complemento terminale si assemblano nel complesso di attacco della membrana (MAC), con conseguente lisi diretta della cellula infetta. C3aR, recettore C3a; MAC, complesso di attacco di membrana.

<sup>116</sup> Merle NS, Church SE, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement System Part I - Molecular Mechanisms of Activation and Regulation. *Front Immunol.* 2015;6:262. Published 2015 Jun 2. doi:10.3389/fimmu.2015.00262 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4451739/>

Merle NS, Noe R, Halbwachs-Mecarelli L, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement System Part II: Role in Immunity. *Front Immunol.* 2015;6:257. Published 2015 May 26. doi:10.3389/fimmu.2015.00257 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4443744/>

<sup>117</sup> Carroll MC, Iseman DE. Regulation of humoral immunity by complement. *Immunity.* 2012;37(2):199-207. doi:10.1016/j.immuni.2012.08.002 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5784422/>

### Immunomodulazione mediata da anticorpo

Oltre alle funzioni effettrici definite sopra mediate da Fc (ADCC, ADCP, CDC), i complessi immunitari possono anche promuovere la maturazione e l'attivazione delle cellule immunitarie, portando a una vasta gamma di attività effettrici e alla produzione di mediatori pro-infiammatori e immunomodulatori (una limitata panoramica è illustrata nella figura seguente).

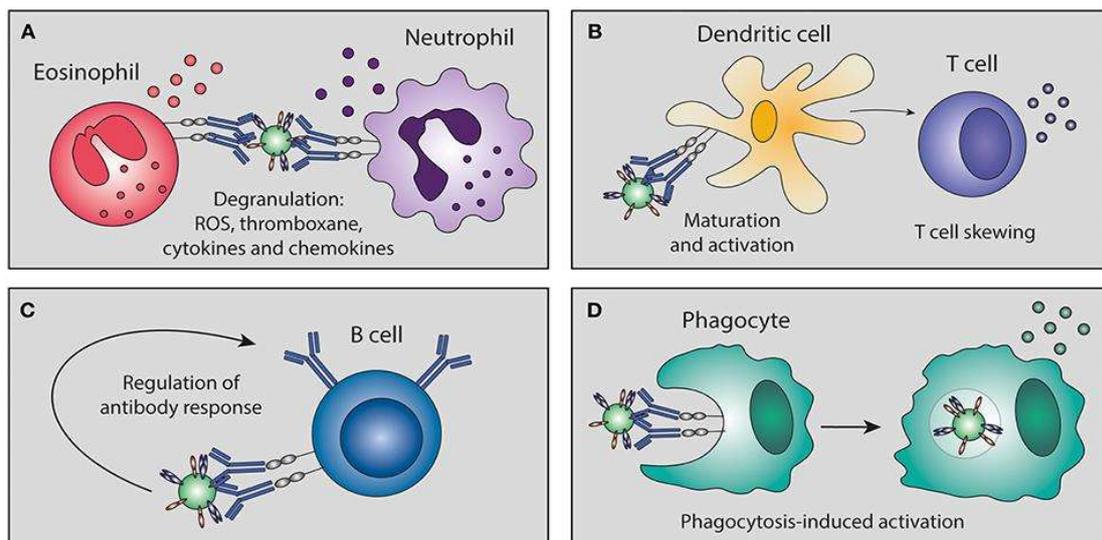
Contrariamente alle risposte pro-infiammatorie causate dai complessi immunitari, l'iniezione con le immunoglobuline endovenose (IVIG) può indurre uno stato anti-infiammatorio.

Come già visto, si ritiene che questo effetto antinfiammatorio sia in parte dovuto alla presenza di anticorpi sializzati nell'IVIG, che inducono l'espressione di FcγRIIB (l'unico FcγR inibitorio) e quindi attenuano la risposta infiammatoria.<sup>118</sup>

I complessi immunitari possono anche regolare la maturazione e l'attivazione cellulare.

L'equilibrio tra inibizione e attivazione delle interazioni con gli FcγR è cruciale nella regolazione delle risposte degli IgG delle cellule B, nell'orientamento della maturazione delle APC e nella presentazione dell'antigene, che può a sua volta modulare l'attivazione delle cellule T (ad es. *gli immunocomplessi costituiti dal tossoide del tetano e dall'antigene di superficie dell'epatite B sono in grado di indurre l'attivazione delle cellule T e la produzione di citochine infiammatorie, inibite dalla somministrazione di IVIG*).<sup>119</sup>

È stato anche dimostrato che i complessi immunitari spostano la risposta immunitaria dei macrofagi verso un fenotipo Th2-simile.<sup>120</sup>



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00548/full>

**Immunomodulazione mediata dagli anticorpi.** I complessi immunitari possono alterare la maturazione delle cellule immunitarie e l'attivazione di granulociti, cellule dendritiche, cellule T, cellule B e fagociti. Questa immunomodulazione può portare a (A) degranulazione, (B) spostamento delle risposte delle cellule T, (C) regolazione delle risposte anticorpali delle cellule B e (D) secrezione indotta dalla fagocitosi dei mediatori immunomodulatori. ROS, specie reattive dell'ossigeno.

<sup>118</sup> Nimmerjahn F, Ravetch JV.

Anti-inflammatory actions of intravenous immunoglobulin.

Annu Rev Immunol. 2008;26:513-533. doi:10.1146/annurev.immunol.26.021607.090232

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18370923/>

<sup>119</sup> Junker F, Krishnarajah S, Qureshi O, Humphreys D, Fallah-Arani F.

A simple method for measuring immune complex-mediated, Fc gamma receptor dependent antigen-specific activation of primary human T cells.

J Immunol Methods. 2018;454:32-39. doi:10.1016/j.jim.2017.12.002

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29258749/>

<sup>120</sup> Anderson CF, Gerber JS, Mosser DM.

Modulating macrophage function with IgG immune complexes.

J Endotoxin Res. 2002;8(6):477-481. doi:10.1179/096805102125001118

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12697094/>

Infine, un ulteriore meccanismo che supporta la malattia mediata da anticorpi è una maggiore attivazione e reclutamento di cellule mieloidi nei polmoni dei pazienti, meccanismo osservato nei macachi vaccinati, in cui l'infiltrazione polmonare mediata da anticorpi da parte dei macrofagi ha portato a difficoltà respiratorie <sup>121</sup>.

### APPROFONDIMENTO

Bernd Sebastian Kamps Christian Hoffmann COVID Reference [www.CovidReference.com](http://www.CovidReference.com)  
Edizione Italiana: Alberto Desogno Stefano Lazzari Grazia Kiesner PAG. 114-15

[https://amedeo.com/CovidReference04\\_it.pdf](https://amedeo.com/CovidReference04_it.pdf)

### Potenziamento della risposta infiammatoria

Dalle attuali conoscenze sulla risposta immunitaria all'infezione da SARS-Cov-2 e da parte di altri virus respiratori, compresi altri CoV è noto che dopo l'infezione, i virus sono in genere rilevati dai PRR – pattern recognition receptors) come l'inflammasoma NLRP3, che segnalano il rilascio di interferoni (IFN) e citochine infiammatorie tra cui IL-1, IL-6 e TNF, le quali attivano una risposta locale e sistemica all'infezione.<sup>122</sup>

Ciò comporta il reclutamento, l'attivazione e la differenziazione di cellule immunitarie innate e adattive, inclusi neutrofili, cellule mieloidi infiammatorie, cellule T CD8 e cellule natural killer (NK).

La risoluzione dell'infezione dipende in gran parte dall'attività citotossica delle cellule T CD8 e delle cellule NK, che consentono la clearance delle cellule infette da virus.<sup>123</sup>

Come già dettagliato, nel caso della patogenesi del COVID-19 la mancata eliminazione delle cellule infette dovuta alla relativa assenza delle cellule citotossiche (linfopenia) nei polmoni e l'esagerata attivazione delle cellule mieloidi (monociti, neutrofili) <sup>124</sup> può favorire uno stato iperinfiammatorio chiamato sindrome da attivazione macrofagica (MAS) o "tempesta di citochine" e, di conseguenza, danni polmonari.<sup>125</sup>

<sup>121</sup> Liu L, Wei Q, Lin Q, et al.

Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. JCI Insight. 2019;4(4):e123158. Published 2019 Feb 21. doi:10.1172/jci.insight.123158 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6478436/>

<sup>122</sup> Kelley N, Jeltema D, Duan Y, He Y.

The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. Int J Mol Sci. 2019;20(13):3328. Published 2019 Jul 6. doi:10.3390/ijms20133328 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6651423/>

Lazear HM, Schoggins JW, Diamond MS.

Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons. Immunity. 2019;50(4):907-923. doi:10.1016/j.immuni.2019.03.025 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6839410/>

<sup>123</sup> Newton AH, Cardani A, Braciale TJ.

The host immune response in respiratory virus infection: balancing virus clearance and immunopathology. Semin Immunopathol. 2016;38(4):471-482. doi:10.1007/s00281-016-0558-0 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4896975/>

<sup>124</sup> Comprehensive Transcriptomic Analysis of COVID-19 Blood, Lung, and Airway

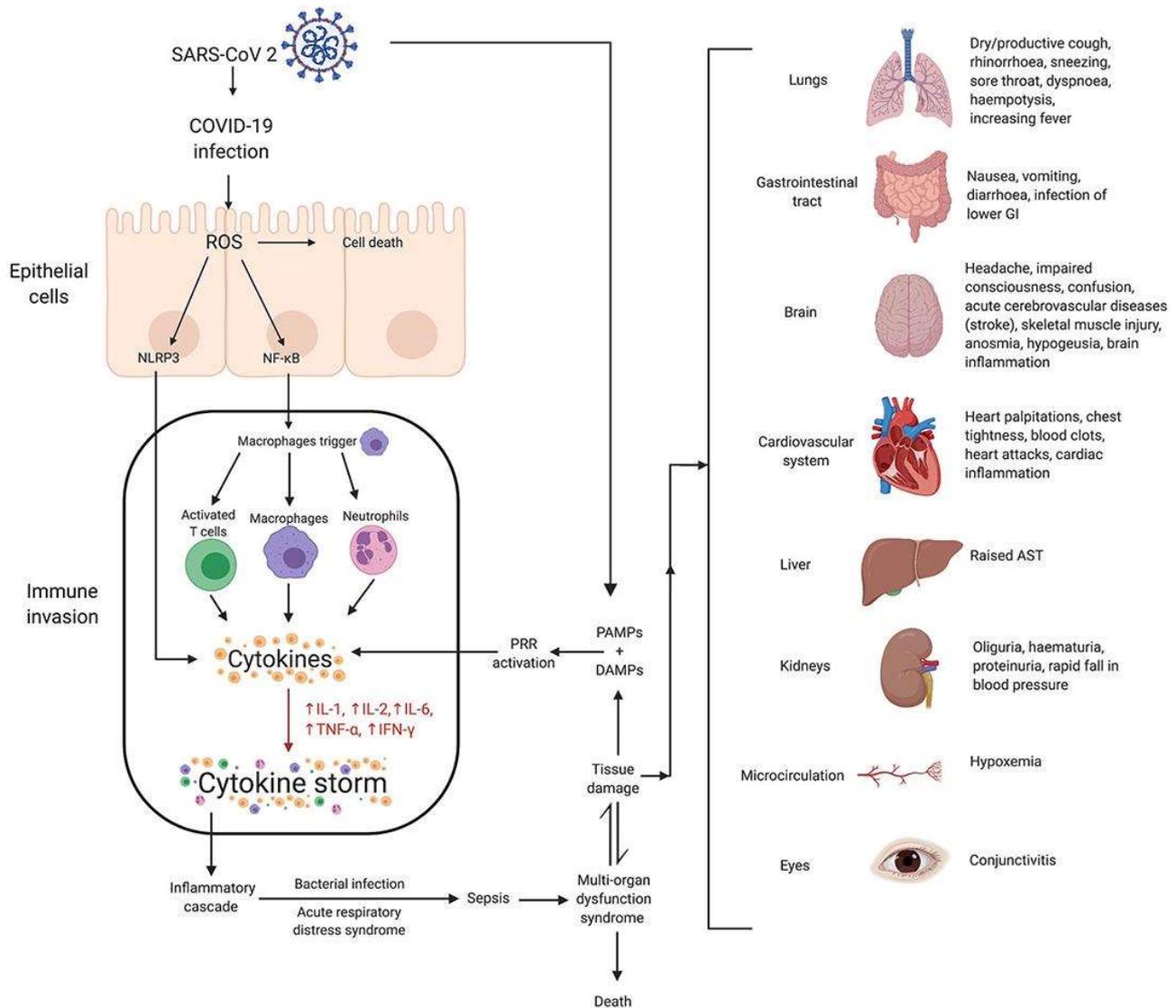
Andrea R. Daamen, bioRxiv 2020.05.28.121889; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.28.121889> <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.05.28.121889v1.full.pdf>

<sup>125</sup> Crayne CB, Albeituni S, Nichols KE, Cron RQ.

The Immunology of Macrophage Activation Syndrome. Front Immunol. 2019;10:119. Published 2019 Feb 1. doi:10.3389/fimmu.2019.00119 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6367262/>

McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, Bridgewood C. The

Role of Cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced Pneumonia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease.



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01648/full>

**Meccanismi della tempesta di citochine associate a SARS-CoV-2 e danni associati.** L'infezione da SARS-CoV 2 può stimolare una risposta immunitaria iperinfiammatoria in cui la produzione mediata da cellule epiteliali di specie reattive dell'ossigeno (ROS) può causare la morte cellulare. I ROS possono anche stimolare la sintesi di NLRP3 e NF-κB che contribuiscono ad aumentare i livelli di citochine e di conseguenza la tempesta di citochine. Ciò provoca essenzialmente invasione immunitaria che può portare a condizioni clinicamente rilevanti come ARDS, sepsi, MODS e potenzialmente persino la morte. Sono mostrati gli organi interessati da MODS e i sintomi associati. Il tratto gastrointestinale inferiore (GI) è ricco di recettori ACE2 e quindi a maggior rischio di infezione a causa del COVID-19. Il 20% dei pazienti con COVID-19 presenta diarrea come sintomi. SARS-CoV-2, sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2; COVID-19, malattia di coronavirus 2019; ROS, specie reattive dell'ossigeno; NLRP3, inflammasoma della proteina del recettore 3-like (NOD); NF-κB, potenziatore della catena leggera kappa del fattore nucleare di cellule B attivate; IL, interleuchina; TNF, fattore di necrosi tumorale; IFN, interferone; PAMP, modelli molecolari associati ai patogeni; DAMP, modelli molecolari associati al danno; PRR, pattern recognition receptors; AST, aspartato aminotransferasi; MODS, sindrome da disfunzione multipla d'organo.

In un recente studio pubblicato in preprint,<sup>126</sup> è stato confrontato il profilo trascrittomico del sangue, polmone e vie aeree nei pazienti con COVID-19, e ne è emerso un modello della risposta all'infezione da SARS-CoV2

Autoimmun Rev. 2020;19(6):102537. doi:10.1016/j.autrev.2020.102537  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7195002/>

Bhaskar S, Sinha A, Banach M, Mittoo S, Weissert R, Kass JS, Rajagopal S, Pai AR and Kutty S (2020) Cytokine Storm in COVID-19—Immunopathological Mechanisms, Clinical Considerations, and Therapeutic Approaches: The REPROGRAM Consortium Position Paper. Front. Immunol. 11:1648. doi: 10.3389/fimmu.2020.01648  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01648/full>

<sup>126</sup> Comprehensive Transcriptomic Analysis of COVID-19 Blood, Lung, and Airway  
 Andrea R. Daamen, Prathyusha Bachali, Katherine A. Owen, Kathryn M. Kingsmore, Erika L. Hubbard, Adam C. Labonte, Robert Robl, Sneha Shrotri, Amrie C. Grammer, Peter E. Lipsky  
 bioRxiv 2020.05.28.121889; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.28.121889>

caratterizzato dall'attivazione sistemica dei Mo (monociti) /MΦ (macrofagi), probabilmente a seguito del rilascio di mediatori pro-infiammatori da parte delle cellule infette.

L'infiltrazione delle cellule immunitarie nel tessuto polmonare e degli alveoli, in particolare neutrofili, LDG (granulociti a bassa densità) e popolazioni proinfiammatorie di Mo/MΦ (in particolare macrofagi infiammatori M1) promuove un ciclo di rilascio di mediatori infiammatori e un'ulteriore attivazione delle cellule mieloidi, che aggrava l'infiammazione del polmone e porta a danni ai tessuti.<sup>127</sup>

Inoltre, dall'analisi trascrittomica, istologica e cellulare di tessuti post mortem COVID-19 e polmonari normali sono stati identificati due distinti modelli di reazione immunopatologica:

- un modello con un'**alta espressione di geni stimolati dall'interferone (ISG) e dalle citochine, alte cariche virali e danno polmonare limitato,**

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.05.28.121889v1.full.pdf>

<sup>127</sup> Xiong Y, Liu Y, Cao L, et al.

Transcriptomic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood mononuclear cells in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):761-770. doi:10.1080/22221751.2020.1747363  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7170362/>

Chua RL, Lukassen S, Trump S, et al.

COVID-19 severity correlates with airway epithelium-immune cell interactions identified by single-cell analysis [published online ahead of print, 2020 Jun 26]. *Nat Biotechnol.* 2020;10.1038/s41587-020-0602-4. doi:10.1038/s41587-020-0602-4  
<https://www.nature.com/articles/s41587-020-0602-4.pdf>

Zhou Z, Ren L, Zhang L, et al.

Heightened Innate Immune Responses in the Respiratory Tract of COVID-19 Patients. *Cell Host Microbe.* 2020;27(6):883-890.e2. doi:10.1016/j.chom.2020.04.017  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7196896/>

Ong EZ, Chan YFZ, Leong WY, et al.

A Dynamic Immune Response Shapes COVID-19 Progression. *Cell Host Microbe.* 2020;27(6):879-882.e2. doi:10.1016/j.chom.2020.03.021  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7192089/>

McKechnie JL, Blish CA.

The Innate Immune System: Fighting on the Front Lines or Fanning the Flames of COVID-19? *Cell Host Microbe.* 2020;27(6):863-869. doi:10.1016/j.chom.2020.05.009  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7237895/>

Vabret N, Britton GJ, Gruber C, et al.

Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity.* 2020;52(6):910-941. doi:10.1016/j.immuni.2020.05.002  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7200337/>

Wang J, Jiang M, Chen X, Montaner LJ.

Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts. *J Leukoc Biol.* 2020;108(1):17-41. doi:10.1002/JLB.3COVR0520-272R  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7323250/>

Guillon A, Hiemstra PS, Si-Tahar M.

Pulmonary immune responses against SARS-CoV-2 infection: harmful or not? [published online ahead of print, 2020 Jul 17]. *Intensive Care Med.* 2020;1-4. doi:10.1007/s00134-020-06170-8  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7366461/>

Merad M, Martin JC.

Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages [published correction appears in *Nat Rev Immunol.* 2020 Jun 2]. *Nat Rev Immunol.* 2020;20(6):355-362. doi:10.1038/s41577-020-0331-4  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7201395/>

- e l'altro con **polmoni gravemente danneggiati, bassa espressione di ISG, basse cariche virali e abbondanti infiltrati immunitari.**<sup>128</sup>

Questi modelli suggeriscono che solo i pazienti con un'espressione di ISG elevata mostrano elevate cariche virali e potrebbero trarre beneficio dagli antivirali, mentre i pazienti con ISG basso mostrano invece basse cariche virali ma una forte attivazione del complemento nei polmoni e quindi potrebbero potenzialmente beneficiare dell'inibizione del complemento.

Poiché l'espressione da ISG bassa ha mostrato oltre a una carica virale inferiore, anche un maggiore accumulo e attivazione delle cellule T CD8<sup>+</sup> nei tessuti e un maggiore danno polmonare e rimodellamento, la fase con ISG bassa potrebbe verificarsi in seguito ad una precedente fase da ISG alta nel corso dell'infezione.

Ciò è stato supportato da una degenza significativamente più lunga nei pazienti COVID-19 da cui sono stati ottenuti campioni di polmone a ISG bassa e questo è in linea con i dati epidemiologici che mostrano che un sottogruppo di pazienti critici COVID-19 soccombe rapidamente alla malattia dopo il ricovero, mentre altri muoiono dopo una terapia intensiva più lunga.

Con il progredire della malattia, la maggiore infiltrazione di cellule immunitarie pro-infiammatorie, il rilascio di mediatori infiammatori e il danno all'alveolo infetto si riflette nella presenza di cellule Mo/MΦ e cellule epiteliali polmonari nelle vie respiratorie.

Il rilascio locale di componenti del complemento e fattori di coagulazione attraverso l'infiltrazione di Mo/MΦ può contribuire sia all'infiammazione che agli eventi trombotici.<sup>129</sup>

Inoltre, l'evidenza di MΦ e AM (MΦ alveolari) infiammatori di origine monocitaria nel compartimento delle vie aeree suggerisce che nel BAL (bronchoalveolar lavage – lavaggio broncoalveolare) siano presenti popolazioni di cellule mieloidi sia dal sangue che dal tessuto polmonare.

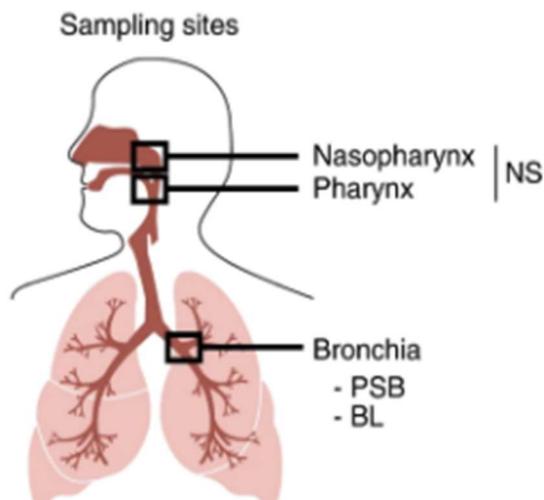
L'accumulo di cellule infettate da virus e il rilascio di allarmine nelle vie aeree sono non solo un marcatore dell'infezione in corso, ma promuovono anche l'infiammazione, prevengono la risoluzione dell'infezione e favoriscono la continuazione della risposta immunitaria innata.

**Pertanto, il campionamento del fluido da BAL sembra essere una strategia efficace per monitorare l'infiammazione e il danno dei tessuti nei pazienti COVID-19.**<sup>130</sup>

<sup>128</sup> Two distinct immunopathological profiles in autopsy lungs of COVID-19  
Ronny Nienhold, et al  
medRxiv 2020.06.17.20133637; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.17.20133637>  
<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.06.17.20133637v1.full.pdf>

<sup>129</sup> FitzGerald ES, Jamieson AM.  
Unique transcriptional changes in coagulation cascade genes in SARS-CoV-2-infected lung epithelial cells: A potential factor in COVID-19 coagulopathies.  
Preprint. bioRxiv. 2020;2020.07.06.182972. Published 2020 Jul 7. doi:10.1101/2020.07.06.182972  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7359516/>

<sup>130</sup> Chua, R.L., Lukassen, S., Trump, S. et al.  
COVID-19 severity correlates with airway epithelium-immune cell interactions identified by single-cell analysis.  
Nat Biotechnol 38, 970–979 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0602-4>  
<https://www.nature.com/articles/s41587-020-0602-4>



<https://www.nature.com/articles/s41587-020-0602-4>

siti di campionamento

tamponi rinofaringei o nasofaringei / faringei (NS) riuniti in pool, spazzole per campioni protette bronchiali (PSB) e lavaggi bronchiali (BL)

Come visto sopra, quando il SARS-CoV-2 continua a propagarsi, la clearance virale è compromessa dalla mancanza di cellule T citotossiche CD8 e cellule NK, e ciò è in parte coerente con la MAS (Macrophage (MΦ) activation syndrome – sindrome da attivazione macrofagica) che si verifica anche in altri contesti, in cui l'attività citotossica disfunzionale delle cellule T CD8 e delle cellule NK provocano una maggiore attivazione delle cellule immunitarie innate e un'intensificata produzione di citochine pro-infiammatorie, molte delle quali sono espresse anche in pazienti COVID-19.<sup>131</sup>

Tuttavia, è stato rilevato che gran parte delle citochine proinfiammatorie vengono rilasciate dopo il punto più basso (nadir) della funzionalità respiratoria, tranne IL-1 e la sua cascata del segnale, indicando questo mediatore come **fattore prognostico valido della gravità della malattia e come target terapeutico**<sup>132</sup>.

<sup>131</sup> Han H, Ma Q, Li C, et al.

Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors.

Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):1123-1130. doi:10.1080/22221751.2020.1770129

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22221751.2020.1770129>

McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, Bridgewood C.

The Role of Cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced Pneumonia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease.

Autoimmun Rev. 2020;19(6):102537. doi:10.1016/j.autrev.2020.102537

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7195002/>

Banu N, Panikar SS, Leal LR, Leal AR.

Protective role of ACE2 and its downregulation in SARS-CoV-2 infection leading to Macrophage Activation Syndrome: Therapeutic implications

[published online ahead of print, 2020 Jun 3]. Life Sci. 2020;256:117905. doi:10.1016/j.lfs.2020.117905

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002432052030655X?via%3Dihub>

Ruscitti P, Berardicurti O, Iagnocco A, Giacomelli R.

Cytokine storm syndrome in severe COVID-19.

Autoimmun Rev. 2020;19(7):102562. doi:10.1016/j.autrev.2020.102562

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7252135/>

Vabret N, Britton GJ, Gruber C, et al.

Immunology of COVID-19: Current State of the Science.

Immunity. 2020;52(6):910-941. doi:10.1016/j.immuni.2020.05.002

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7200337/>

<sup>132</sup> Ong EZ, Chan YFZ, Leong WY, et al.

A Dynamic Immune Response Shapes COVID-19 Progression.

Cell Host Microbe. 2020;27(6):879-882.e2. doi:10.1016/j.chom.2020.03.021

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7192089/>

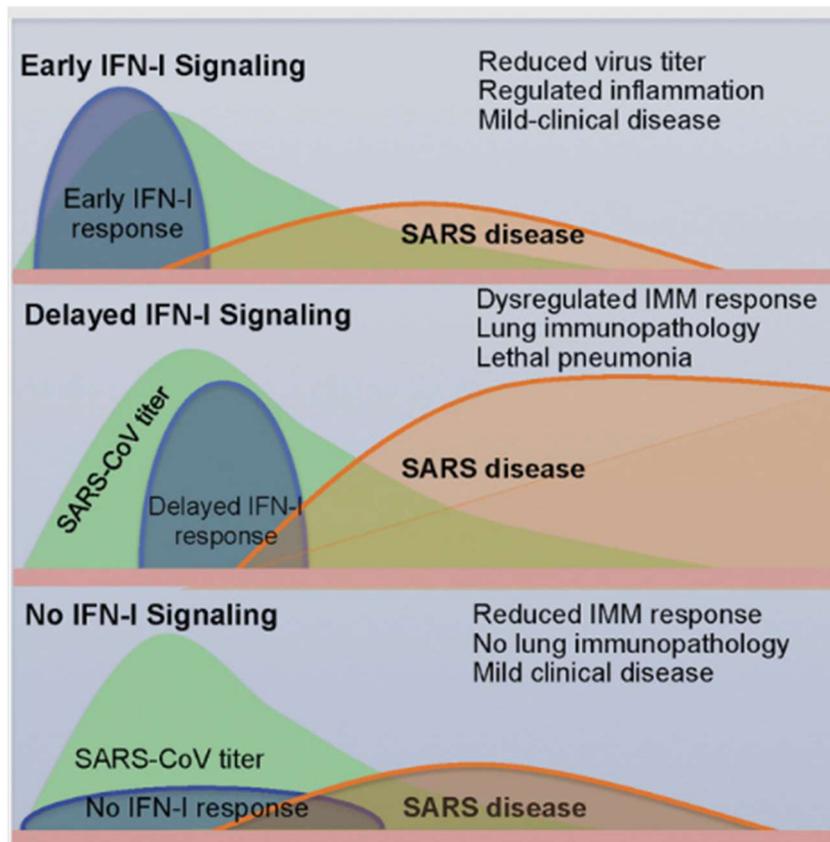
Gli autori propongono che la mancanza di cellule T CD8 attivate e di cellule NK e il successivo fallimento nell'eliminazione delle cellule infette da virus, contribuisca in modo determinante alla risposta patologica guidata dai macrofagi all'infezione da SARS-CoV2 osservata nei pazienti COVID-19.

Un altro importante studio <sup>133</sup> in vivo sulla SARS ha dimostrato che una replicazione virale robusta accompagnata da una risposta ritardata dell'interferone di tipo I (IFN-I) induce le risposte infiammatorie e l'immunopatologia polmonare con una ridotta sopravvivenza.

La risposta ritardata dell'IFN-I promuove l'accumulo di monociti-macrofagi infiammatori patogeni (IMM), con conseguente aumento dei livelli di citochine/chemochine polmonari, perdite vascolari e compromissione delle risposte delle cellule T specifiche del virus.

L'ablazione genetica del recettore IFN- $\alpha\beta$  (IFNAR) o l'esaurimento degli IMM protegge i topi dall'infezione letale, senza influire sulla carica virale.

Questi risultati dimostrano che IFN-I e IMM promuovono l'infezione da SARS-CoV letale e identificano IFN-I e IMM come potenziali bersagli terapeutici in pazienti infetti da coronavirus patogeno e forse altri virus respiratori. <sup>134</sup>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4752723/>

<sup>133</sup> Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, et al. Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice. Cell Host Microbe. 2016;19(2):181-193. doi:10.1016/j.chom.2016.01.007 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4752723/>

<sup>134</sup> Park A, Iwasaki A. Type I and Type III Interferons - Induction, Signaling, Evasion, and Application to Combat COVID-19. Cell Host Microbe. 2020;27(6):870-878. doi:10.1016/j.chom.2020.05.008 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7255347/>

Per concludere, si riporta un modello d'interazione tra SARS-Cov-2 e sistema immunitario proposto da Matricardi et al nell'articolo "*The first, holistic immunological model of COVID-19: implications for prevention, diagnosis, and public health measures*"<sup>135</sup>.

La competizione tra il virus e gli anticorpi naturali può essere esemplificata con tre scenari principali:

- **Persone giovani e sane:** pazienti con un'immunità naturale efficiente, che sono stati esposti a dosi relativamente basse; la loro risposta immunitaria naturale controlla efficacemente l'infezione per un paio di settimane; e la risposta immunitaria adattativa completerà la missione di eliminazione: il paziente rimane asintomatico o sviluppa solo una malattia lieve;
- **Pazienti anziani:** l'esposizione virale è probabilmente più alta (anche la fonte del contagio è una persona anziana) ma l'immunità innata è molto più debole; un numero elevato di particelle virali può raggiungere gli alveoli e replicarsi negli pneumociti di tipo II contemporaneamente o anche molto prima dell'espansione della risposta immunitaria specifica che porta a una polmonite più grave e sintomatica;
- **Pazienti giovani ma altamente esposti:** l'esposizione a una dose virale cumulativa eccessiva (cioè, personale sanitario non protetto) supererà la loro immunità innata efficiente. Le particelle virali raggiungeranno gli alveoli nelle prime fasi e causeranno polmonite sintomatica.

*Ipotesi dell'autoinspirazione virale: la respirazione orale indotta dall'esercizio fisico durante la fase di incubazione del Covid-19 fa sì che le proprie particelle virali contenute nell'aerosol espirato vengano re-inalate e penetrano nelle vie aeree inferiori e negli alveoli. Attraverso questo meccanismo, SARS-Cov-2 può anche diffondersi più facilmente alle aree più profonde dei polmoni (bronchioli alveolari e alveoli) durante un intenso esercizio fisico, e da lì iniziare la sua azione aggressiva.*<sup>136</sup>

Se un numero relativamente basso di particelle virali raggiunge gli alveoli dopo l'instaurazione e l'espansione di una risposta immunitaria adattativa efficiente, il paziente probabilmente non avrà mai bisogno di ossigeno e non subirà complicazioni rilevanti.

Al contrario, se il virus infetta gli alveoli abbastanza presto (cioè già 7 giorni dall'infezione o 2-3 dai primi sintomi), la probabilità di una replicazione più attiva nel polmone è maggiore. Quando viene avviata la risposta specifica, enormi quantità di virus possono interagire con enormi quantità di anticorpi ad alta affinità. In queste circostanze, l'immunopatologia può contribuire al danno tissutale e all'insufficienza d'organo in base ai seguenti eventi:

- La **via classica del complemento** può essere attivata da immunocomplessi formati da SARS-CoV-2 e IgG o IgM specifiche. L'attivazione del complemento provoca il rilascio di componenti pro-infiammatori, vasoattivi e chemiotattici che aumentano l'infiammazione locale;

<sup>135</sup> Matricardi PM, Dal Negro RW, Nisini R.

The first, holistic immunological model of COVID-19: Implications for prevention, diagnosis, and public health measures [published online ahead of print, 2020 May 2]. *Pediatr Allergy Immunol.* 2020;10.1111/pai.13271. doi:10.1111/pai.13271 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/pai.13271>

Mirijello A, D'Errico MM, La Marca A, Piscitelli P, De Cosmo S.

Comment on Matricardi PM et al: The first, holistic immunological model of COVID-19: Implications for prevention, diagnosis, and public health measures [published online ahead of print, 2020 May 17]. *Pediatr Allergy Immunol.* 2020;10.1111/pai.13277. doi:10.1111/pai.13277 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7276801/pdf/PAI-9999-na.pdf>

<sup>136</sup> Komisaruk BR.

Hypothesis: Nasal vs. oral inhalation accounts for the severity of COVID-19. *Med Hypotheses.* 2020;144:110239. doi:10.1016/j.mehy.2020.110239 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7467121/>

- la via della lectina del complemento può essere attivata da immunocomplessi virus-IgA, attraverso il legame di MBL sia all'N-glicano virale che all'IgA;
- l'attivazione del MASP (MBL (mannose-binding lectin) -associated serine proteases) può causare l'attivazione della trombina e della coagulazione. Le vie sia classiche che lectiniche dell'attivazione del complemento sulla membrana esterna delle cellule infette che rilasciano virus possono causare la deposizione di fattori tardivi del complemento e la formazione del complesso di attacco della membrana che causa danni cellulari e rilascio di componenti cellulari;
- IgG e IgA specifiche non neutralizzanti che legano il virus possono concorrere a un aumento dell'infezione e dell'infiammazione come conseguenza dell'aumento dell'infettività dipendente da anticorpi (ADE). Le Ig con bassa affinità o effetto non neutralizzante possono causare infezione e attivazione dei macrofagi tramite i recettori Fc. Inoltre, il legame delle Ig alla proteina S di SARS-CoV-2 può causare cambiamenti conformazionali che rendono il legame al recettore ACE-2 più efficace per la fusione virale con la membrana cellulare.

L'elevata concentrazione locale di citochine e chemochine che contribuiscono al reclutamento di cellule infiammatorie e alla vasodilatazione, consente alle Ig naturali e alle MBL sieriche di mantenere un circolo vizioso di infiammazione con attivazione del complemento e deposito di immunocomplessi.

In questa ottica, non si può escludere che gli immunocomplessi mediati da MBL o IgM contribuiscano all'attivazione delle piastrine o del fattore tissutale che porta alla coagulazione e alla micro-trombosi che sono state descritte in pazienti COVID-19 con RF (respiratory failure) acuta.

In questa fase della malattia, le IgM naturali e le MBL che circolano nel siero possono non avere alcun ruolo protettivo, ma piuttosto possono contribuire al danno tissutale.

Inoltre, durante questa seconda fase della malattia, anche la risposta adattativa è in progressivo aumento. Questo può essere da un lato protettivo contro l'ulteriore diffusione del virus nei polmoni, ma può anche rafforzare le cascate immunologiche e della coagulazione provocando complicazioni.

La lectina legante il mannosio si lega all'IgA polimerica e avvia la cascata del complemento, una difesa contro gli agenti patogeni invasori nell'immunità della mucosa. Le IgA polimeriche hanno anche un ruolo nell'attivazione del segnale del complemento mediata dalla lectina.

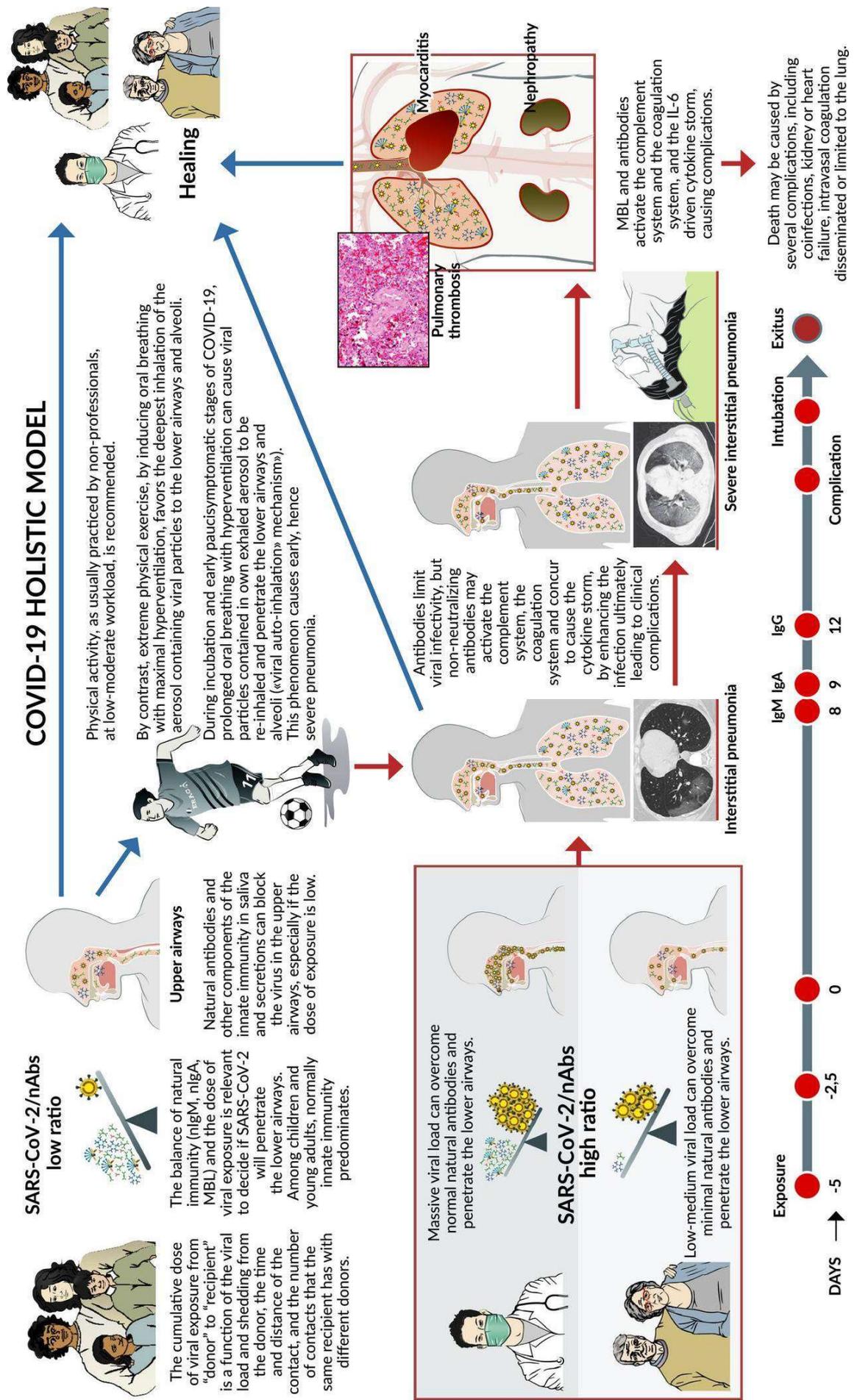
La cascata del complemento collega il sistema immunitario innato e adattivo, proteggendo dagli agenti patogeni invasori durante la prima fase delle malattie.

In questo senso, l'attivazione del complemento mediata da Ab fluisce in parallelo tra MBL e C1q.

Inoltre, può aumentare gli effetti pro-infiammatori della deposizione di IgA con lo stesso meccanismo che si suppone si verifichi nel glomerulo e che si traduca in un danno renale.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/pai.13271>

**Un modello COVID - 19 "quantitativo e tempo/sequenza-dipendente".** - La storia naturale di COVID - 19 causata da SARS - CoV - 2 è estremamente variabile e va dall'infezione asintomatica, alla polmonite e alle complicanze eventualmente fatali. Proponiamo qui il primo modello, che spiega come l'esito dei primi, cruciali 10-15 giorni dopo l'infezione, dipenda dall'equilibrio tra la dose cumulativa di esposizione virale e l'efficacia della risposta immunitaria innata locale (anticorpi IgA e IgM naturali, MBL ). Se SARS - CoV - 2 supera questa barriera immunitaria di prima linea e si diffonde rapidamente dalle vie aeree superiori agli alveoli, allora può replicarsi senza resistenza nei polmoni, prima che venga stabilita una forte difesa immunitaria adattativa. Quando vengono prodotti anticorpi IgM e IgG ad alta affinità, la conseguente grave infiammazione danneggia i polmoni e innesca le cascate dei mediatori (complemento, coagulazione e tempeste di citochine) che portano a complicazioni che possono essere fatali. L'esercizio fisico intenso e il flusso d'aria elevato nei giorni di incubazione e nelle prime fasi del COVID - 19 facilitano la penetrazione diretta delle particelle virali, acquisite dall'aerosol inalato da altri atleti infetti o re-inalate insieme all'aerosol infetto dell'atleta (ipotesi dell'autoinalazione virale), alle vie aeree inferiori e agli alveoli, senza impattare sulle mucose delle vie aeree ricoperte da anticorpi neutralizzanti. Ciò consente al virus di aggirare le efficienti barriere immunitarie di atleti giovani e sani. In conclusione, se raggiunge per primo il virus o la risposta immunitaria adattativa ai polmoni è un fattore cruciale per decidere il destino del paziente



## APPROFONDIMENTO

L'inflammasoma<sup>137</sup>

I modelli molecolari associati ai patogeni (PAMP), sono normalmente riconosciuti da almeno tre PRR: i recettori Toll-like (TLR), le lectine di tipo I C (CTL) e le galectine.<sup>138</sup>

Un PRR appena identificato, descritto per la prima volta nel dettaglio nel 2002, è l'inflammasoma<sup>139</sup>.

<sup>137</sup> Swanson, K.V., Deng, M. & Ting, J.P.

The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics.  
Nat Rev Immunol 19, 477–489 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0165-0>  
<https://www.nature.com/articles/s41577-019-0165-0>

da Costa LS, Outlioua A, Anginot A, Akarid K, Arnoult D.

RNA viruses promote activation of the NLRP3 inflammasome through cytopathogenic effect-induced potassium efflux.  
Cell Death Dis. 2019;10(5):346. Published 2019 Apr 25. doi:10.1038/s41419-019-1579-0  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6483999/>

Zhao C, Zhao W.

NLRP3 Inflammasome-A Key Player in Antiviral Responses.  
Front Immunol. 2020;11:211. Published 2020 Feb 18. doi:10.3389/fimmu.2020.00211  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7040071/>

Shao B-Z, Xu Z-Q, Han B-Z, Su D-F and Liu C

NLRP3 inflammasome and its inhibitors: a review.  
Front. Pharmacol. (2015) 6:262. doi: 10.3389/fphar.2015.00262  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2015.00262/full>

de Zoete MR, Palm NW, Zhu S, Flavell RA.

Inflammasomes.  
Cold Spring Harb Perspect Biol. 2014;6(12):a016287. Published 2014 Oct 16. doi:10.1101/cshperspect.a016287  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4292152/>

Guo H, Callaway JB, Ting JP.

Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics.  
Nat Med. 2015;21(7):677-687. doi:10.1038/nm.3893  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4519035/>

Davis BK, Wen H, Ting JP.

The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases.  
Annu Rev Immunol. 2011;29:707-735. doi:10.1146/annurev-immunol-031210-101405  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4067317/>

Shrivastava G, León-Juárez M, García-Cordero J, Meza-Sánchez DE, Cedillo-Barrón L.

Inflammasomes and its importance in viral infections.  
Immunol Res. 2016;64(5-6):1101-1117. doi:10.1007/s12026-016-8873-z  
<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s12026-016-8873-z.pdf>

<sup>138</sup> Yoo JK, Kim TS, Hufford MM, Braciale TJ.

Viral infection of the lung: host response and sequelae.  
J Allergy Clin Immunol. 2013;132(6):1263-1277. doi:10.1016/j.jaci.2013.06.006  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3844062/>

<sup>139</sup> Sharma D, Kanneganti TD.

The cell biology of inflammasomes: Mechanisms of inflammasome activation and regulation.  
J Cell Biol. 2016;213(6):617-629. doi:10.1083/jcb.201602089  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4915194/>

Hayward JA, Mathur A, Ngo C, Man SM.

Cytosolic Recognition of Microbes and Pathogens: Inflammasomes in Action.  
Microbiol Mol Biol Rev. 2018;82(4):e00015-18. Published 2018 Sep 12. doi:10.1128/MMBR.00015-18  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6298609/>

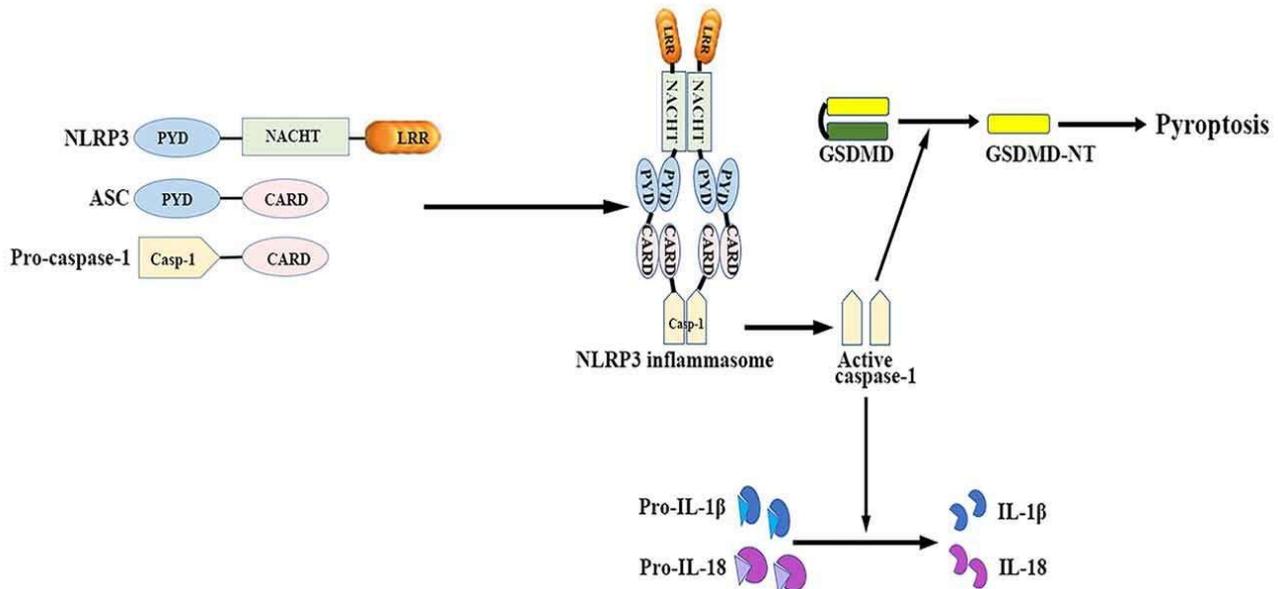
Zheng D, Liwinski T, Elinav E.

Inflammasome activation and regulation: toward a better understanding of complex mechanisms.

Sono stati identificati numerosi inflammasomi, inclusi i sensori NLRP1, NLRP2, NLRP3, AIM2 (double-stranded DNA (dsDNA) sensors absent in melanoma 2) e NLRC4, ma il più caratterizzato è l'**inflammasoma NLRP3** (NLR family pyrin domain containing 3 o NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3) .

L'inflammasoma NLRP3 contiene la proteina NLRP3, una proteina adattatrice speck-like associata all'apoptosi (ASC) e la pro-caspasi-1.<sup>140</sup>

Le interazioni tra queste tre proteine regolano strettamente la funzione dell'inflammasoma al fine di garantire l'attività immunitaria solo quando appropriato.



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2017.00063/full>

**Inflammasoma NLRP3: struttura e funzione.** L'inflammasoma NLRP3 è costituito principalmente dalla molecola del sensore citosolico NLRP3, dalla proteina adattatrice ASC e dalla molecola effettrice pro-caspasi-1. L'assemblaggio e l'attivazione dell'inflammasoma NLRP3 comportano l'attivazione di caspasi-1. La caspasi-1 attivata successivamente porta alla maturazione di IL-1 $\beta$  e IL-18, oltre a mediare una forma di morte cellulare infiammatoria intrinseca chiamata piroptosi. ASC, proteina simile allo speck correlata all'apoptosi contenente un dominio di reclutamento della caspasi; CARD, attivazione caspasi e dominio di reclutamento; GSDMD, gasdermin D; GSDMD-NT, dominio gasdermin-N di GSDMD; IL, interleuchina; LRR, ripetizione ricca di leucina; NACHT (NOD), legame nucleotidico e dominio dell'oligomerizzazione; NLRP3, dominio di oligomerizzazione legante i nucleotidi, ripetizione ricca di leucina e dominio della pirina 3; PYD, dominio solo pirina.

## VIDEO

### Formazione dell'inflammasoma

<https://youtu.be/2812ion3aUk>

<https://www.youtube.com/watch?v=z5WQEfErX4Q>

L'inflammasoma NLRP3 è presente principalmente nelle cellule immunitarie e infiammatorie e si assembla in seguito all'attivazione da parte di stimoli infiammatori; queste cellule includono macrofagi, monociti, DC e neutrofili splenici.

L'attivazione dell'inflammasoma NLRP3 procede in due fasi.<sup>141</sup>

Cell Discov. 2020;6:36. Published 2020 Jun 9. doi:10.1038/s41421-020-0167-x  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7280307/>

<sup>140</sup> Song L, Pei L, Yao S, Wu Y, Shang Y.  
 NLRP3 Inflammasome in Neurological Diseases, from Functions to Therapies.  
 Front Cell Neurosci. 2017;11:63. Published 2017 Mar 9. doi:10.3389/fncel.2017.00063  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5343070/>

<sup>141</sup> Kelley N, Jeltema D, Duan Y, He Y.  
 The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation.

- Il primo passaggio prevede un segnale di innesco o avvio in cui molti PAMP o DAMP sono riconosciuti dai TLR,<sup>142</sup> portando all'attivazione della segnalazione mediata dal fattore nucleare kappa B (NF-κB), che a sua volta regola la trascrizione dei componenti correlati all'inflammasoma, tra cui NLRP3 inattivo, proIL-1β e proIL-18.

**Table 1.** NLRP3 inflammasome activators. Details of individual NLRP3 inflammasome activators are reviewed in (24, 25).

Activator class	Activator	Disease associations
Whole pathogen	<i>Candida albicans</i>	Infection
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> *	Infection
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Infection
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Infection
	Influenza virus	Infection
	Sendai virus	Infection
	Adenovirus	Infection
Pathogen-associated molecules	Bacterial pore-forming toxins	Infection
	Hemozoin	Cerebral malaria
Environmental insults	Silica	Silicosis
	Asbestos	Asbestosis
	Skin irritants	Contact hypersensitivity reactions
Endogenous danger signals	Ultraviolet light	Sunburn
	ATP	Injury or necrotic cell death
	Glucose	Metabolic syndrome
	MSU	Gout
	Calcium pyrophosphate dihydrate (CPPD)	Pseudogout
	Amyloid β	Alzheimer's disease
Adjuvant	Hyaluronan	Injury
	Alum	

\*Viable (52) but not heat-killed (53) *S. cerevisiae* activates the NLRP3 inflammasome.

[https://www.researchgate.net/publication/41028271\\_The\\_NLRP3\\_inflammasome\\_A\\_sensor\\_for\\_metabolic\\_danger/link/09e4150b543e478acb00000/0/download](https://www.researchgate.net/publication/41028271_The_NLRP3_inflammasome_A_sensor_for_metabolic_danger/link/09e4150b543e478acb00000/0/download)

- Il secondo passaggio dell'attivazione dell'inflammasoma è l'oligomerizzazione dell'NLRP3 e il successivo assemblaggio di NLRP3, ASC e procaspase-1 in un complesso. Ciò innesca la trasformazione della procaspasi-1 in caspase-1 la quale poi porta alla produzione e alla secrezione di IL-1β e IL-18 maturi.

Sono stati proposti tre modelli per descrivere il secondo passaggio dell'attivazione dell'inflammasoma, però tutti i modelli presuppongono che l'NLRP3 non interagisca direttamente con gli attivatori esogeni, in linea con la sua capacità di rilevare vari agenti patogeni.

Int J Mol Sci. 2019;20(13):3328. Published 2019 Jul 6. doi:10.3390/ijms20133328

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5343070/>

Sutterwala FS, Haasken S, Cassel SL.

Mechanism of NLRP3 inflammasome activation.

Ann N Y Acad Sci. 2014;1319(1):82-95. doi:10.1111/nyas.12458

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4074217/>

He Y, Hara H, Núñez G.

Mechanism and Regulation of NLRP3 Inflammasome Activation.

Trends Biochem Sci. 2016;41(12):1012-1021. doi:10.1016/j.tibs.2016.09.002

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5123939/>

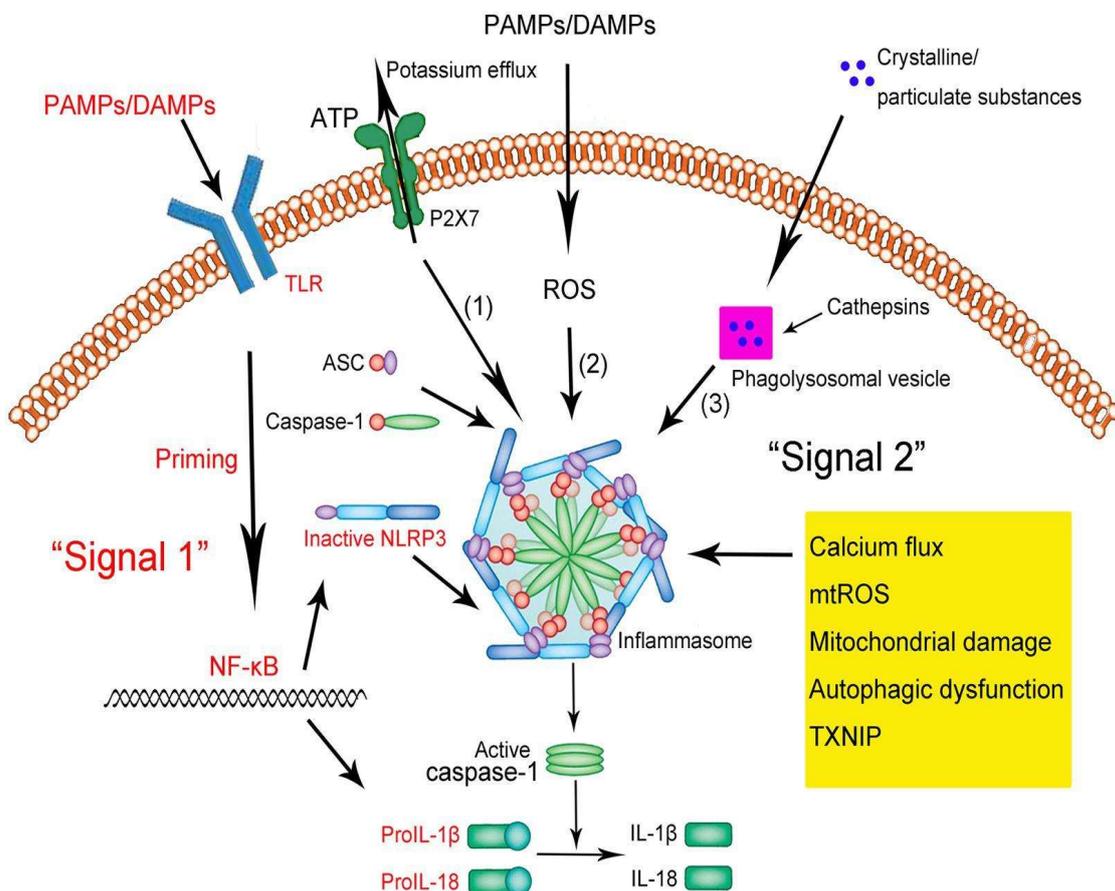
<sup>142</sup> Schroder, Kate & Zhou, Rongbin & Tschoop, Jurg.

The NLRP3 inflammasome: A sensor for metabolic danger?

Science (New York, N.Y.) (2010) 327. 296-300. 10.1126/science.1184003.

[https://www.researchgate.net/publication/41028271\\_The\\_NLRP3\\_inflammasome\\_A\\_sensor\\_for\\_metabolic\\_danger](https://www.researchgate.net/publication/41028271_The_NLRP3_inflammasome_A_sensor_for_metabolic_danger)

- Nel primo modello, l'adenosina trifosfato extracellulare (ATP), che agisce come un agonista dell'NLRP3, induce l'efflusso del potassio (K<sup>+</sup>) attraverso un poro sulla membrana cellulare.
- Nel secondo modello, tutti i PAMP e DAMP noti innescano la generazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), che a loro volta inducono l'assemblaggio dell'inflammasoma NLRP3. Ad esempio, i danni alla NADPH ossidasi e ad altri sistemi ossidativi causati dai ROS mitocondriali possono attivare l'inflammasoma.
- Nel terzo modello, si pensa che l'assemblaggio e l'attivazione dell'inflammasoma NLRP3 siano innescati da sostanze irritanti ambientali (come silice, amianto, β-amiloide e alluminio adiuvante) che formano strutture cristalline o di particolato quando vengono assorbite dai fagociti. Questi aggregati causano la rottura lisosomiale e il rilascio del contenuto attraverso un meccanismo mediato dalla catepsina B.
- Altri fattori che possono attivare l'inflammasoma NLRP3, sono i danni o le disfunzioni mitocondriali causati da sovraccarico mitocondriale di Ca<sup>2+</sup>, la disfunzione lisosomiale, la disfunzione autofagica e l'attività delle proteine che interagiscono con la tioredossina.



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2015.00262/full>

**Illustrazione schematica dell'attivazione dell'inflammasoma NLRP3.** All'esposizione a profili molecolari associati a patogeni (PAMP) o profili molecolari associati al pericolo (DAMP), i recettori Toll-like (TLR) vengono fosforilati e successivamente attivano NF-κB. Nel nucleo, NF-κB promuove la trascrizione di NLRP3, proIL-1β e proIL-18, che, dopo la traduzione, rimangono nel citoplasma in forme inattive. Pertanto, questo segnale (rappresentato in rosso come "Segnale 1") è un evento di innesco. Uno stimolo successivo (mostrato come "Segnale 2" in nero) attiva l'inflammasoma NLRP3 facilitando l'oligomerizzazione della NLRP3 inattiva, la proteina speck-simile (ASC) associata all'apoptosi e la procaspasi-1. Questo complesso, a sua volta, catalizza la conversione della procaspasi-1 in caspasi-1, che contribuisce alla produzione e alla secrezione delle IL-1β e IL-18 mature. Sono stati proposti tre modelli per descrivere il secondo passaggio dell'attivazione dell'inflammasoma: **(1)** L'ATP extracellulare può indurre l'efflusso del K<sup>+</sup>/potassio attraverso un poro purinergico dipendente dal P2X7, che porta all'assemblaggio e all'attivazione dell'inflammasoma NLRP3. Anche il flusso di calcio è coinvolto in questo processo. **(2)** PAMP e DAMP attivano la generazione di ROS che promuovono l'assemblaggio e l'attivazione dell'inflammasoma NLRP3. **(3)** Gli irritanti ambientali fagocitati formano strutture cristalline o particellari intracellulari che portano alla rottura lisosomiale (scatola magenta) e al rilascio di contenuti lisosomiali come la catepsina B. Questi inducono l'assemblaggio e l'attivazione dell'inflammasoma NLRP3. Inoltre, sono stati implicati altri fattori e meccanismi nell'assemblaggio e nell'attivazione dell'inflammasoma NLRP3, tra cui il danno mitocondriale, la disfunzione autofagica e la proteina interagente con tioredossina (TXNIP).

### Mitocondri, NLRP3 inflammasoma e immunità innata

I mitocondri, gli organelli dinamici e la centrale elettrica delle cellule eucariotiche, funzionano come centro metabolico delle cellule e subiscono cicli continui di fusione e fissione.

Recenti scoperte hanno reso sempre più evidente che i mitocondri, essenzialmente coinvolti nella produzione di energia, si sono evoluti come principali piattaforme di segnalazione intracellulare che regolano non solo l'immunità innata ma anche le risposte infiammatorie.

Le perturbazioni della dinamica mitocondriale, tra cui la fusione/fissione, l'architettura della catena di trasporto degli elettroni (ETC) e l'organizzazione delle creste, sono state attivamente correlate nella modulazione dell'attività metabolica e la funzione immunitaria delle cellule immunitarie innate e adattative<sup>143</sup>.

Diverse proteine mitocondriali, identificate nella membrana mitocondriale esterna, come la **proteina di segnalazione antivirale mitocondriale (MAVS)**, insieme con il **DNA mitocondriale** che agisce come pattern molecolare associato al pericolo (DAMP) e i **ROS mitocondriali**, fanno parte di piattaforme chiave di segnalazione antivirale nei vertebrati e quindi orchestrando rispettivamente le attivazioni adattative delle cellule immunitarie.

Il ruolo dei mitocondri nella segnalazione dell'inflammasoma NLRP3 ha acquisito importanza quando i mitocondri hanno dimostrato di essere reclutati nell'inflammasoma in modo dipendente dai microtubuli presenti all'interno del citoplasma dei macrofagi<sup>144</sup>.

Il ruolo primario dei mitocondri nell'orchestrare la morte cellulare infiammatoria o "**piroptosi**", mediata dall'inflammasoma NLRP3, rinforza i mitocondri quali effettori chiave dell'immunità innata.<sup>145</sup>

Le prime prove che evidenziano l'induzione facilitata dall'mtDNA di una risposta infiammatoria, provengono dal lavoro di Collins che ha chiarito che la somministrazione di mtDNA isolato può indurre l'artrite<sup>146</sup>.

<sup>143</sup> Mohanty A, Tiwari-Pandey R, Pandey NR.

Mitochondria: the indispensable players in innate immunity and guardians of the inflammatory response. *J Cell Commun Signal.* 2019;13(3):303-318. doi:10.1007/s12079-019-00507-9 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6732146/>

Tiku V, Tan MW, Dikic I.

Mitochondrial Functions in Infection and Immunity [published correction appears in *Trends Cell Biol.* 2020 Jul 20]. *Trends Cell Biol.* 2020;30(4):263-275. doi:10.1016/j.tcb.2020.01.006 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7126537/>

Kim SJ, Ahn DG, Syed GH, Siddiqui A.

The essential role of mitochondrial dynamics in antiviral immunity. *Mitochondrion.* 2018;41:21-27. doi:10.1016/j.mito.2017.11.007 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5988924/>

<sup>144</sup> Misawa T, Takahama M, Kozaki T, et al.

Microtubule-driven spatial arrangement of mitochondria promotes activation of the NLRP3 inflammasome. *Nat Immunol.* 2013;14(5):454-460. doi:10.1038/ni.2550 <https://www.nature.com/articles/ni.2550>

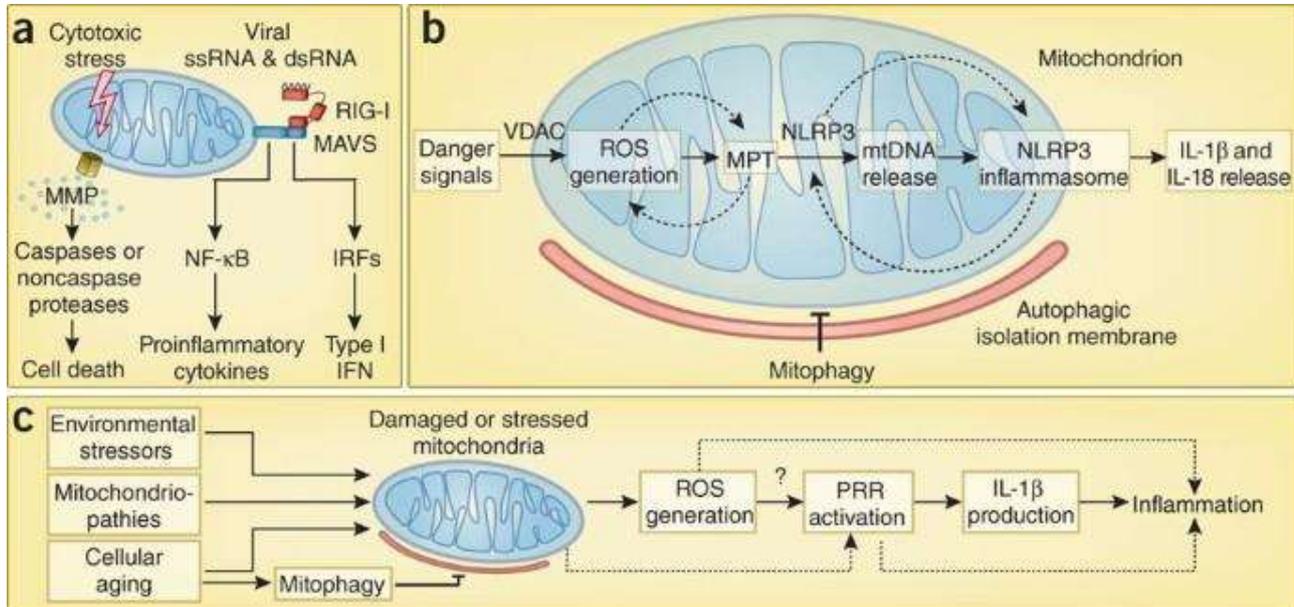
<sup>145</sup> Liu Q, Zhang D, Hu D, Zhou X, Zhou Y.

The role of mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Mol Immunol.* 2018;103:115-124. doi:10.1016/j.molimm.2018.09.010 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30248487/>

<sup>146</sup> Collins LV, Hajizadeh S, Holme E, Jonsson IM, Tarkowski A.

Endogenously oxidized mitochondrial DNA induces in vivo and in vitro inflammatory responses. *J Leukoc Biol.* 2004;75(6):995-1000. doi:10.1189/jlb.0703328 <https://jlb.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1189/jlb.0703328>

Le disfunzioni mitocondriali che portano al rilascio di specie tossiche mitocondriali reattive dell'ossigeno (mROS) e del DNA mitocondriale (mtDNA) hanno permesso di studiare i segnali chiave dell'attivazione dell'inflammasoma NLRP3.<sup>147</sup>



<https://www.nature.com/articles/ni0311-199>

**Morte mitocondriale e segnale di pericolo.** (a) I segnali di stress intracellulare possono indurre la permeabilizzazione della membrana mitocondriale (MMP), che porta al rilascio citosolico di proteine tossiche che sono normalmente confinate nei mitocondri, seguita dall'attivazione di diverse classi di proteasi ed esecuzione del programma di morte cellulare. Durante l'infezione virale, RNA a filamento singolo (ssRNA) e RNA a doppio filamento (dsRNA) stimolano RIG-I e consentono il suo reclutamento sulla membrana mitocondriale esterna da parte della proteina di segnale antivirale mitocondriale (MAVS); il legame di RIG-I alla proteina di segnale antivirale mitocondriale porta all'attivazione dei fattori di regolazione dell'interferone (IRF) e NF-κB, che guidano la produzione rispettivamente dell'interferone di tipo I (IFN) e delle citochine proinfiammatorie.

(b) I segnali di pericolo, inclusi diversi DAMP, possono stimolare la sovrapproduzione di ROS attraverso un meccanismo regolato dal VDAC. I ROS promuovono l'MPT (transizione di permeabilità mitocondriale; un fenomeno che media un'apoptosi intrinseca), favorendo il disaccoppiamento mitocondriale e l'ulteriore generazione di ROS in un circuito autoalimentante. Dopo l'MPT, il PRR NLRP3 facilita il rilascio citosolico di mtDNA, che stimola l'attivazione dell'inflammasoma NLRP3 e la produzione di IL-1β e IL-18. La mitofagia inibisce questo processo rimuovendo i mitocondri che generano ROS. (c) Sono stati associati stress ambientale, malattie mitocondriali (mitocondriopatie) e invecchiamento cellulare con l'inibizione della mitofagia e l'accumulo di mitocondri danneggiati. In questo contesto, l'eccessiva generazione di ROS può innescare l'attivazione di PRR e la produzione di citochine proinfiammatorie, sostenendo in tal modo l'insorgenza dell'infiammazione

**VDAC**<sup>148</sup> (Voltage-dependent anion channels): i canali anionici voltaggio-dipendenti, o porine mitocondriali, sono una classe di canali ionici porinici situati sulla membrana mitocondriale esterna.

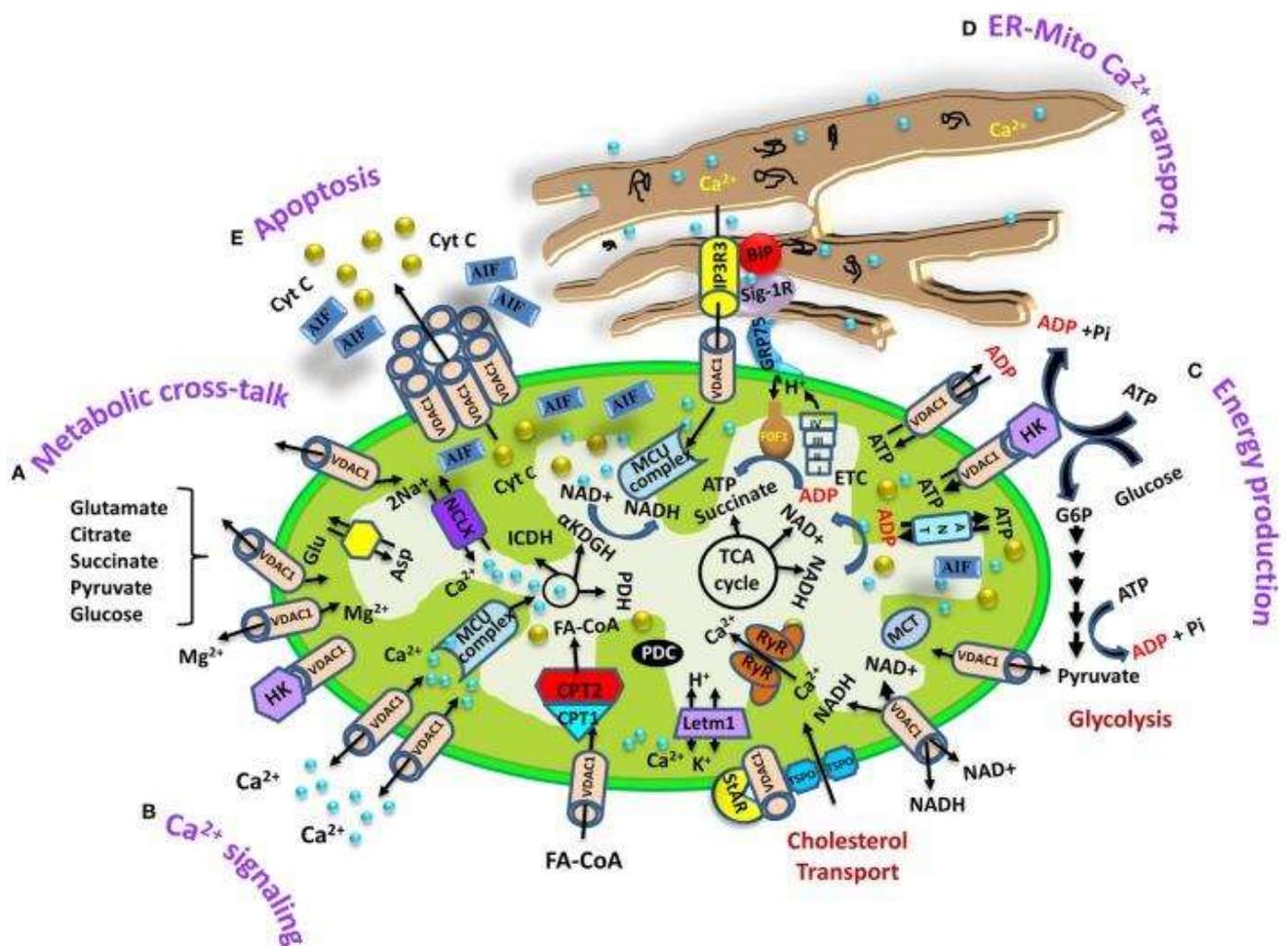
<sup>147</sup> Kepp, O., Galluzzi, L. & Kroemer, G. Mitochondrial control of the NLRP3 inflammasome. *Nat Immunol* 12, 199–200 (2011). <https://doi.org/10.1038/ni0311-199> <https://www.nature.com/articles/ni0311-199> Martinon F.

Signaling by ROS drives inflammasome activation. *Eur J Immunol*. 2010;40(3):616-619. doi:10.1002/eji.200940168 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/eji.200940168>

<sup>148</sup> Fang D, Maldonado EN. VDAC Regulation: A Mitochondrial Target to Stop Cell Proliferation. *Adv Cancer Res*. 2018;138:41-69. doi:10.1016/bs.acr.2018.02.002 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6234976/>

Shoshan-Barmatz V, De S, Meir A. The Mitochondrial Voltage-Dependent Anion Channel 1, Ca<sup>2+</sup> Transport, Apoptosis, and Their Regulation. *Front Oncol*. 2017;7:60. Published 2017 Apr 10. doi:10.3389/fonc.2017.00060 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5385329/>

Il VDAC svolge un ruolo chiave nella regolazione del flusso metabolico ed energetico attraverso la membrana mitocondriale esterna. È coinvolto nel trasporto di ATP, ADP, piruvato, malato e altri metaboliti e quindi comunica ampiamente con gli enzimi dalle vie metaboliche. È stato scoperto che gli enzimi citosolici dipendenti dall'ATP esochinasi, glucochinasi e glicerolo chinasi, nonché l'enzima mitocondriale creatina chinasi, si legano al VDAC. Questo legame li mette in stretta vicinanza all'ATP rilasciato dai mitocondri. In particolare, si presume che il legame dell'esochinasi giochi un ruolo chiave nell'accoppiamento della glicolisi alla fosforilazione ossidativa. Inoltre, il VDAC è un importante regolatore del trasporto di  $Ca^{2+}$  dentro e fuori i mitocondri. Poiché il  $Ca^{2+}$  è un cofattore per enzimi metabolici come piruvato deidrogenasi e isocitrato deidrogenasi, la produzione energetica e l'omeostasi sono entrambe influenzate dalla permeabilità del VDAC al  $Ca^{2+}$ . È stato anche dimostrato che il VDAC ha un ruolo nell'apoptosi, durante la quale modifica il poro di transizione della permeabilità mitocondriale al rilascio di fattori apoptogenici come il citocromo c.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5385329/>

Shoshan-Barmatz V, Maldonado EN, Krelin Y. VDAC1 at the crossroads of cell metabolism, apoptosis and cell stress. Cell Stress. 2017;1(1):11-36. doi:10.15698/cst2017.10.104 <http://www.cell-stress.com/wp-content/uploads/2017/10/2017A-Shoshan-Barmatz-Cell-Stress.pdf>

Colombini M. VDAC: the channel at the interface between mitochondria and the cytosol. Mol Cell Biochem. 2004 Jan-Feb;256-257(1-2):107-15. doi: 10.1023/b:mcbi.0000009862.17396.8d. PMID: 14977174. [https://www.researchgate.net/publication/8687168\\_VDAC\\_The\\_channel\\_at\\_the\\_interface\\_between\\_mitochondria\\_and\\_the\\_cytosol/link/0deec5220b8ad5440e000000/download](https://www.researchgate.net/publication/8687168_VDAC_The_channel_at_the_interface_between_mitochondria_and_the_cytosol/link/0deec5220b8ad5440e000000/download)

Shoshan-Barmatz V, De Pinto V, Zweckstetter M, Raviv Z, Keinan N, Arbel N. VDAC, a multi-functional mitochondrial protein regulating cell life and death. Mol Aspects Med. 2010 Jun;31(3):227-85. doi: 10.1016/j.mam.2010.03.002. Epub 2010 Mar 23. PMID: 20346371. [https://www.researchgate.net/publication/42609099\\_VDAC\\_a\\_multi-functional\\_mitochondrial\\_protein\\_regulating\\_cell\\_life\\_and\\_death](https://www.researchgate.net/publication/42609099_VDAC_a_multi-functional_mitochondrial_protein_regulating_cell_life_and_death)

Rappresentazione schematica del canale anionico voltaggio-dipendente 1 (VDAC1) come proteina multifunzionale coinvolta nel trasporto del  $\text{Ca}^{2+}$  e metaboliti, produzione di energia e associazione strutturale e funzionale dei mitocondri con il reticolo endoplasmatico (ER). *Per la spiegazione della figura vedi articolo*

E' d'interesse sapere che l'alluminio idrossido neutro in forma di precipitato insolubile in tracce è in grado di inibire il VDAC<sup>149</sup> e di conseguenza di danneggiare la funzionalità mitocondriale.

Molto recentemente, è stata riportata l'espulsione cellulare selettiva di mtDNA danneggiato in risposta allo stress ossidativo sostenuto e lieve in cellule epiteliali polmonari vitali (non necrotiche/non apoptotiche) in vitro<sup>150</sup>.

Inoltre, si è vista anche l'espulsione extracellulare dell'mtDNA danneggiato attraverso gli esosomi, che provoca l'infiammazione nelle cellule vicine non stressate e naïve.

Le cascate del segnale e i meccanismi che controllano l'integrità degli organelli come i mitocondri, il reticolo endoplasmatico (ER) e l'involucro nucleare sono componenti centrali delle risposte immunitarie allo stress e all'infiammazione cellulare.

La proteina di segnalazione antivirale mitocondriale (MAVS), una proteina della membrana mitocondriale esterna (OMM), è considerata il principale coordinatore della risposta di segnalazione immunitaria innata alle infezioni ai virus a RNA attraverso l'attivazione delle citochine pro-infiammatorie, NF- $\kappa$ B e IRF-3<sup>151</sup>, ed è un sensore principale dell'infiammazione mediata da mROS<sup>152</sup>. Inoltre, l'associazione di MAVS con NLRP3 aumenta la sua oligomerizzazione portando all'attivazione della caspasi-1<sup>153</sup>.

E' noto anche che la proteina MAVS contribuisce in modo importante all'attività fisiopatologica dell'inflammasoma NLRP3 in vivo e alla successiva produzione di IL-1 $\beta$ , attraverso il reclutamento di NLRP3 nei mitocondri<sup>154</sup>.

<sup>149</sup> [www.life.umd.edu/vdac](http://www.life.umd.edu/vdac)

Dill ET, Holden MJ, Colombini M.  
Voltage gating in VDAC is markedly inhibited by micromolar quantities of aluminum.  
J Membr Biol. 1987;99(3):187-96. doi: 10.1007/BF01995699. PMID: 2447281.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2447281/>

<sup>150</sup> Szczesny B, Marcatti M, Ahmad A, et al.  
Mitochondrial DNA damage and subsequent activation of Z-DNA binding protein 1 links oxidative stress to inflammation in epithelial cells.  
Sci Rep. 2018;8(1):914. Published 2018 Jan 17. doi:10.1038/s41598-018-19216-1  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5772643/>

<sup>151</sup> Seth RB, Sun L, Ea CK, Chen ZJ.  
Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF- $\kappa$ B and IRF 3.  
Cell. 2005;122(5):669-682. doi:10.1016/j.cell.2005.08.012  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16125763/>

Belgnaoui SM, Paz S, Hiscott J.  
Orchestrating the interferon antiviral response through the mitochondrial antiviral signaling (MAVS) adapter.  
Curr Opin Immunol. 2011;23(5):564-572. doi:10.1016/j.coi.2011.08.001  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0952791511001038?via%3Dihub>

<sup>152</sup> Buskiewicz IA, Montgomery T, Yasewicz EC, et al.  
Reactive oxygen species induce virus-independent MAVS oligomerization in systemic lupus erythematosus [published correction appears in Sci Signal. 2017 May 16;10 (479):]. Sci Signal. 2016;9(456):ra115. Published 2016 Nov 29. doi:10.1126/scisignal.aaf1933  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5321043/>

<sup>153</sup> Park S, Juliana C, Hong S, et al.  
The mitochondrial antiviral protein MAVS associates with NLRP3 and regulates its inflammasome activity.  
J Immunol. 2013;191(8):4358-4366. doi:10.4049/jimmunol.1301170  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3848201/>

<sup>154</sup> Subramanian N, Natarajan K, Clatworthy MR, Wang Z, Germain RN.  
The adaptor MAVS promotes NLRP3 mitochondrial localization and inflammasome activation.  
Cell. 2013;153(2):348-361. doi:10.1016/j.cell.2013.02.054

E' importante ricordare che il MAVS è stato localizzato anche nei perossisomi con un ruolo molto preciso nell'espressione precoce ma transitoria di geni antivirali chiamati **geni stimolati dall'interferone (ISG)**.

Il MAVS mitocondriale innesca sia l'IFN-β che l'IFN-λ, mentre il MAVS perossisomiale induce l'IFN-λ in maniera dipendente dal fattore regolatorio 1 (IRF1) dell'interferone. Ne segue che il coordinamento della MAVS sia mitocondriale che perossisomiale è fondamentale per ottenere una risposta antivirale ottimale.<sup>155</sup>

### Difetti nell'autofagia o nella mitofagia mitocondriale<sup>156</sup>

Il termine **autofagia** significa "**auto-mangiarsi**" e si riferisce ai processi attraverso cui il corpo ricicla diversi detriti, tra cui le tossine, e ricicla i componenti cellulari danneggiati attraverso la mediazione del lisosoma.<sup>157</sup> Svolge ruoli importanti nel mantenimento dell'omeostasi e nella prevenzione degli stress nutrizionali, metabolici e mediati dalle infezioni.

La disfunzione autofagica può avere varie conseguenze patologiche, tra cui la progressione tumorale, l'ipervirulenza patogena e la neurodegenerazione.<sup>158</sup>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3632354/>

<sup>155</sup> Dixit E, Boulant S, Zhang Y, et al.  
Peroxisomes are signaling platforms for antiviral innate immunity.  
Cell. 2010;141(4):668-681. doi:10.1016/j.cell.2010.04.018  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3670185/>

Odendall C, Dixit E, Stavru F, et al.  
Diverse intracellular pathogens activate type III interferon expression from peroxisomes.  
Nat Immunol. 2014;15(8):717-726. doi:10.1038/ni.2915  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4106986/>

<sup>156</sup> Gkikas I, Palikaras K, Tavernarakis N.  
The Role of Mitophagy in Innate Immunity.  
Front Immunol. 2018;9:1283. Published 2018 Jun 5. doi:10.3389/fimmu.2018.01283  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6008576/>

Cho DH, Kim JK, Jo EK.  
Mitophagy and Innate Immunity in Infection.  
Mol Cells. 2020;43(1):10-22. doi:10.14348/molcells.2020.2329  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6999710/>

Tal MC, Iwasaki A.  
Mitoxosome: a mitochondrial platform for cross-talk between cellular stress and antiviral signaling.  
Immunol Rev. 2011;243(1):215-234. doi:10.1111/j.1600-065X.2011.01038.x  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3170140/>

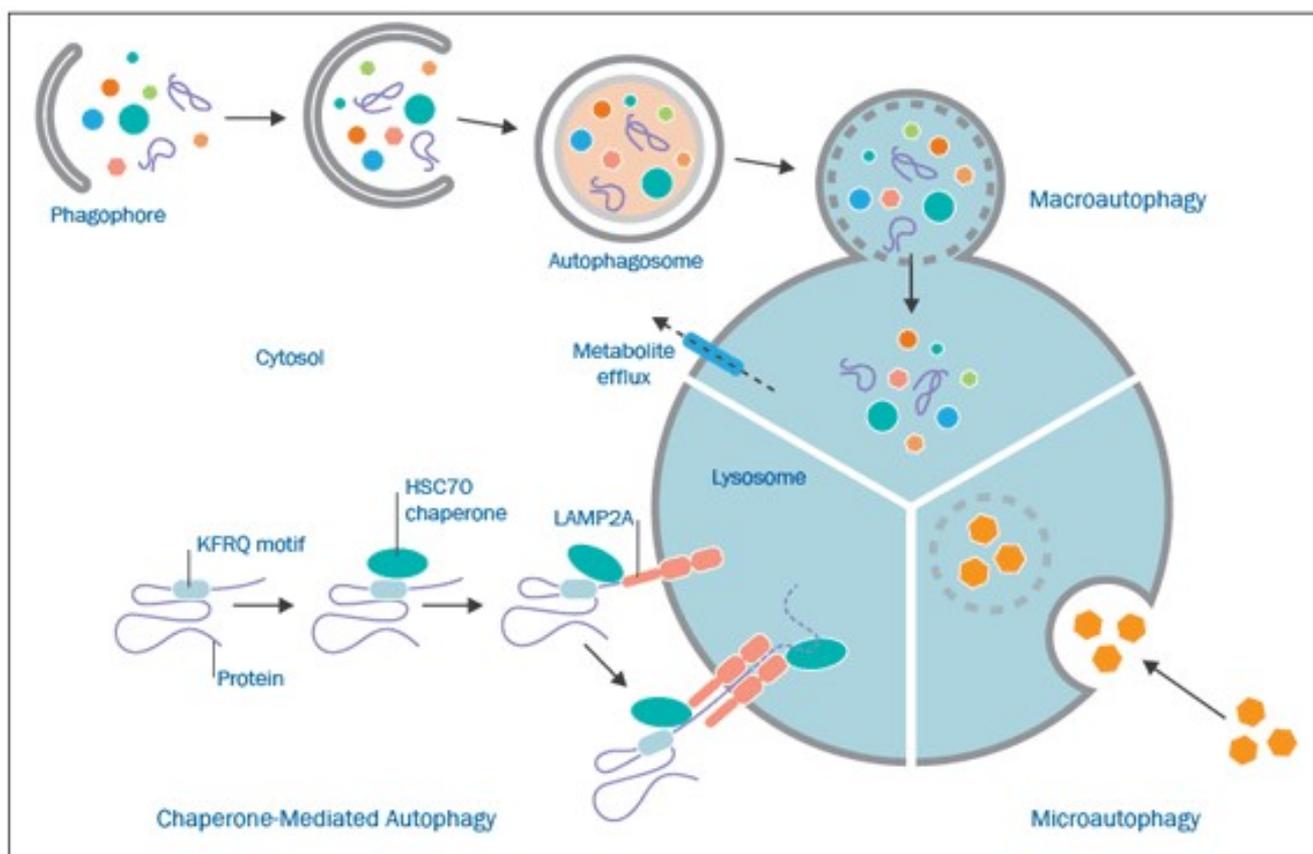
Yuk JM, Silwal P, Jo EK.  
Inflammasome and Mitophagy Connection in Health and Disease.  
Int J Mol Sci. 2020;21(13):4714. Published 2020 Jul 1. doi:10.3390/ijms21134714  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7370205/>

<sup>157</sup> Bento CF, Renna M, Ghislat G, et al.  
Mammalian Autophagy: How Does It Work?  
Annu Rev Biochem. 2016;85:685-713. doi:10.1146/annurev-biochem-060815-014556  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26865532/>

<sup>158</sup> Khandia R, Dadar M, Munjal A, et al.  
A Comprehensive Review of Autophagy and Its Various Roles in Infectious, Non-Infectious, and Lifestyle Diseases: Current Knowledge and Prospects for Disease Prevention, Novel Drug Design, and Therapy.  
Cells. 2019;8(7):674. Published 2019 Jul 3. doi:10.3390/cells8070674  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6678135/>

A seconda della natura del materiale da degradare e riciclare e del percorso dello stesso fino ai lisosomi, vengono distinte tre principali modalità del processo autofagico nelle cellule di mammiferi: la macroautofagia, la microautofagia, e l'autofagia chaperone-mediata (CMA).

- Nella **macroautofagia**, parti di citoplasma vengono sequestrate in vescicole a doppia membrana (autofagosomi) formate de novo, che poi si fonderanno con i lisosomi per la degradazione finale.
- Nella **microautofagia** porzioni di citoplasma vengono internalizzate direttamente nei lisosomi, attraverso il rigonfiamento, l'allungamento e l'invaginazione di aree particolari della membrana lisosomiale; la vescicola intra-lisosomiale sarà poi scissa e il suo contenuto degradato nel lume dei lisosomi.
- L'**autofagia chaperone-mediata**, ad oggi descritta solo in cellule di mammiferi, è un processo autofagico selettivo: singole proteine citosoliche in possesso della sequenza-segnale KFERQ, una volta legate a chaperons citosolici (proteine che assistono il corretto ripiegamento delle proteine- Heat Shock proteins e altre proteine correlate), vengono veicolate alla membrana lisosomiale, traslocate all'interno del lume e infine degradate dalle catepsine.<sup>159</sup>



<http://www.laboratorio-italia.it/wp-content/uploads/autofagia.png>

L'accumulo di mitocondri danneggiati porta ad un aumento della produzione di ROS ed è accompagnato da un aumento dei livelli di calcio citoplasmatico seguito dal rilascio citosolico di mtDNA e l'attivazione dell'inflammasoma.

<sup>159</sup> Maellaro, E.

Autofagia: un processo fisiopatologico di autodigestione cellulare.

Riv Ital Med Lab 14, 136–140 (2018). <https://doi.org/10.1007/s13631-018-0194-x>

[https://www.researchgate.net/publication/326658774\\_Autofagia\\_un\\_processo\\_fisiopatologico\\_di\\_autodigestione\\_cellulare](https://www.researchgate.net/publication/326658774_Autofagia_un_processo_fisiopatologico_di_autodigestione_cellulare)

La rimozione autofagica selettiva o non selettiva dei mitocondri (nota anche come **mitofagia**) provocata dalla perdita del potenziale della membrana mitocondriale ( $\Delta\psi_m$ ) e mirata a controllare la produzione di mROS e la qualità e il turnover mitocondriale, è **indispensabile per il mantenimento dell'omeostasi cellulare** e quando questa clearance autofagica dei mitocondri danneggiati viene ostacolata o è inadeguata, provoca un'attivazione aberrante dell'inflammasoma che porta a una varietà di malattie infiammatorie e neurodegenerative, invecchiamento, miopatie, malattie cardiache e autoimmuni.<sup>160</sup>

E' importante ricordare che **la cloroquina agisce inibendo l'autofagia** e aumentando la produzione di ROS, mentre gli antiossidanti riducono lo stress ossidativo.<sup>161</sup>

L'autofagia/mitofagia selettiva risulta essere molto critica anche nel mantenimento di una funzione mitocondriale continua e sostenuta nei tessuti e negli organi ad alta richiesta di energia come il cuore.

Le aberrazioni dell'attività della catena respiratoria e della produzione di ATP possono causare patologie cardiache con danno cellulare esteso e apoptosi dei cardiomiociti.

La perdita di un adeguato controllo dell'autofagia ha dimostrato di essere coinvolta nella **patogenesi di varie malattie cardiovascolari (CVD)**, tra cui cardiopatia ischemica, ipertrofia cardiaca, insufficienza cardiaca e cardiomiopatia dilatativa.<sup>162</sup>

È noto inoltre che **le infezioni compromettono l'omeostasi mitocondriale** inducendo il rilascio di mtDNA, l'eccessiva produzione di mtROS e, successivamente, la stimolazione dell'inflammasoma, osservata principalmente nei macrofagi.

<sup>160</sup> Kurihara Y, Kanki T, Aoki Y, et al.

Mitophagy plays an essential role in reducing mitochondrial production of reactive oxygen species and mutation of mitochondrial DNA by maintaining mitochondrial quantity and quality in yeast.

J Biol Chem. 2012;287(5):3265-3272. doi:10.1074/jbc.M111.280156

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3270981/>

Okamoto K, Kondo-Okamoto N.

Mitochondria and autophagy: critical interplay between the two homeostats.

Biochim Biophys Acta. 2012;1820(5):595-600. doi:10.1016/j.bbagen.2011.08.001

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030441651100184X?via%3Dihub>

<sup>161</sup> Yun HR, Jo YH, Kim J, Shin Y, Kim SS, Choi TG.

Roles of Autophagy in Oxidative Stress.

Int J Mol Sci. 2020;21(9):3289. Published 2020 May 6. doi:10.3390/ijms21093289

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7246723/>

Blaess M, Kaiser L, Sauer M, Csuk R, Deigner HP.

COVID-19/SARS-CoV-2 Infection: Lysosomes and Lysosomotropism Implicate New Treatment Strategies and Personal Risks.

Int J Mol Sci. 2020;21(14):E4953. Published 2020 Jul 13. doi:10.3390/ijms21144953

<https://www.mdpi.com/1422-0067/21/14/4953/htm>

Mauthe M, Orhon I, Rocchi C, et al.

Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion.

Autophagy. 2018;14(8):1435-1455. doi:10.1080/15548627.2018.1474314

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6103682/>

He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X:

Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species.

Cell Physiol Biochem 2017;44:532-553. doi: 10.1159/000485089

<https://www.karger.com/Article/Fulltext/485089>

<sup>162</sup> Campos JC, Bozi LH, Bechara LR, Lima VM, Ferreira JC.

Mitochondrial Quality Control in Cardiac Diseases.

Front Physiol. 2016;7:479. Published 2016 Oct 21. doi:10.3389/fphys.2016.00479

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5073139/>

Nel loro insieme, l'omeostasi mitocondriale e la mitofagia si sono dimostrate decisive per il comportamento funzionale dei macrofagi e per la loro polarizzazione M1/M2.<sup>163</sup>

Come si dettaglierà in seguito, gli M1 o macrofagi attivati classicamente rispondono a lipopolisaccaridi batterici (LPS) e citochine di tipo Th1, come IFN- $\gamma$ , sono coinvolti nelle risposte immunitarie contro i patogeni e sono caratterizzati dalla secrezione di citochine pro-infiammatorie, come TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ .

Al contrario, gli M2 o macrofagi attivati alternativamente partecipano alla riparazione dei tessuti e all'omeostasi, modulando le risposte immunitarie dei tessuti.

La polarizzazione dei macrofagi M2 è indotta da citochine di tipo Th2, come IL-4, IL-5 e IL-13, e questi macrofagi producono citochine preferenzialmente antinfiammatorie, come IL-10.

La cascata del segnale che segue l'attivazione dei macrofagi porta a un cambio del profilo metabolico, che avrà un impatto diretto sulla funzione dei macrofagi.

A seconda dei segnali del microambiente, in presenza di una marcata preferenza per il metabolismo glicolitico rispetto al metabolismo ossidativo, anche in presenza di ossigeno, si ha il fenomeno detto "**effetto Warburg**", che si trova comunemente nei macrofagi M1 attivati proinfiammatori e classici.

Il passaggio dal metabolismo ossidativo alla glicolisi aerobica è un fattore importante per la polarizzazione dei macrofagi e una regolazione accurata della funzione mitocondriale durante questo processo è un passaggio fondamentale per la secrezione di citochine indotta dai macrofagi e per l'eliminazione efficace degli agenti patogeni.

In termini generali, **le cellule pro-infiammatorie mostrano un profilo più glicolitico mentre le cellule anti-infiammatorie si basano principalmente sul metabolismo ossidativo.**

L'interruzione del metabolismo mitocondriale e il potenziamento della glicolisi nei macrofagi proinfiammatori promuove la sintesi dei metaboliti necessari per la risposta immunitaria e genera nicotinamide adenina dinucleotide fosfato (NADPH), che supporta la produzione di ROS e la sintesi di acidi grassi.

Inoltre, nei macrofagi attivati classicamente ci sono modifiche strutturali nell'ECT, che consentono la generazione mitocondriale di ROS (mROS).

La polarizzazione alternativa dei macrofagi, nota come **fenotipo antinfiammatorio o riparatore**, è caratterizzata da un distinto profilo metabolico dipendente dai mitocondri, in cui le macromolecole sono ossidate per la generazione di energia. Ad esempio, nel citoplasma, il glucosio viene convertito in piruvato, che

<sup>163</sup> Angajala A, Lim S, Phillips JB, et al.

Diverse Roles of Mitochondria in Immune Responses: Novel Insights Into Immuno-Metabolism. *Front Immunol.* 2018;9:1605. Published 2018 Jul 12. doi:10.3389/fimmu.2018.01605 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6052888/>

Yuk JM, Silwal P, Jo EK.

Inflammasome and Mitophagy Connection in Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(13):4714. Published 2020 Jul 1. doi:10.3390/ijms21134714 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7370205/>

Mohanty A, Tiwari-Pandey R, Pandey NR.

Mitochondria: the indispensable players in innate immunity and guardians of the inflammatory response. *J Cell Commun Signal.* 2019;13(3):303-318. doi:10.1007/s12079-019-00507-9 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6732146/>

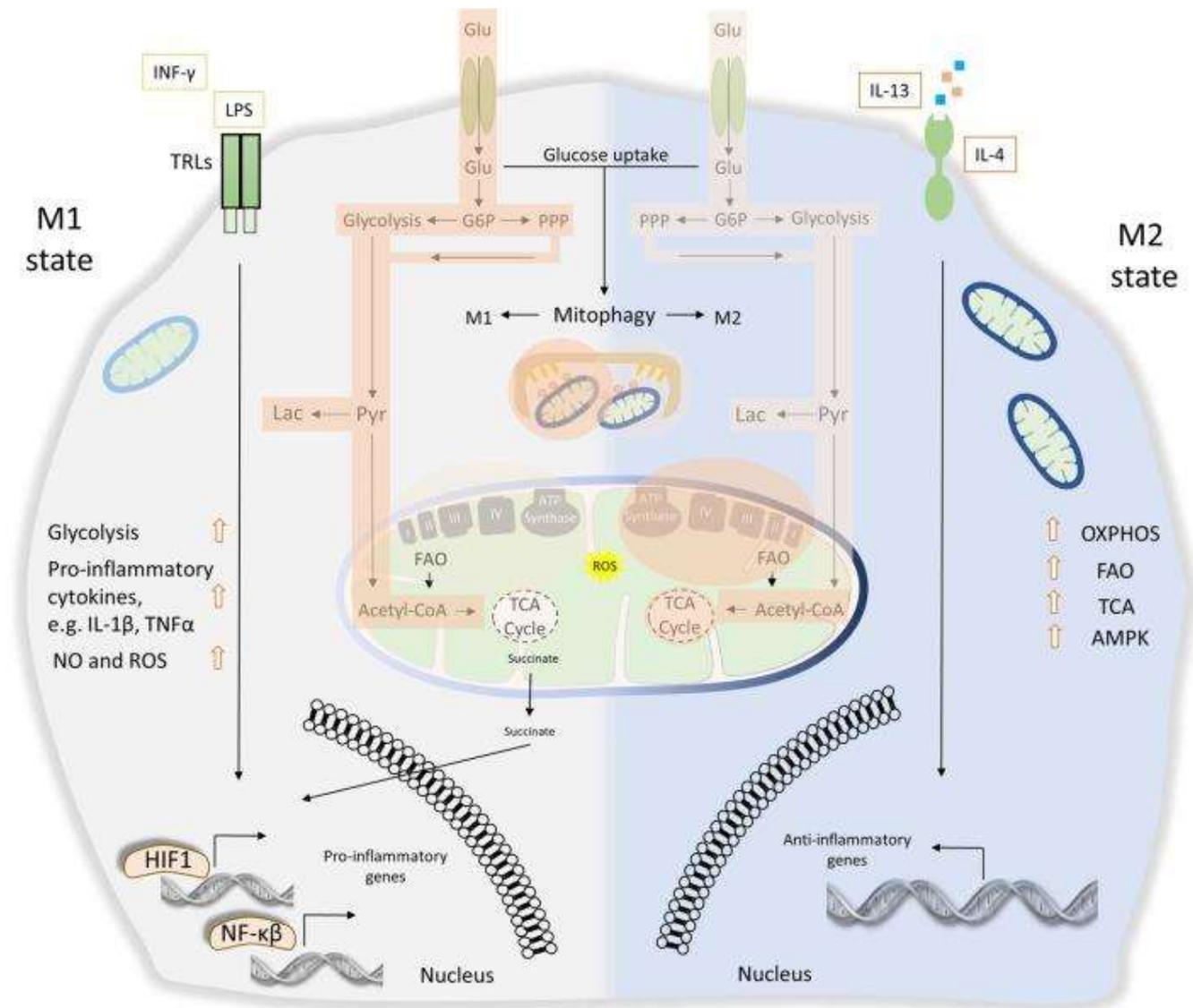
Jin HS, Suh HW, Kim SJ, Jo EK.

Mitochondrial Control of Innate Immunity and Inflammation. *Immune Netw.* 2017;17(2):77-88. doi:10.4110/in.2017.17.2.77 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5407986/>

viene ossidato all'interno dei mitocondri attraverso diverse reazioni del TCA (ciclo di Krebs o degli acidi tricarbossilici).<sup>164</sup>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6008576/>

**Il ruolo dell'omeostasi energetica e della mitofagia nel profilo metabolico della polarizzazione M1 e M2.** I macrofagi M1 sono caratterizzati dalla secrezione di citochine pro-infiammatorie, come l'interleuchina (IL) -1 $\beta$  e il fattore di necrosi tumorale  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ). Pertanto, i macrofagi M1 mostrano elevate proprietà tumoricide e microbicide. I macrofagi M1 fanno molto affidamento sulla glicolisi accompagnata da un aumento dell'assorbimento del glucosio e della via pentoso fosfato (PPP). I sottoprodotti metabolici, come le specie reattive dell'ossigeno (ROS) e l'ossido nitrico (NO), sono prodotti in abbondanza. Durante la polarizzazione dei macrofagi M1, il succinato viene rilasciato nel citosol e promuove la stabilizzazione del fattore 1 (HIF1) inducibile dall'ipossia, che a sua volta guida la trascrizione di diversi geni coinvolti nella glicolisi. La traslocazione di HIF1 e del fattore nucleare- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) nel nucleo media l'espressione di numerosi geni pro-infiammatori. D'altra parte, la funzione antinfiammatoria dei macrofagi M2 si basa maggiormente sulla fosforilazione ossidativa mitocondriale (OXPHOS), sui flussi del ciclo tricarbossilico (TCA) e sull'ossidazione degli acidi grassi (FAO). La proteina chinasi attivata da AMP (AMPK) viene attivata e attiva la FAO, che alimenta OXPHOS. La mitofagia agisce come fattore chiave della differenziazione M1/M2. Durante la polarizzazione M1, la clearance dei mitocondri attraverso la stimolazione mitofagica favorisce la riprogrammazione metabolica alla glicolisi. L'attività di glicolisi, OXPHOS, TCA e FAO è contrassegnata da cornici arancioni luminose (stato meno attivo) e cornici arancioni scure (stato più attivo).



<sup>164</sup> Corrêa-da-Silva F, Pereira JAS, de Aguiar CF, de Moraes-Vieira PMM.

Mit immunity-when mitochondria dictates macrophage function.

Cell Biol Int. 2018;42(6):651-655. doi:10.1002/cbin.10921

[https://www.researchgate.net/publication/322024663\\_Mit immunity\\_-\\_When\\_Mitochondria\\_Dictates\\_Macrophage\\_Function](https://www.researchgate.net/publication/322024663_Mit immunity_-_When_Mitochondria_Dictates_Macrophage_Function)

## Inflammasoma e SARS-Cov-2 <sup>165</sup>

Esistono numerosi studi che implicano l'inflammasoma NLRP3 e IL-1 $\beta$  nel mediare l'infiammazione durante le lesioni polmonari e l'ARDS. <sup>39, 89, 90</sup>

Il liquido broncoalveolare e il plasma nei pazienti con ARDS hanno livelli elevati di IL-1 $\beta$  rispetto ai controlli sani <sup>91-94</sup> e questo è associato ad esiti clinici peggiori.

Nelle infezioni da coronavirus, tra cui MERS-CoV e SARS-CoV, i pazienti con ARDS presentavano livelli elevati di IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 <sup>6, 95-97</sup>, mentre nell'influenza sono stati rilevati nel liquido broncoalveolare e nel plasma da pazienti con lesioni polmonari livelli elevati di IL-1 $\beta$  <sup>91-94, 98-101</sup>.

Più recentemente, Blanco-Melo et al. hanno dimostrato che l'infezione SARS-CoV-2 delle cellule epiteliali bronchiali umane primarie provoca l'aumento dell'espressione di citochine e chemochine tra cui TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$  <sup>111</sup>.

E' noto che la lesione delle cellule epiteliali alveolari di tipo II che esprimono ACE2 porta all'attivazione dell'inflammasoma NLRP3 <sup>14, 15, 105</sup>, inoltre studi su topi carenti dei componenti dell'inflammasoma hanno dimostrato la riduzione del danno polmonare e il miglioramento della sopravvivenza con infezione da influenza <sup>45, 102</sup>.

Nell'insieme i risultati degli studi indicano che IL-1 $\beta$  sembra svolgere un ruolo chiave nel danno polmonare acuto da infezioni virali respiratorie e il targeting farmacologico di questa via rappresenta un'importante area di intervento. <sup>166</sup>

### <sup>165</sup> Riferimento per note bibliografiche in rosso

Freeman TL and Swartz TH (2020)  
Targeting the NLRP3 Inflammasome in Severe COVID-19.  
Front. Immunol. 11:1518. doi: 10.3389/fimmu.2020.01518  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01518/full>

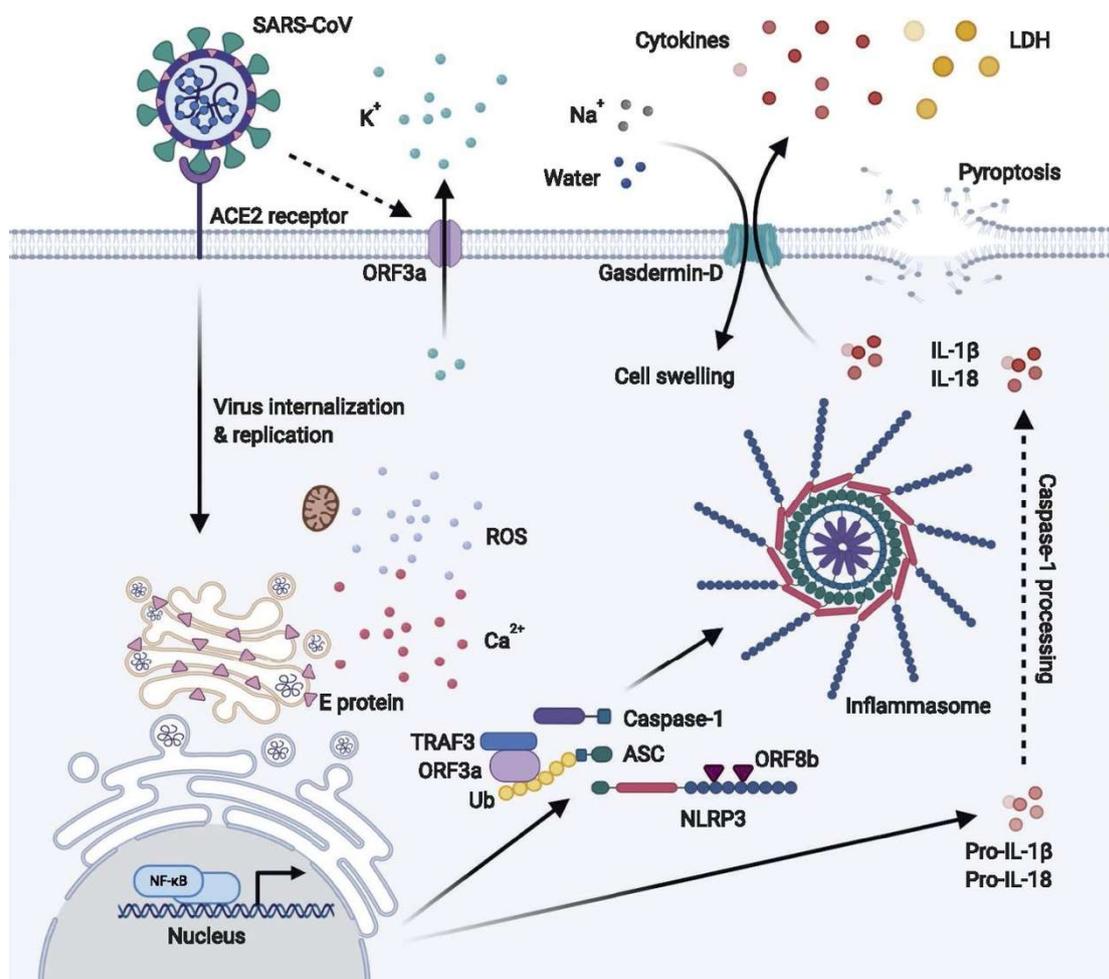
Paniri A, Akhavan-Niaki H.  
Emerging role of IL-6 and NLRP3 inflammasome as potential therapeutic targets to combat COVID-19: Role of lncRNAs in cytokine storm modulation [published online ahead of print, 2020 Jul 18]. Life Sci. 2020;257:118114. doi:10.1016/j.lfs.2020.118114  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7368418/>

Ratajczak MZ, Kucia M.  
SARS-CoV-2 infection and overactivation of Nlrp3 inflammasome as a trigger of cytokine "storm" and risk factor for damage of hematopoietic stem cells.  
Leukemia. 2020;34(7):1726-1729. doi:10.1038/s41375-020-0887-9  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7262681/>

van den Berg DF and te Velde AA  
Severe COVID-19: NLRP3 Inflammasome Dysregulated.  
Front. Immunol. (2020) 11:1580. doi: 10.3389/fimmu.2020.01580  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01580/full/>

Shah A.  
Novel Coronavirus-Induced NLRP3 Inflammasome Activation: A Potential Drug Target in the Treatment of COVID-19.  
Front Immunol. 2020;11:1021. Published 2020 May 19. doi:10.3389/fimmu.2020.01021  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7248552/>

<sup>166</sup> Yap JKY, Moriyama M, Iwasaki A.  
Inflammasomes and Pyroptosis as Therapeutic Targets for COVID-19.  
J Immunol. 2020 Jul 15;205(2):307-312. doi: 10.4049/jimmunol.2000513. Epub 2020 Jun 3. PMID: 32493814; PMCID: PMC7343621.  
<https://www.jimmunol.org/content/jimmunol/205/2/307.full.pdf>



<https://www.jimmunol.org/content/205/2/307>

**Attivazione dell'inflammasoma NLRP3 da parte di SARS-CoV.** La proteina E del SARS-CoV induce la fuoriuscita di  $Ca^{2+}$  nel citosol dall'accumulo nel Golgi, mentre ORF3a induce l'efflusso di  $K^+$  dalla membrana plasmatica agli spazi extracellulari. Questo squilibrio nella concentrazione ionica all'interno delle cellule e i ROS risultanti generati dai mitocondri danneggiati, innesca l'attivazione dell'inflammasoma NLRP3. Oltre a indurre l'efflusso di  $K^+$ , ORF3a promuove l'assemblaggio dell'inflammasoma attraverso l'ubiquitinazione di ASC mediata da TRAF3. ORF8b interagisce direttamente con la ripetizione ricca di leucina di NLRP3 per stimolare la sua attivazione indipendentemente dall'attività del canale ionico. L'attivazione dell'inflammasoma induce la formazione di pori di gasdermin-D sulla membrana cellulare, causando la secrezione di IL-1 $\beta$  e IL-18 e l'afflusso di molecole d'acqua che portano al rigonfiamento cellulare e alla successiva rottura (piroptosi).

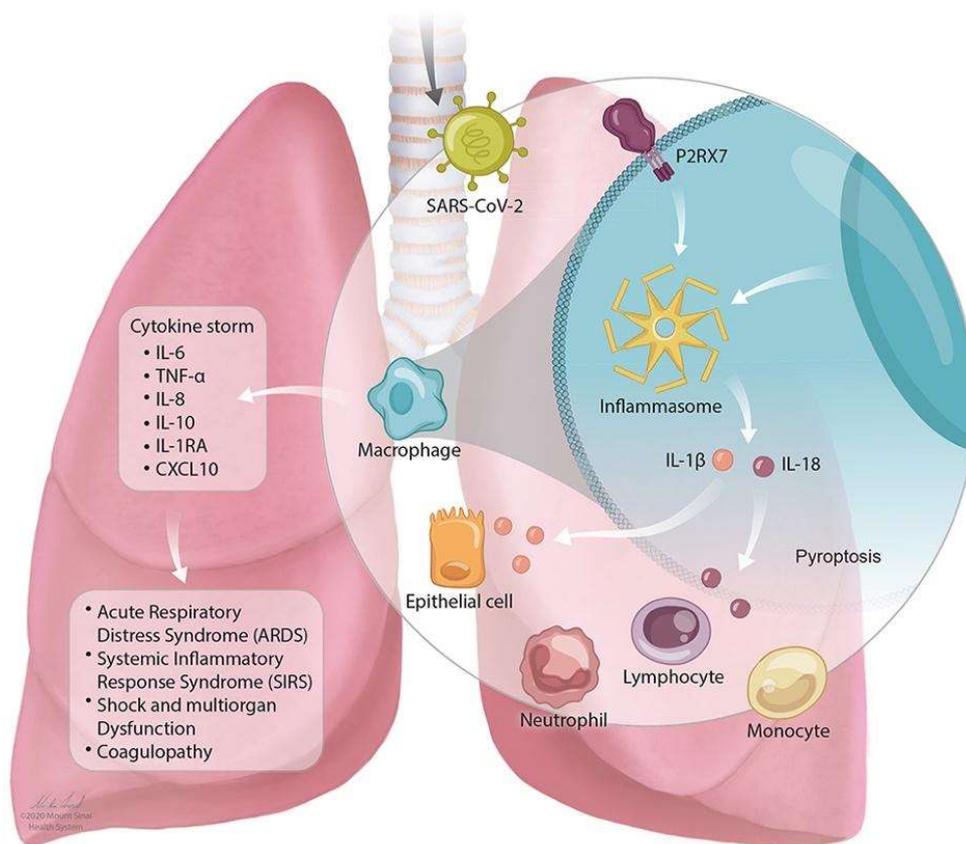
La risposta immunitaria acuta all'infezione da SARS-CoV-2 è in gran parte guidata da macrofagi infiammatori alveolari e derivati da monociti che vengono attivati da PAMP e DAMP rilasciati da pneumociti infetti e apoptotici.

TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  secreti dai macrofagi alveolari avviano la cascata proinfiammatoria acuta immediatamente dopo l'infezione. La secrezione di queste citochine induce la morte e il danno cellulare, la produzione di PAMP/DAMP, il reclutamento di cellule immunitarie e l'attivazione diffusa di NLRP3, instaurando una cascata di feedback positivo proinfiammatorio. [11, 106, 108-110.](#)

E' noto che i pazienti con COVID-19 grave possono sviluppare una coagulopatia associata a riduzione della conta piastrinica, aumento dei livelli di produzione di degradazione della fibrina (D-dimero) e aumento dei microtrombi nei polmoni, nel cervello, nei reni e nelle estremità. [174-176](#)

L'inflammasoma NLRP3 può svolgere un ruolo chiave nel mediare questa coagulopatia.

I macrofagi attivati dall'inflammasoma NLRP3 inducono il rilascio del fattore tissutale che avvia la coagulazione <sup>177, 178</sup>, la regolazione delle integrine piastriniche <sup>179, 180</sup> e il fattore 1-alfa inducibile dall'ipossia (HIF-1 $\alpha$ ) <sup>181</sup>.



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01518/full>

**L'inflammasoma NLRP3 media l'infiammazione polmonare nell'infezione SARS-CoV-2.** SARS-CoV-2 viene inalato nelle vie respiratorie e media l'attivazione del recettore P2RX7 attraverso il rilascio di ATP extracellulare. La segnalazione P2RX7 può portare all'attivazione di NLRP3 attraverso l'attivazione diretta o indiretta nei macrofagi attivati. L'attivazione dell'inflammasoma NLRP3 determina la secrezione di IL-1 $\beta$  e IL-18 che può provocare la piroptosi (morte cellulare programmata). L'attivazione di sottosistemi di cellule immunitarie, in gran parte attraverso i macrofagi attivati, provoca una cascata di attivazione di citochine infiammatorie di massa tra cui IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-10, IL-1RA e CXCL10 che portano a lesioni polmonari acute con sindrome da distress respiratorio acuto, sindrome da risposta infiammatoria sistemica (SIRS), shock e disfunzione multiorgano e coagulopatia.

Nel caso del coronavirus SARS-CoV, l'attività patogena è causata dall'attivazione diretta di NLRP3 da parte di una proteina virale, denominata proteina **viroporina 3a** <sup>167</sup>.

Questa proteina virale è presente anche nel genoma di SARS-CoV-2, suggerendo che anche il SARS-CoV-2 può attivare direttamente l'NLRP3 <sup>168</sup>.

<sup>167</sup> Chen IY, Moriyama M, Chang MF and Ichinohe T  
Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Viroporin 3a Activates the NLRP3 Inflammasome.  
Front. Microbiol. (2019) 10:50. doi: 10.3389/fmicb.2019.00050  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00050/full>

<sup>168</sup> van den Berg DF, Te Velde AA.  
Severe COVID-19: NLRP3 Inflammasome Dysregulated.  
Front Immunol. 2020;11:1580. Published 2020 Jun 26. doi:10.3389/fimmu.2020.01580  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7332883/>

Mousavizadeh L, Ghasemi S.  
Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis  
[published online ahead of print, 2020 Mar 31]. J Microbiol Immunol Infect. 2020;S1684-1182(20)30082-7. doi:10.1016/j.jmii.2020.03.022  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7138183/>

Ci si potrebbe chiedere quale può essere il vantaggio di sopravvivenza/riproduzione per il virus di indurre la morte cellulare per piroptosi mediata da NLRP3, considerando le conseguenze deleterie, tra cui l'attivazione della reazione immunitaria contro il virus e la possibile morte dell'ospite.

Contrariamente alla morte cellulare per piroptosi nell'uomo, la proteina 3a ha una funzione pro-apoptotica nell'ospite originale del virus: i pipistrelli <sup>169</sup>.

Poiché l'apoptosi, a differenza della piroptosi, non provoca una reazione immunitaria, nei pipistrelli c'è una risposta immunitaria meno marcata quando viene indotta l'NLRP3, che limita l'infiammazione e favorisce l'infezione asintomatica <sup>170</sup>.

Pertanto, l'attivazione diretta di NLRP3 con conseguente piroptosi potrebbe essere un effetto collaterale indesiderato nell'uomo.

Sulla base della necessità di regolare strettamente l'NLRP3 e il suo legame con la risposta immunitaria ci sono cinque possibili scenari per il decorso dell'infezione SARS-CoV-2 in un individuo in cui c'è un ruolo centrale nella regolazione dell'inflammasoma NLRP3.

- Nel **primo scenario**, dopo l'esposizione a una bassa carica virale o l'azione di sufficienti meccanismi di difesa non specifici, la risposta immunitaria innata farà il suo lavoro, senza la necessità di aumentare una risposta immunitaria adattativa.  
In questo scenario c'è la lisi e la fagocitosi da parte delle cellule NK e dei macrofagi, in quantità sufficiente per eliminare tutte le cellule infette. L'attivazione infiammatoria di queste cellule è bassa e non supera la soglia necessaria per attivare l'NLRP3. In alcuni casi può comunque essere attivato in coincidenza con sintomi da lievi a moderati ma non è seguito da una risposta adattativa.
- Nel **secondo scenario** c'è un'attivazione dell'NLRP3 fortemente sotto-regolata in seguito alla co-stimolazione iniziale necessaria per l'attivazione dell'APC, seguita da una risposta adattativa sufficiente alla produzione di anticorpi neutralizzanti contro il virus.
- Nel **terzo scenario** ci sono alcuni effetti sistemici che portano a sintomi clinici come la febbre e debolezza <sup>171</sup> a causa delle citochine rilasciate durante l'attivazione di NLRP3 che viene successivamente sotto-regolato, e a cui segue una risposta adattativa sufficiente alla produzione di anticorpi neutralizzanti.
- Nel **quarto scenario** una risposta infiammatoria sostenuta e prolungata di NLRP3 provoca gravi sintomi clinici, necrosi, rilascio di DAMP e grave infiammazione dei polmoni. Durante un periodo di malattia grave, il paziente è poi in grado di innescare una risposta adattativa con la produzione di anticorpi neutralizzanti e recupera.
- Nel **quinto scenario** la risposta innata non è in grado di eliminare l'infezione e l'attivazione di NLRP3 è inutile perché il paziente non è in grado di generare una risposta adattativa che porta alla clearance

<sup>169</sup> Chan CM, Tsoi H, Chan WM, et al.

The ion channel activity of the SARS-coronavirus 3a protein is linked to its pro-apoptotic function.

Int J Biochem Cell Biol. 2009;41(11):2232-2239. doi:10.1016/j.biocel.2009.04.019

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7108357/>

<sup>170</sup> Ahn M, Anderson DE, Zhang Q, et al.

Dampened NLRP3-mediated inflammation in bats and implications for a special viral reservoir host.

Nat Microbiol. 2019;4(5):789-799. doi:10.1038/s41564-019-0371-3

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7096966/>

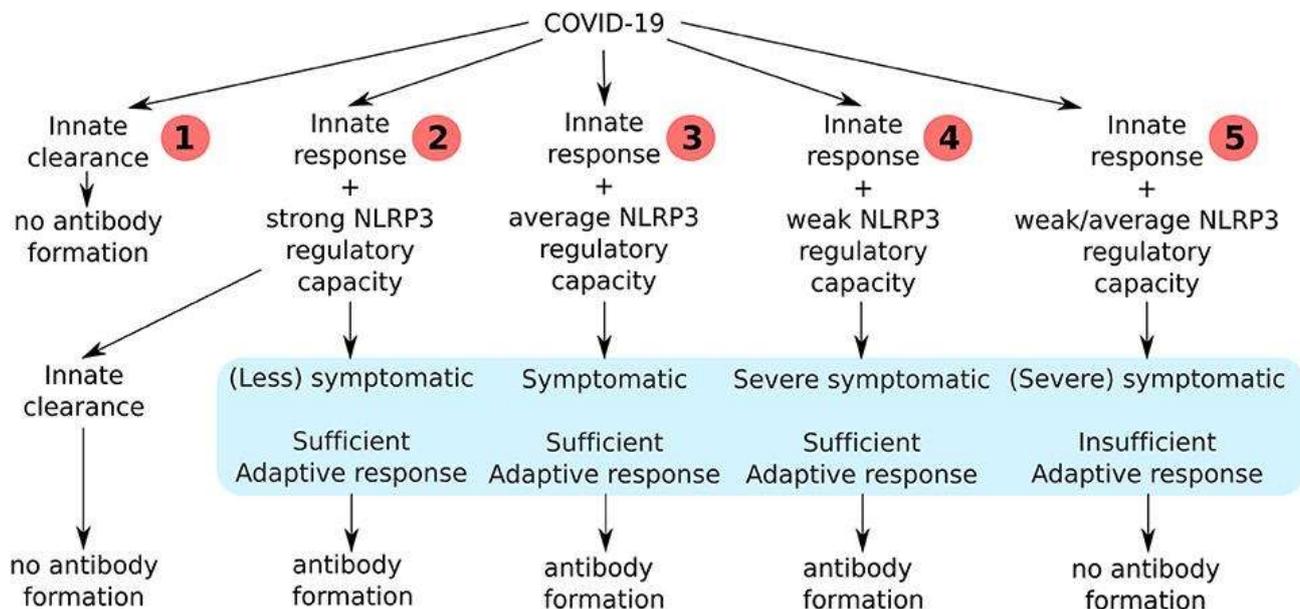
<sup>171</sup> Shattuck EC, Muehlenbein MP.

Human sickness behavior: Ultimate and proximate explanations.

Am J Phys Anthropol. 2015;157(1):1-18. doi:10.1002/ajpa.22698

[https://www.researchgate.net/publication/270904148\\_Human\\_Sickness\\_Behavior\\_Ultimate\\_and\\_Proximate\\_Explanations](https://www.researchgate.net/publication/270904148_Human_Sickness_Behavior_Ultimate_and_Proximate_Explanations)

virale <sup>172</sup>. Nelle persone che hanno una ridotta capacità di innescare una risposta immunitaria protettiva, è possibile che il virus si propaghi e si verifichi una massiccia distruzione dei tessuti interessati. Ciò porterà all'aumento di DAMP e un circolo vizioso di attivazione di NLRP3 che porterà infine alla morte.



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01580/full>  
 Una panoramica di tutte le conseguenze del decorso clinico dell'infezione da COVID-19 negli esseri umani a seconda del loro stato di risposta immunitaria

I DAMP rilasciati dopo l'attivazione dell'inflammasoma NLRP3 hanno una duplice funzione. In una normale reazione immunitaria inducono l'attivazione dell'APC, ma svolgono anche un ruolo nella risoluzione e nella rigenerazione dei tessuti.

Solo in caso di iperattivazione dell'inflammasoma NLRP3 i DAMP vengono rilasciati in alte concentrazioni e provocano l'attivazione dei macrofagi e piroptosi, infiltrazione di neutrofili, produzione eccessiva di citochine (IL-1β, IL -2, IL-6, IL-17, TNF-α, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, CXCL10, CCL2 e CCL3, tempesta di citochine) e fibrosi <sup>173</sup>.

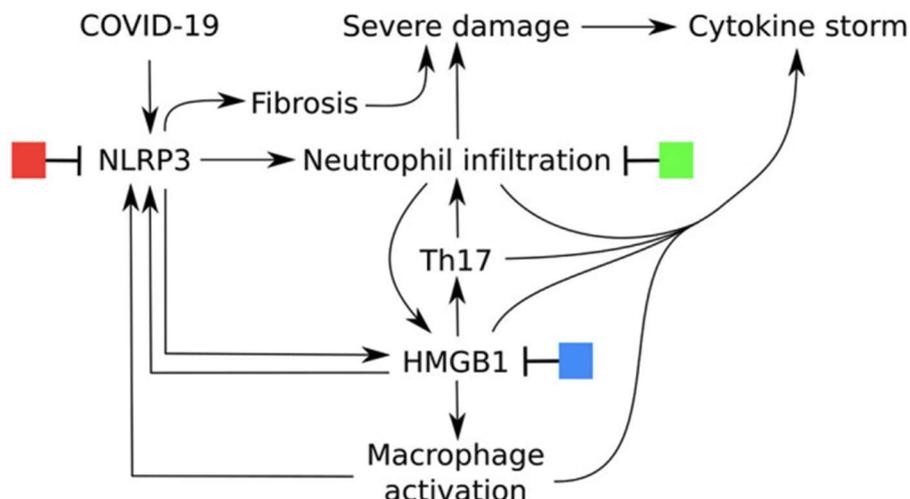
<sup>172</sup> Fülöp T, Larbi A, Witkowski JM. Human Inflammaging. Gerontology. 2019;65(5):495-504. doi:10.1159/000497375 <https://www.karger.com/Article/Abstract/497375>

<sup>173</sup> Cao X. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. Nat Rev Immunol. 2020;20(5):269-270. doi:10.1038/s41577-020-0308-3 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7143200/>

Fukumoto J, Fukumoto I, Parthasarathy PT, et al. NLRP3 deletion protects from hyperoxia-induced acute lung injury. Am J Physiol Cell Physiol. 2013;305(2):C182-C189. doi:10.1152/ajpcell.00086.2013 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3725631/>

Satoh T, Kambe N, Matsue H. NLRP3 activation induces ASC-dependent programmed necrotic cell death, which leads to neutrophilic inflammation. Cell Death Dis. 2013;4(5):e644. Published 2013 May 23. doi:10.1038/cddis.2013.169 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3674376/>

Potey PM, Rossi AG, Lucas CD, Dorward DA. Neutrophils in the initiation and resolution of acute pulmonary inflammation: understanding biological function and therapeutic potential. J Pathol. 2019;247(5):672-685. doi:10.1002/path.5221 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6492013/>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7332883/>

Ruolo centrale dell'attivazione dell'inflammasoma NLRP3 nella fase sintomatica grave da COVID-19 e potenziali opzioni per il trattamento. (vedi testo articolo)

Questo non solo spiega la diversità dei sintomi dei pazienti, ma potrebbe anche spiegare l'eterogeneità nei pazienti colpiti.

È stato scoperto infatti che i **PBMC maschili esprimono livelli significativamente più alti di mRNA di geni correlati alla via del segnale di NLRP3** (NLRP3, ASC (PYCARD), CASP1, CASP5 e IL1B (tutti P <0,0001)) rispetto ai PBMC femminili <sup>174</sup>.

Inoltre, i pazienti in cui si osserva la maggior letalità sono **anziani affetti da malattie non trasmissibili**, cioè con **"infiammaging"**, un'infiammazione di basso grado associata a innesco e attivazione dell'inflammasoma NLRP3 e inibizione più debole <sup>175</sup>, e **pazienti anziani obesi con metainfiammazione** <sup>176</sup> con conseguente attività di base più elevata di NLRP3 <sup>177</sup>.

Una maggiore esposizione ai DAMP e attivazione dell'inflammasoma NLRP3 può influire sulla risposta immunitaria.

<sup>174</sup> Wu X, Cakmak S, Wortmann M, et al.

Sex- and disease-specific inflammasome signatures in circulating blood leukocytes of patients with abdominal aortic aneurysm. Mol Med. 2016;22:505-518. doi:10.2119/molmed.2016.00035 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5072406/>

<sup>175</sup> Latz E, Duewell P.

NLRP3 inflammasome activation in inflammaging. Semin Immunol. 2018;40:61-73. doi:10.1016/j.smim.2018.09.001 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30268598/>

<sup>176</sup> Christ A, Latz E.

The Western lifestyle has lasting effects on metaflammation. Nat Rev Immunol. 2019;19(5):267-268. doi:10.1038/s41577-019-0156-1 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30911129/>

<sup>177</sup> Rheinheimer J, de Souza BM, Cardoso NS, Bauer AC, Crispim D.

Current role of the NLRP3 inflammasome on obesity and insulin resistance: A systematic review. Metabolism. 2017;74:1-9. doi:10.1016/j.metabol.2017.06.002 [https://www.metabolismjournal.com/article/S0026-0495\(17\)30159-2/fulltext](https://www.metabolismjournal.com/article/S0026-0495(17)30159-2/fulltext)

Ciò è il risultato di una complessa interazione in cui la **genetica** (SNPs nell'NLRP3<sup>178</sup>), fattori dello **stile di vita** come l'esercizio fisico che riduce l'attivazione di NLRP3<sup>179</sup>, alcune diete che bloccano o stimolano l'attivazione di NLRP3<sup>180</sup> e l'**inquinamento** atmosferico che induce l'attivazione di NLRP3<sup>181</sup>, sono interconnessi.

### Disfunzione mitocondriale e covid-19

Come già discusso in altre sedi, prove crescenti collegano la progressione accelerata della malattia nei pazienti COVID-19 allo stato iperinflammatorio definito come "tempesta di citochine" che comporta importanti perturbazioni sistemiche.

Questi includono la disregolazione del ferro manifestata come **iperferritinemia** associata alla gravità della malattia.

La disregolazione del ferro induce la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e favorisce lo stress ossidativo.

I mitocondri, come visto sopra, sono il fulcro dell'omeostasi ossidativa cellulare, possono circolare "senza cellule" nelle piastrine non nucleate, nelle vescicole extracellulari e si può trovare il DNA mitocondriale nello spazio extracellulare.

Lo stato infiammatorio/ossidativo intenso può portare a disfunzione mitocondriale con danno piastrinico e apoptosi. L'interazione delle piastrine disfunzionali con le cascate della coagulazione aggrava gli eventi della coagulazione e la formazione di trombi.

Inoltre, lo stress ossidativo mitocondriale può contribuire alla **disbiosi del microbiota**, alterando i percorsi di coagulazione e alimentando la risposta infiammatoria/ossidativa che porta al circolo vizioso degli eventi.<sup>182</sup>

<sup>178</sup> Verma D, Lerm M, Blomgran Julinder R, Eriksson P, Söderkvist P, Särndahl E. Gene polymorphisms in the NALP3 inflammasome are associated with interleukin-1 production and severe inflammation: relation to common inflammatory diseases? *Arthritis Rheum.* 2008;58(3):888-894. doi:10.1002/art.23286 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.23286>

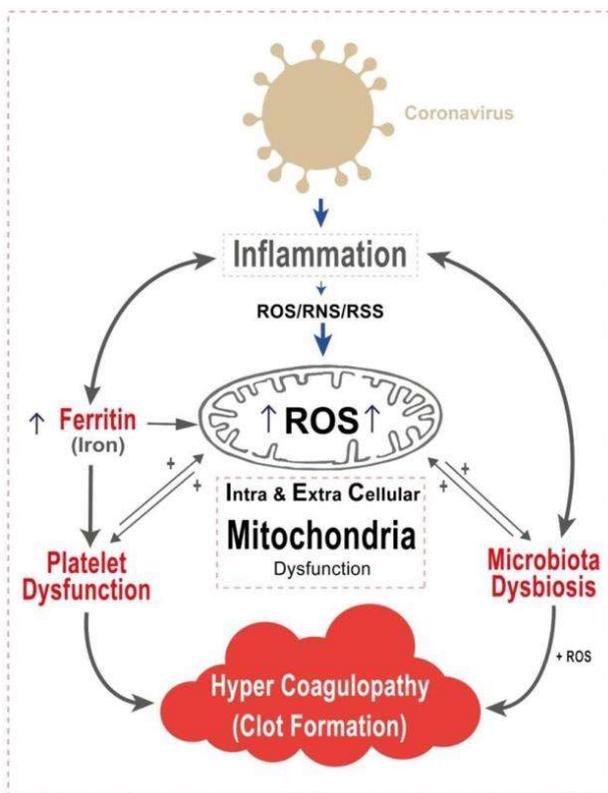
<sup>179</sup> Lee J, Lee Y, LaVoy EC, Umetani M, Hong J, Park Y. Physical activity protects NLRP3 inflammasome-associated coronary vascular dysfunction in obese mice. *Physiol Rep.* 2018 Jun;6(12):e13738. doi: 10.14814/phy2.13738. PMID: 29932503; PMCID: PMC6014451. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6014451/>

<sup>180</sup> Youm YH, Nguyen KY, Grant RW, et al. The ketone metabolite  $\beta$ -hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease. *Nat Med.* 2015;21(3):263-269. doi:10.1038/nm.3804 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4352123/>

Christ A, Günther P, Lauterbach MAR, et al. Western Diet Triggers NLRP3-Dependent Innate Immune Reprogramming. *Cell.* 2018;172(1-2):162-175.e14. doi:10.1016/j.cell.2017.12.013 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6324559/>

<sup>181</sup> Zheng R, Tao L, Jian H, et al. NLRP3 inflammasome activation and lung fibrosis caused by airborne fine particulate matter. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018;163:612-619. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.07.076 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30092543/>

<sup>182</sup> Saleh J, Peyssonnaud C, Singh KK, Edeas M. Mitochondria and microbiota dysfunction in COVID-19 pathogenesis



<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567724920301380?via%3Dihub>

**Disfunzione dei mitocondri nella patogenesi di COVID-19.** Uno schema ipotetico che descrive gli eventi iniziati dall'ondata pro-infiammatoria COVID-19 di citochine e livelli di ferritina che portano allo stress ossidativo e al danno cellulare. Il ferro intracellulare in eccesso interagisce con l'ossigeno molecolare, generando specie reattive dell'ossigeno (ROS) attraverso le reazioni di Haber-Weiss e Fenton, le specie reattive dell'azoto (RNS) e le specie reattive dello zolfo (RSS). I mitocondri sono l'organello centrale della generazione ROS. L'aumento della generazione di ROS porta a danni intra ed extra mitocondriali che a loro volta portano a 1) disbiosi del microbiota e 2) disfunzione piastrinica che gioca un ruolo importante nella coagulazione del sangue e negli eventi di coagulopatia. Il danno mitocondriale causa il rilascio di contenuti tra cui proteine, lipidi e "spin-off" del DNA che aggravano ulteriormente la risposta infiammatoria in un circolo vizioso di eventi che contribuiscono alla progressione della malattia COVID-19.

## Neutrofili e COVID-19

Il ruolo dei neutrofili e degli LDG (Low Dense Granulocytes)<sup>183</sup> nella patogenesi della COVID-19 è stato scarsamente caratterizzato, anche se è stato riscontrato che l'aumento dei neutrofili nel sangue è associato a esiti negativi della malattia nei pazienti COVID-19.

[published online ahead of print, 2020 Jun 20]. Mitochondrion. 2020;54:1-7. doi:10.1016/j.mito.2020.06.008  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567724920301380?via%3Dihub>

Edeas M, Saleh J, Peyssonnaud C.

Iron: Innocent bystander or vicious culprit in COVID-19 pathogenesis?

Int J Infect Dis. 2020;97:303-305. doi:10.1016/j.ijid.2020.05.110

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7264936/>

<sup>183</sup> Carmona-Rivera C, Kaplan MJ.

Low-density granulocytes: a distinct class of neutrophils in systemic autoimmunity.

Semin Immunopathol. 2013;35(4):455-463. doi:10.1007/s00281-013-0375-7

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4007274/>

Alcuni autori hanno proposto che la formazione di **trappole extracellulari di neutrofili (NET)** <sup>184</sup> contribuisca ad aumentare il rischio di morte per infezione da SARS-CoV2 <sup>185</sup>.

Gli LDG, presentano una maggiore capacità di produrre IFN di tipo I e formare NET e pertanto possono avere un impatto potenziante sulla progressione della malattia, nonostante non siano stati precedentemente riportati nei polmoni di pazienti COVID-19.

### Il ruolo dei NET (neutrophil extracellular trap: trappola extracellulare di neutrofili)

I granulociti neutrofili (o PMN - leucociti polimorfonucleati) formano la prima linea di difesa nell'immunità antimicrobica. Nel 2004 è stata scoperta una nuova funzione dei granulociti neutrofili: la loro capacità di formare i cosiddetti **NET** (trappole extracellulari di neutrofili).

I microrganismi vengono legati al di fuori delle cellule in una rete che può essere chiamata "**fagocitosi extracellulare**". Questa nuova funzionalità delle cellule PMN ha cambiato la comprensione dei loro meccanismi di difesa in quanto mostrano attività -cida (battericida, virucida, fungicida ect) non solo intra- ma anche extracellulare.

Quando viene attivato un neutrofilo, si innesca una cascata di eventi con conseguente rottura cellulare. All'interno del nucleo ha luogo la decondensazione della cromatina, e dopo la rottura della membrana nucleare i frammenti di DNA si riversano nel citoplasma dove si mescolano agli istoni nucleari, ai granuli citoplasmatici e alle proteine.

Quando si rompe anche la membrana cellulare, tutto il materiale genetico insieme alla miscela di proteine viene trasportato all'esterno della cellula ed intrappola l'agente infettivo. Come risultato della formazione di NET, i neutrofili muoiono in un meccanismo isolato di morte, noto come **NETosi**.

Sebbene i NET siano utili nella difesa dell'ospite contro i patogeni, la loro formazione prolungata stimola anche molti processi patologici, compresi quelli che si verificano durante le infezioni virali.

<sup>184</sup> Tomar B, Anders HJ, Desai J, Mulay SR. Neutrophils and Neutrophil Extracellular Traps Drive Necroinflammation in COVID-19. *Cells*. 2020;9(6):1383. Published 2020 Jun 2. doi:10.3390/cells9061383 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7348784/>

Mozzini C, Girelli D. The role of Neutrophil Extracellular Traps in Covid-19: Only a hypothesis or a potential new field of research? *Thromb Res*. 2020;191:26-27. doi:10.1016/j.thromres.2020.04.031 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7184981/>

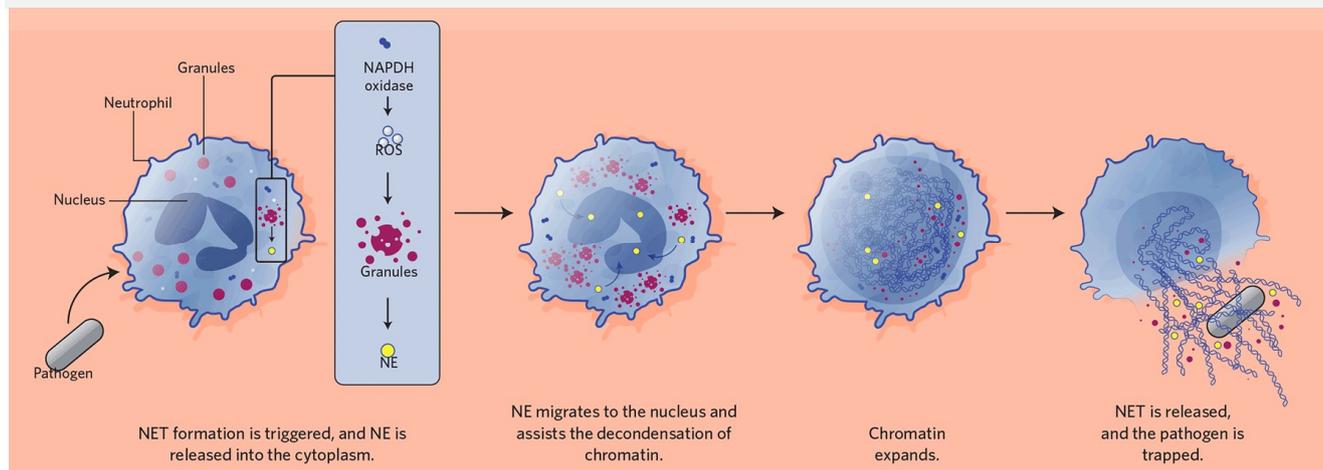
<sup>185</sup> Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*. 2020;217(6):e20200652. doi:10.1084/jem.20200652 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7161085/>

Thierry, Alain & ROCH, Benoit. NETs By-products and Extracellular DNA May Play a Key Role in COVID-19 Pathogenesis: Incidence on Patient Monitoring and Therapy. (2020) 10.20944/preprints202004.0238.v1. [https://www.researchgate.net/publication/340675541\\_NETs\\_By-products\\_and\\_Extracellular\\_DNA\\_May\\_Play\\_a\\_Key\\_Role\\_in\\_COVID-19\\_Pathogenesis\\_Incidence\\_on\\_Patient\\_Monitoring\\_and\\_Therapy](https://www.researchgate.net/publication/340675541_NETs_By-products_and_Extracellular_DNA_May_Play_a_Key_Role_in_COVID-19_Pathogenesis_Incidence_on_Patient_Monitoring_and_Therapy)

Infatti, un'eccessiva formazione di NET può innescare una cascata di reazioni infiammatorie che promuovono la metastasi delle cellule tumorali, distruggono i tessuti circostanti, facilitano la **microtrombosi** e provocano **danni permanenti agli organi dei sistemi polmonare, cardiovascolare e renale**.

È importante sottolineare che questi sono tre sistemi di **organi comunemente colpiti nelle forme severe di COVID-19**.<sup>186</sup>

figure tratte da Why Immune Cells Extrude Webs of DNA and Protein  
<https://www.the-scientist.com/features/why-immune-cells-extrude-webs-of-dna-and-protein-66459>



[https://cdn.the-scientist.com/assets/articleNo/66459/ilmg/33709/uploads/f3-10\\_19\\_net\\_\\_46.pdf?\\_ga=2.250217157.2141908875.1589456644-1552298204.1582806557](https://cdn.the-scientist.com/assets/articleNo/66459/ilmg/33709/uploads/f3-10_19_net__46.pdf?_ga=2.250217157.2141908875.1589456644-1552298204.1582806557)

## Formazione di NET

Quando un neutrofilo incontra un patogeno, può rispondere in diversi modi: con la **fagocitosi**, la **degranolazione** o il **rilasciando di trappole extracellulari di neutrofili (NET)**.

<sup>186</sup> Thromb Haemost. 2018 Jan;118(1):6-27. doi: 10.1160/TH17-09-0630

The Pathophysiological Role of Neutrophil Extracellular Traps in Inflammatory Diseases.

Bonaventura A, Liberale L, Carbone F, Vecchié A, Diaz-Cañestro C, Camici GG, Montecucco F, Dallegri F.

<https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1160/TH17-09-0630.pdf>

Chest. 2019 Oct;156(4):774-782. doi: 10.1016/j.chest.2019.06.012. Epub 2019 Jun 29.

The Emerging Role of Neutrophil Extracellular Traps in Respiratory Disease.

Twaddell SH1, Baines KJ2, Grainge C3, Gibson PG3.

<https://journal.chestnet.org/action/showPdf?pii=S0012-3692%2819%2931241-3>

J Exp Med. 2020 Jun 1;217(6). pii: e20200652. doi: 10.1084/jem.20200652.

Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps.

Barnes BJ et al

J Inflamm (Lond). 2019 Jun 28;16:15. doi: 10.1186/s12950-019-0222-2.

"In sickness and in health" - how neutrophil extracellular trap (NET) works in infections, selected diseases and pregnancy.

Niedźwiedzka-Rystwej P1, Repka W2, Tokarz-Deptuła B1, Deptuła W3.

Front Immunol. 2016 Sep 19;7:366.

Neutrophil Extracellular Traps Go Viral.

Schönrich G1, Raftery MJ1.

Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, et al.

Neutrophil extracellular traps in COVID-19.

JCI Insight. 2020;5(11):e138999. Published 2020 Jun 4. doi:10.1172/jci.insight.138999

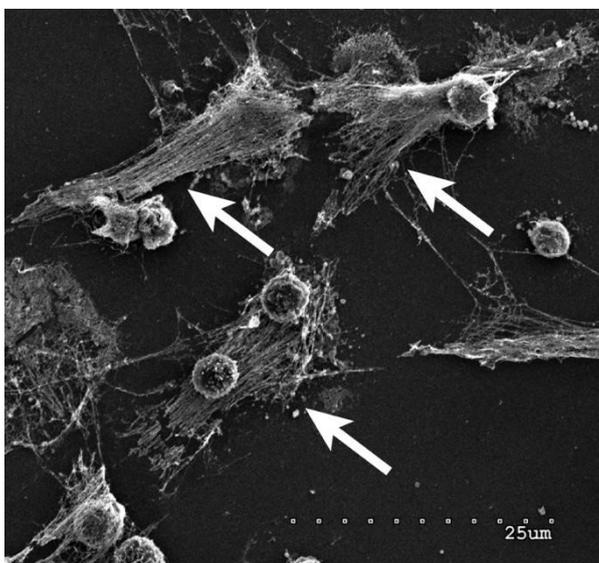
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7308057/>

[https://www.ascls.org/images/Meetings/Annual\\_Meeting/Handouts/SS22\\_Wednesday\\_800\\_Handout.pdf](https://www.ascls.org/images/Meetings/Annual_Meeting/Handouts/SS22_Wednesday_800_Handout.pdf)

Nel rilascio di NET mostrato nella figura sopra, il complesso enzimatico NADPH ossidasi genera le specie di ossido reattivo (ROS), che a loro volta iniziano la disintegrazione dei granuli, rilasciando **elastasi neutrofila** (NE).

L'NE migra quindi nel nucleo dei neutrofili, dove fende le proteine che impacchettano il DNA cellulare nei cromosomi. La cromatina si espande fino a riempire l'intera cellula, che si rompe ed espelle la rete nello spazio extracellulare.

Lì, si ritiene che le reti intrappolino e uccidano gli agenti patogeni.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7161085/>

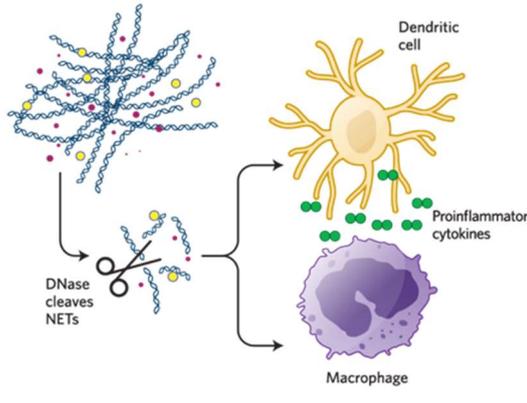
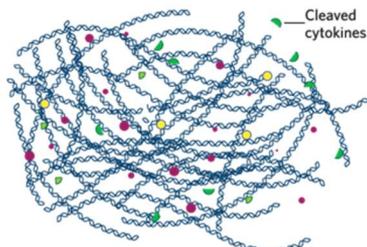
**I neutrofili formano i NET nella coltura cellulare.** Nota le stringhe di DNA espulse (freccie). Microscopia elettronica a scansione di neutrofili 3 ore dopo la messa in coltura e la co-coltura con cellule di carcinoma mammario 4T1. Barra della scala: 25 µm.

## NET nella salute

L'esatto contributo dei NET nella difesa antimicrobica è difficile da definire, ma i ricercatori stanno lentamente chiarendo i loro ruoli nella protezione del corpo dagli invasori e da altre minacce, inclusa l'infiammazione.

Tali ruoli includono:

<p><b>Trapping</b> I NET immobilizzano i microbi e ne impediscono la diffusione.</p>	
<p><b>Barriere</b> I NET possono formare barriere dense negli occhi che impediscono ai microbi di penetrare nel corpo.</p>	

<p><b>Segnalazione immunitaria</b>          I componenti NET agiscono come segnali di allarme per attivare ulteriori cellule immunitarie e propagare la risposta infiammatoria. I macrofagi e le cellule dendritiche rilevano vari componenti dei NET, inclusi DNA e proteine, che li porta a produrre mediatori proinfiammatori.</p>	 <p>The diagram illustrates the process of NET cleavage and signaling. On the left, a network of DNA-protein complexes (NETs) is shown. A pair of scissors labeled 'DNase cleaves NETs' indicates the fragmentation of these structures. On the right, a 'Dendritic cell' and a 'Macrophage' are shown. Arrows indicate that the cleaved fragments are taken up by these cells, leading to the release of 'Proinflammatory cytokines'.</p>
<p><b>Risoluzione dell'infiammazione</b>          Se presenti ad alta densità, i NET possono scindere le citochine proinfiammatorie e aiutare a risolvere l'infiammazione.</p>	 <p>The diagram shows a dense, tangled network of NETs. Small green and red dots, labeled 'Cleaved cytokines', are shown attached to the DNA strands, representing the process of NETs breaking down inflammatory mediators.</p>

[https://cdn.the-scientist.com/assets/articleNo/66459/ilmg/33708/uploads/f3-10\\_19\\_net\\_\\_48.pdf?\\_ga=2.38874080.2141908875.1589456644-1552298204.1582806557](https://cdn.the-scientist.com/assets/articleNo/66459/ilmg/33708/uploads/f3-10_19_net__48.pdf?_ga=2.38874080.2141908875.1589456644-1552298204.1582806557)

## NET nella malattia

I NET possono causare danni gravi se utilizzati in modo inappropriato. Le strutture sono state implicate in una serie di condizioni patologiche quali:

### 1- Il cancro

Le proteine associate ai NET portano all'attivazione delle cellule cancerose dormienti e le convertono in cellule metastatiche proliferanti.

### 2- La malaria

La formazione di NET viene innescata durante la malaria, quindi le strutture vengono suddivise in frammenti da parte della DNasi 1 circolante. Questi frammenti portano alla sovraregolazione dei recettori della citoadesione sulla superficie delle cellule endoteliali che rivestono i vasi sanguigni. Le cellule infettate si legano a questi recettori, che aiutano i parassiti del Plasmodium a evitare la risposta immunitaria nella milza e a provocare un'infiammazione dannosa.

### 3- La Trombosi

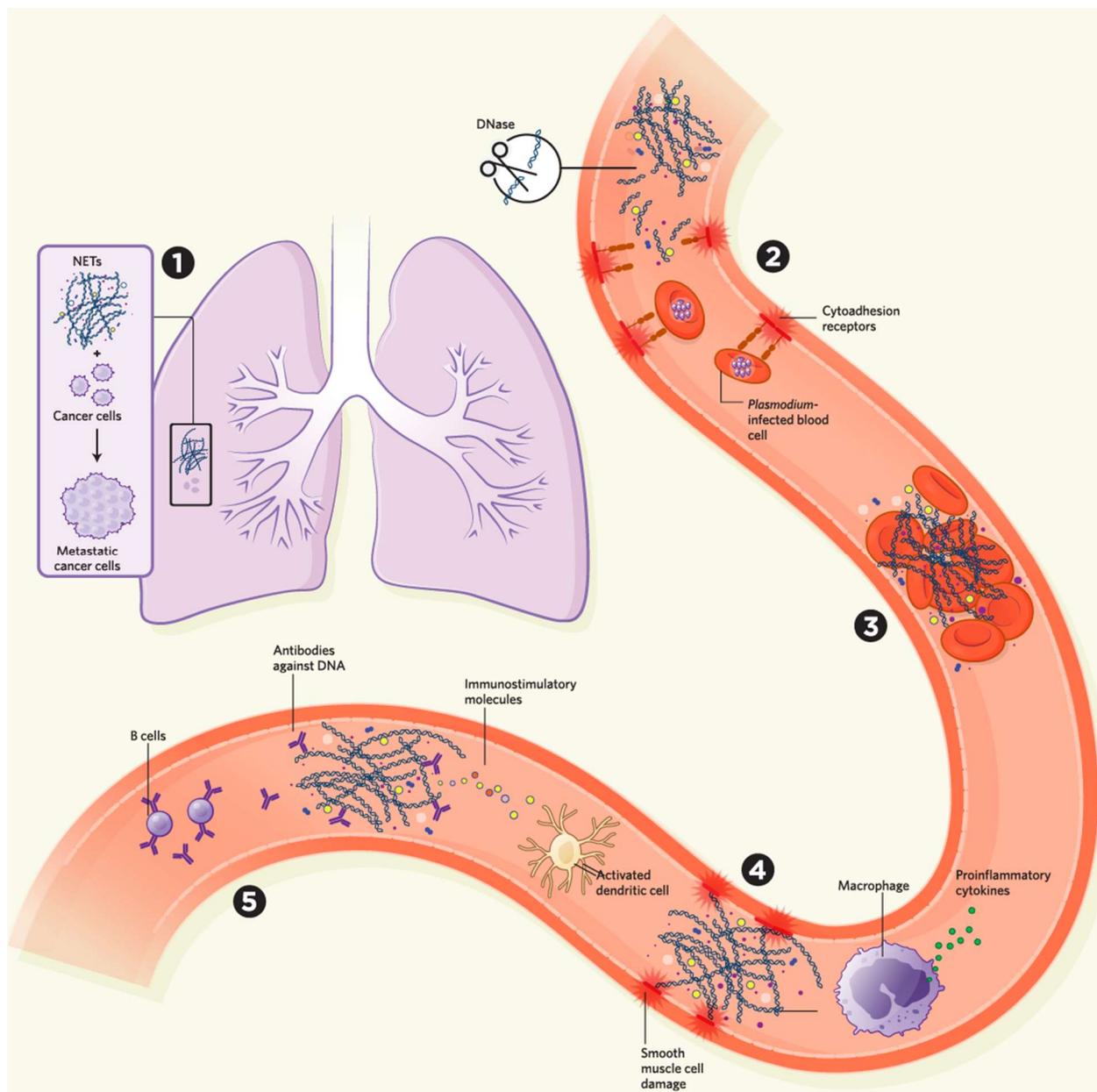
I componenti dei NET promuovono la coagulazione del sangue e l'ostruzione dei piccoli vasi sanguigni.

### 4- L'aterosclerosi

I NET attivano i macrofagi, inducendoli a produrre citochine proinfiammatorie. Gli istoni associati ai NET danneggiano anche la muscolatura liscia delle pareti arteriose.

### 5- Il Lupus

Questa malattia autoimmune è caratterizzata dalla produzione di autoanticorpi diretti contro il proprio DNA. Si ritiene che i NET siano una fonte di autoantigeni, nonché di molecole immunostimolanti che attivano le cellule dendritiche e alimentano l'infiammazione.



[https://cdn.the-scientist.com/assets/articleNo/66459/ilmg/33707/uploads/f3-10\\_19\\_net\\_49.pdf?\\_ga=2.47999844.2141908875.1589456644-1552298204.1582806557](https://cdn.the-scientist.com/assets/articleNo/66459/ilmg/33707/uploads/f3-10_19_net_49.pdf?_ga=2.47999844.2141908875.1589456644-1552298204.1582806557)

### APPROFONDIMENTO VIDEO

#### [Piroptosi e NET-osi](#)

Un'ulteriore importante informazione proviene da uno studio<sup>187</sup> di campioni autoptici prelevati dai polmoni di tre pazienti COVID-19 analizzati presso il Weill Cornell Medicine, in cui sono state osservate infiltrazioni di neutrofili nei capillari polmonari, capillarite acuta con deposizione di fibrina, stravasamento di neutrofili nello spazio alveolare e mucosite neutrofila.

<sup>187</sup> J Exp Med. 2020 Jun 1;217(6). pii: e20200652. doi: 10.1084/jem.20200652.  
 Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps.  
 Barnes BJ et al  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7161085/>

Poichè la leucocitosi e la neutrofilia sono segni distintivi dell'infezione acuta, gli autori propongono che la neutrofilia quale fonte di trappole extracellulari di neutrofili in eccesso (NET) sia un ulteriore meccanismo patogenetico per il COVID-19.

In uno studio prospettico di coorte su pazienti COVID-19 (n = 33)<sup>188</sup> con controlli corrispondenti all'età e al sesso (n = 17), sono stati misurati nel plasma i complessi di DNA-mieloperossidasi (MPO)-DNA (NET), fattore piastrinico 4, RANTES e citochine selezionate.

Sono state esaminate tre autopsie polmonari COVID-19 per il coinvolgimento di NET e piastrine e sono stati valutati la formazione di NET ex vivo nei neutrofili COVID-19 e nei neutrofili sani incubati con plasma da COVID-19, e la capacità del NET-Inhibitory Factor (nNIF) neonatale, un peptide inibitorio NET scoperto nel sangue del cordone ombelicale umano, di bloccare la formazione di NET indotta dal plasma da COVID-19.

I complessi plasmatici di MPO-DNA erano aumentati nei pazienti COVID-19 con intubazione (P <0,0001) e deceduti (P <0,0005).

La gravità della malattia era direttamente correlata con i complessi plasmatici di MPO-DNA (P = 0,0360), mentre PaO<sub>2</sub> / FiO<sub>2</sub> era correlata inversamente (P = 0,0340).

I fattori solubili e cellulari presenti nel plasma che hanno innescato i NET erano significativamente aumentati nel COVID-19 e le autopsie polmonari hanno confermato i microtrombi contenenti NET con infiltrazione neutrofila-piastrinica.

Inoltre, gli autori hanno dimostrato che l'nNIF inibisce la formazione di NET indotta dal plasma di pazienti COVID-19.

**Pertanto, i NET che innescano l'immunotrombosi possono, in parte, spiegare le presentazioni cliniche protrombotiche nel COVID-19 e possono rappresentare bersagli per l'intervento terapeutico.**<sup>189</sup>

<sup>188</sup> Middleton EA, He XY, Denorme F, et al.

Neutrophil Extracellular Traps (NETs) Contribute to Immunothrombosis in COVID-19 Acute Respiratory Distress Syndrome [published online ahead of print, 2020 Jun 29]. *Blood*. 2020;blood.2020007008. doi:10.1182/blood.2020007008 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7472714/>

<sup>189</sup> Tomar B, Anders HJ, Desai J, Mulay SR.

Neutrophils and Neutrophil Extracellular Traps Drive Necroinflammation in COVID-19. *Cells*. 2020;9(6):1383. Published 2020 Jun 2. doi:10.3390/cells9061383 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7348784/>

Zuo Y, Zuo M, Yalavarthi S, et al.

Neutrophil extracellular traps and thrombosis in COVID-19. Preprint. medRxiv. 2020;2020.04.30.20086736. Published 2020 May 5. doi:10.1101/2020.04.30.20086736 <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.30.20086736v3.full.pdf>

Nathan C.

Neutrophils and COVID-19: Nots, NETs, and knots. *J Exp Med*. 2020;217(9):e20201439. doi:10.1084/jem.20201439

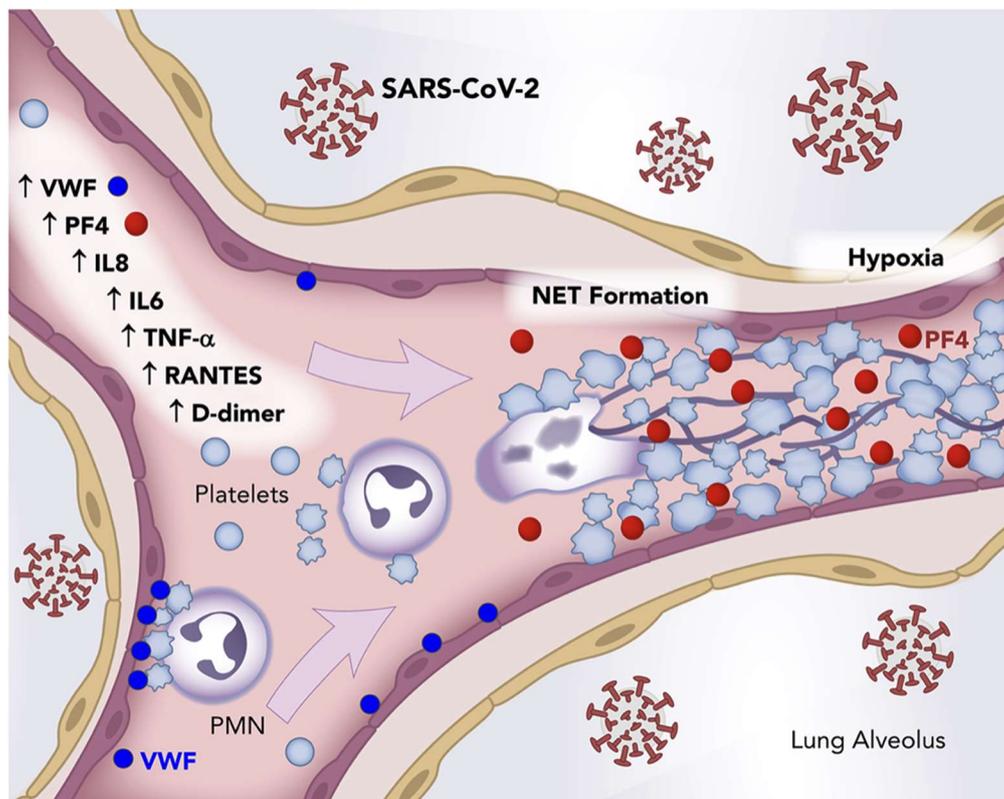
Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, et al.

Neutrophil extracellular traps (NETs) as markers of disease severity in COVID-19. Preprint. medRxiv. 2020;2020.04.09.20059626. Published 2020 Apr 14. doi:10.1101/2020.04.09.20059626 <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.09.20059626v1.full.pdf>

<https://rupress.org/jem/article-standard/217/9/e20201439/151956/Neutrophils-and-COVID-19-Nots-NETs-and>

Morris G, Bortolasci CC, Puri BK, et al.

The pathophysiology of SARS-CoV-2: A suggested model and therapeutic approach [published online ahead of print, 2020 Jul 30]. *Life Sci*. 2020;118166. doi:10.1016/j.lfs.2020.118166 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7392886/>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7472714/>

### PATOGENESI DELLA COAGULOPATIA ASSOCIATA AL COVID-19 (CAC) <sup>190</sup>

Come già esaminato in maniera approfondita in precedenza, la gravità dell'inflammatione sistemica in risposta ai membri umani della famiglia coronavirus ha caratteristiche che ricordano una tempesta di citochine o una sindrome di attivazione dei macrofagi (MAS), nota anche come linfocitosi emofagocitica secondaria (sHLH).

Questa risposta ha ispirato l'uso di terapie anticitochiniche per la polmonite COVID-19 grave, poiché questi agenti sono noti per essere utili nelle malattie dello spettro della MAS.

Una caratteristica chiave della sHLH o MAS è l'emofagocitosi e una coagulopatia consumativa acuta, che porta alla coagulazione intravascolare disseminata.

Anche la coagulazione intravascolare disseminata è stata segnalata nella polmonite COVID-19, ma di solito come evento pre-terminale <sup>191</sup>

L'ipercoagulabilità con iperferritinemia estrema che è tipicamente osservata nella sHLH è evidente anche in alcuni pazienti con polmonite COVID-19. <sup>192</sup>

<sup>190</sup> COVID-19 Stroke and Blood Clot Medical Journals Scan 2020  
<https://www.gekodevices.com/wp-content/uploads/2020/07/COVID-19-medical-Journals-FINAL.pdf>

<sup>191</sup> Tang N, Li D, Wang X, Sun Z.  
 Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia.  
 J Thromb Haemost. 2020;18(4):844-847. doi:10.1111/jth.14768  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7166509/>

<sup>192</sup> Dennis McGonagle, James S O'Donnell, Kassem Sharif, Paul Emery, Charles Bridgewood  
 Immune mechanisms of pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19 pneumonia  
 Lancet Rheumatol 2020; 2: e437-45 May 7, 2020 [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30121-1](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30121-1)

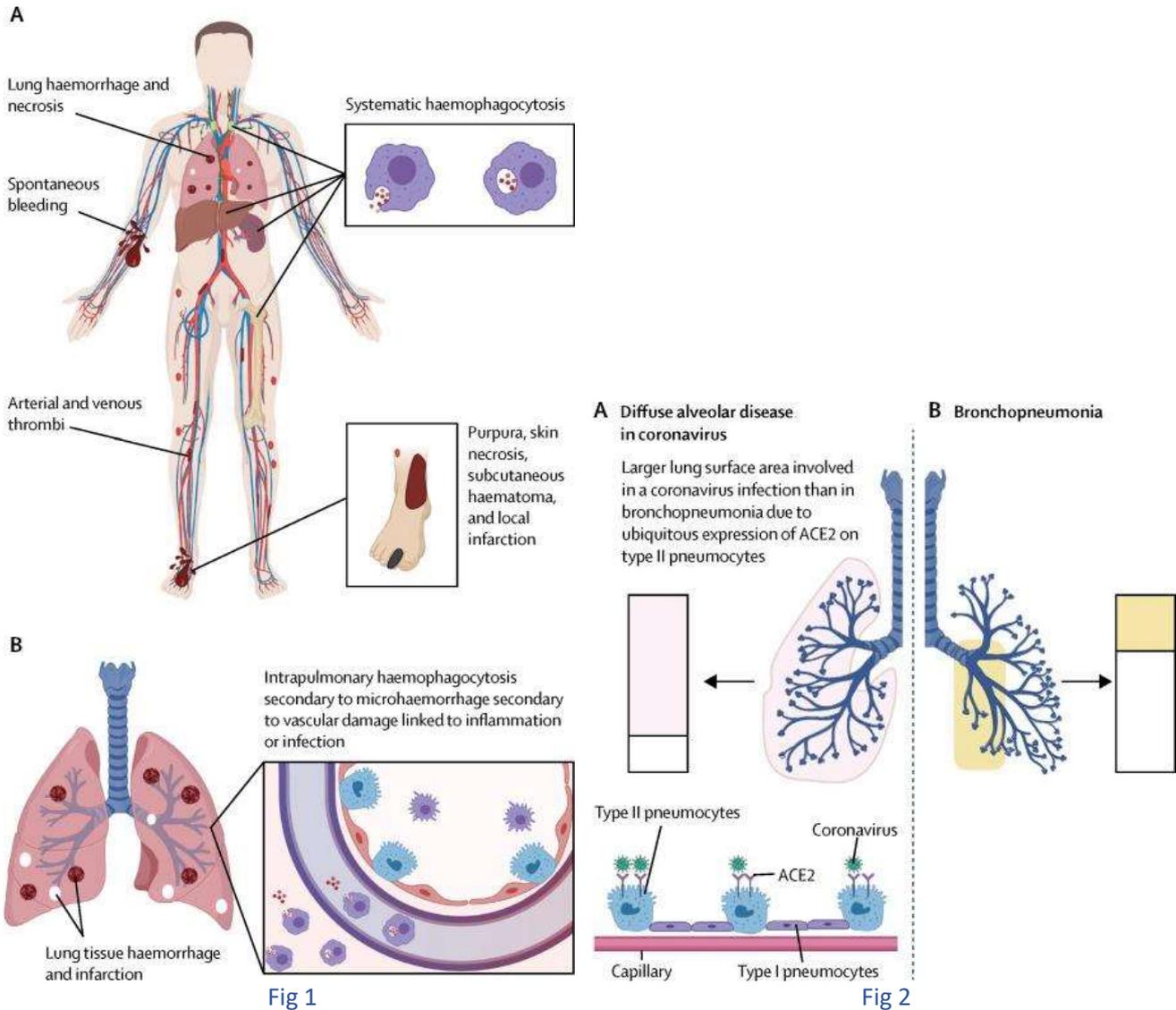


Fig 1

Fig 2

[https://www.thelancet.com/journals/lanrhe/article/PIIS2665-9913\(20\)30121-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanrhe/article/PIIS2665-9913(20)30121-1/fulltext)

[https://www.thelancet.com/journals/lanrhe/article/PIIS2665-9913\(20\)30121-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanrhe/article/PIIS2665-9913(20)30121-1/fulltext)

Iba T, Levy JH, Levi M, Thachil J.  
Coagulopathy in COVID-19  
[published online ahead of print, 2020 Jun 18]. *J Thromb Haemost.* 2020;10.1111/jth.14975. doi:10.1111/jth.14975  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7323352/pdf/JTH-9999-na.pdf>

Connors JM, Levy JH.  
COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation.  
*Blood.* 2020;135(23):2033-2040. doi:10.1182/blood.2020006000  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7273827/>

McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, Bridgewood C.  
The Role of Cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced Pneumonia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease.  
*Autoimmun Rev.* 2020;19(6):102537. doi:10.1016/j.autrev.2020.102537  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7195002/>

Risitano AM, Mastellos DC, Huber-Lang M, et al.  
Complement as a target in COVID-19?  
[published correction appears in *Nat Rev Immunol.* 2020 Jul;20(7):448]. *Nat Rev Immunol.* 2020;20(6):343-344. doi:10.1038/s41577-020-0320-

Lang M, Som A, Carey D, et al.  
Pulmonary Vascular Manifestations of COVID-19 Pneumonia.  
*Radiol Cardiothorac Imaging.* 2020;2(3):e200277. Published 2020 Jun 18. doi:10.1148/ryct.2020200277  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7307217/>

**Fig. 1 (A)** La linfocitocitosi emofagocitica secondaria o sindrome da attivazione dei macrofagi è associata a organomegalia, trombocitopenia, emofagocitosi e coagulazione intravascolare disseminata con coinvolgimento polmonare nella metà dei casi.<sup>193</sup> L'attivazione del midollo osseo, degli organi linfoidi, cellule di Kupffer epatiche e cellule di Kupffer circolanti portano ad una grave coagulopatia consuntiva con bassi livelli di fibrinogeno e una maggiore degradazione del fibrinogeno. Inoltre, la disfunzione epatica esacerba la coagulopatia consuntiva. Un pattern di coagulazione intravascolare disseminata a rapida insorgenza con iperferritinemia riflette un'emofagocitosi generalizzata con degradazione, sequestro ed esportazione degli eritrociti con coagulazione e sanguinamento diffusi. **(B)** Il coinvolgimento polmonare senza iperplasia generalizzata dell'organo linfoide è tipico della polmonite COVID-19. Anche l'emofagocitosi, sebbene intrapolmonare, è stata segnalata nell'infezione della famiglia dei coronavirus.<sup>194</sup> Tuttavia, nelle fasi iniziali la coagulopatia sistemica non è una caratteristica. Tale emofagocitosi intrapolmonare, che quindi drena ai nodi regionali, indica la rimozione di globuli rossi extravascolari mediata da macrofagi attivati, secondaria a danno vascolare. Un quadro di coagulazione intravascolare disseminata potrebbe anche svilupparsi tardi nel corso della polmonite COVID-19 in pazienti che sviluppano sindrome da distress respiratorio acuto. COVID-19 = malattia da coronavirus 2019.

**Fig. 2 (A)** Alcuni membri della famiglia del coronavirus accedono ai polmoni attraverso il recettore ACE2 che si esprime in modo più abbondante su una sottopopolazione di pneumociti di tipo II. I riquadri ombreggiati indicano la capacità molto maggiore per l'immunotrombosi dato il tropismo alveolare del SARS-CoV-2. **(B)** La broncopolmonite segmentale (p. es., batterica e influenzale) ha tipicamente una diversa distribuzione polmonare, con un prominente coinvolgimento dell'albero bronchiale, inclusa la distruzione emorragica della trachea e delle grandi vie aeree<sup>195</sup> e malattia della rete alveolare generalmente a chiazze. Potrebbero esserci ampie aree con perfusione normale. La lenta evoluzione di COVID-19 con ipossia alveolare e microtrombosi potrebbe causare ipertensione arteriosa polmonare e quadro cardiaco che si verifica principalmente con ipossiemia e aumento dei D-dimeri. La scala dell'infiammazione alveolare e microvascolare, piuttosto che l'infezione virale sistemica di per sé, determina il modello cardiovascolare della malattia. Tuttavia, la broncopolmonite segmentaria potrebbe provocare un grado di immunotrombosi sufficiente a causare un evento cardiaco, specialmente nei pazienti più anziani con malattia cardiaca nota o silente. ACE2 = enzima di conversione dell'angiotensina 2. COVID-19 = malattia da coronavirus 2019. SARS-CoV-2 = sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2.

In una revisione pubblicata su *Lancet Rheumatology*,<sup>196</sup> gli autori hanno riassunto i meccanismi immunitari della coagulopatia polmonare intravascolare nella polmonite COVID-19 e hanno definito l'immunopatologia vascolare limitata ai polmoni associata al COVID-19 come una **coagulopatia polmonare intravascolare diffusa**, che nelle sue fasi iniziali è distinta dalla coagulazione intravascolare disseminata.

L'aumento delle concentrazioni circolanti di D-dimero e l'elevata concentrazione di enzimi cardiaci a fronte di normali livelli di fibrinogeno e piastrine sono le prime caratteristiche chiave della grave coagulopatia polmonare intravascolare correlata al COVID-19.

Un'immunotrombosi estesa su un ampio territorio vascolare polmonare senza viremia sistemica nella fase iniziale del COVID-19 è associata all'impatto negativo del sesso maschile, ipertensione, obesità e diabete sulla prognosi dei pazienti con COVID-19.

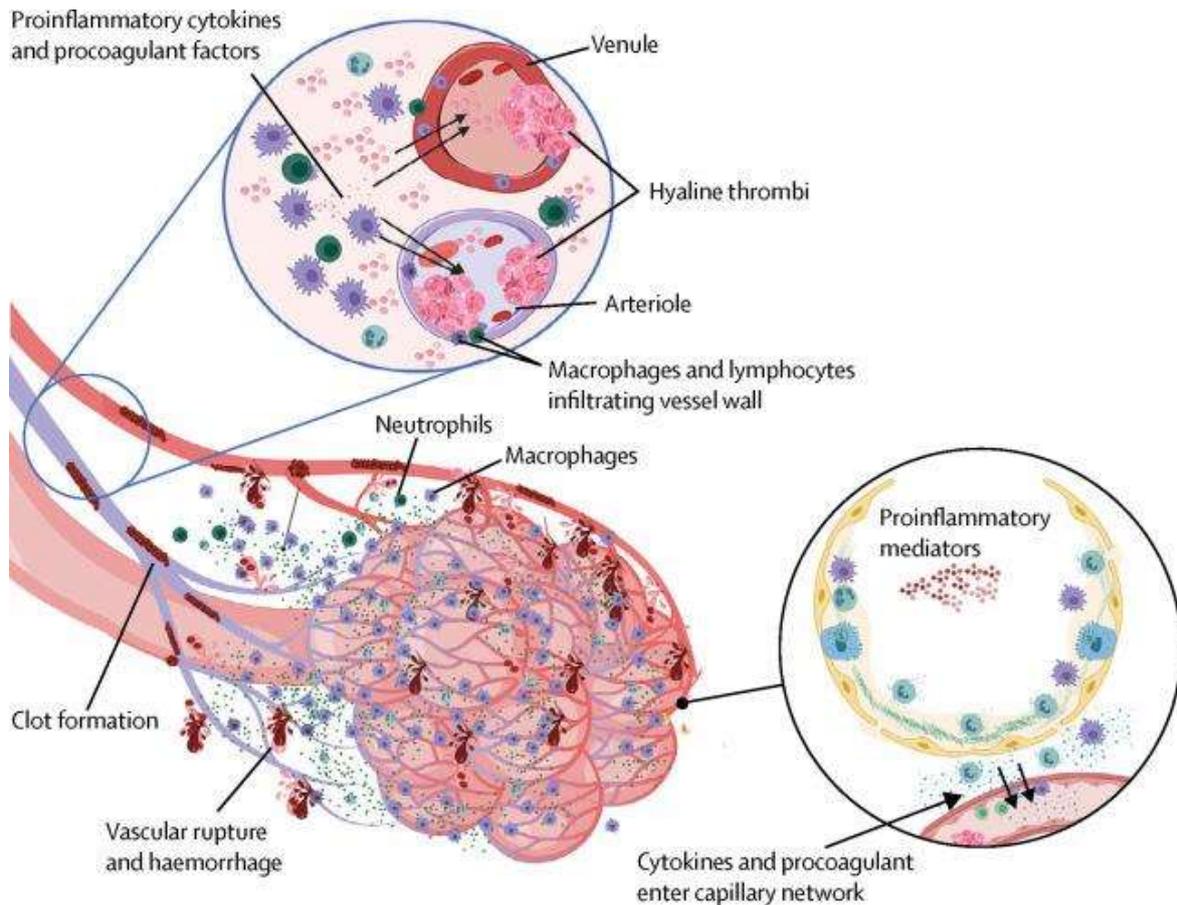
Il meccanismo immunitario alla base dell'infiammazione interstiziale alveolare e polmonare diffusa nel COVID-19 comporta uno **stato di tipo MAS con un'immunotrombosi estesa**, che potrebbe smascherare le malattie cardiovascolari subcliniche.

<sup>193</sup> Seguin A, Galicier L, Boutboul D, Lemiale V, Azoulay E. Pulmonary Involvement in Patients With Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Chest*. 2016;149(5):1294-1301. doi:10.1016/j.chest.2015.11.004 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26836913/>

<sup>194</sup> Nicholls JM, Poon LL, Lee KC, et al. Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome. *Lancet*. 2003;361(9371):1773-1778. doi:10.1016/s0140-6736(03)13413-7 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7112492/>

<sup>195</sup> Guarner J, Paddock CD, Shieh WJ, et al. Histopathologic and immunohistochemical features of fatal influenza virus infection in children during the 2003-2004 season. *Clin Infect Dis*. 2006;43(2):132-140. doi:10.1086/505122 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16779738/>

<sup>196</sup> Dennis McGonagle, James S O'Donnell, Kassem Sharif, Paul Emery, Charles Bridgewood Immune mechanisms of pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19 pneumonia *Lancet Rheumatol* 2020; 2: e437-45 May 7, 2020 [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30121-1](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30121-1) [https://www.thelancet.com/journals/lanrhe/article/PIIS2665-9913\(20\)30121-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanrhe/article/PIIS2665-9913(20)30121-1/fulltext)



[https://www.thelancet.com/journals/lanrhe/article/PIIS2665-9913\(20\)30121-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanrhe/article/PIIS2665-9913(20)30121-1/fulltext)

Schema che mostra come il coinvolgimento polmonare di COVID-19 esteso con un'ampia interfaccia anatomica tra pneumociti di tipo II infetti, l'attivazione estesa degli immunociti interstiziali simile alla sindrome da attivazione dei macrofagi e l'estesa rete microvascolare polmonare, inneschi l'infiammazione estrinseca del letto polmonare diffuso con immunotrombosi. Questa infiammazione causa un'immunopatologia microtrombotica che porta a stress ventricolare destro e contribuisce alla mortalità. La patologia diffusa di tipo II centrata sugli pneumociti con estensione nell'interstizio porta a un vasto reclutamento e attivazione di macrofagi polmonari, con conseguente quadro clinico simile alla sindrome di attivazione dei macrofagi locali. Mediatori proinfiammatori e procoagulanti accedono alla rete capillare (cerchio inferiore). La natura a bassa pressione del sistema vascolare e delle pareti sottili dei vasi all'interno e prossimale della rete alveolare innesca l'immunotrombosi mediante vari meccanismi (ad esempio, per aumenti locali delle citochine proinfiammatorie), danni ai tessuti delle pareti dei vasi con produzione di fattore tissutale e lesioni dirette ai piccoli vasi. Una vigorosa attività fibrinolitica (rilevata precocemente dall'elevazione del D-dimero) potrebbe non tenere sotto controllo l'ampia formazione di microtrombi, che porta all'evoluzione di infarto polmonare, emorragia e ipertensione polmonare indotta dalla coagulopatia intravascolare polmonare, tutti determinati dall'infiammazione da COVID-19. Pertanto, i fattori di rischio per le malattie cardiovascolari potrebbero aumentare la probabilità di morte nell'infiammazione grave da COVID-19. COVID-19 = malattia da coronavirus 2019.

L'inizio della cascata coagulativa indotta dall'infiammazione che porta ad un aumento dello stato di coagulazione è quasi sempre mediato dall'espressione della cascata del fattore tissutale (TF; chiamato anche CD142 o fattore III della coagulazione).<sup>197</sup>

Il TF è espresso su cellule mononucleate in risposta a citochine pro-infiammatorie (principalmente IL-6), ma anche su cellule endoteliali vascolari ed è noto per promuovere la trasformazione della protrombina in trombina, che a sua volta converte il fibrinogeno circolante in fibrina con formazione di coaguli di sangue a base di fibrina.<sup>198</sup>

<sup>197</sup> Simmons J, Pittet JF.

The coagulopathy of acute sepsis.

Curr Opin Anaesthesiol. 2015;28(2):227-236. doi:10.1097/ACO.0000000000000163

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4407200/>

<sup>198</sup> van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG.

The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets.

Nat Rev Immunol. 2017;17(7):407-420. doi:10.1038/nri.2017.36

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28436424/>

Inoltre, le principali vie anticoagulanti naturali, come l'antitrombina o l'inibitore della via del TF, sono quasi sempre compromesse durante l'infiammazione, e contribuiscono ulteriormente alla propagazione della coagulazione.

In assenza di lesioni vascolari, l'inizio della coagulazione dipende completamente dal reclutamento di monociti infiammatori che esprimono il TF da parte di cellule endoteliali attivate.<sup>199</sup>

È anche possibile che i fosfolipidi ossidati (OxPLs), che sono stati rilevati nei polmoni dei pazienti infetti da SARS-CoV<sup>200</sup>, contribuiscano al processo.<sup>201</sup>

Gli OxPLs sono prodotti a seguito dello stress ossidativo, promuovono l'induzione dell'espressione del TF e dei programmi infiammatori nei monociti e attivano le cellule endoteliali per reclutare i monociti.<sup>202</sup>

Interferire con l'attivazione dei monociti e/o delle cellule endoteliali in risposta agli OxPL potrebbe aiutare a prevenire le complicanze trombotiche, in particolare nei pazienti con COVID-19<sup>203</sup> che hanno comorbidità cardiovascolari e metaboliche preesistenti.

È importante sottolineare che un numero inferiore di piastrine, un aumento dei livelli di prodotti di degradazione della fibrina (D-dimeri)<sup>204</sup> e anomalie della coagulazione sono sempre più associati a una prognosi sfavorevole e potrebbero rappresentare una delle cause principali di insufficienza d'organo e morte in pazienti con COVID-19 grave<sup>205</sup>.

Microtrombi nei polmoni, arti inferiori, mani, cervello<sup>206</sup>, cuore, fegato e reni<sup>207</sup> sono stati descritti in pazienti con COVID-19.

<sup>199</sup> von Brühl ML, Stark K, Steinhart A, et al.

Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med.* 2012;209(4):819-835. doi:10.1084/jem.20112322 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3328366/>

<sup>200</sup> Imai Y, Kuba K, Neely GG, et al.

Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. *Cell.* 2008;133(2):235-249. doi:10.1016/j.cell.2008.02.043 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7112336/>

<sup>201</sup> Berliner JA, Watson AD.

A role for oxidized phospholipids in atherosclerosis [published correction appears in *N Engl J Med.* 2005 Oct 27;353(17):1869]. *N Engl J Med.* 2005;353(1):9-11. doi:10.1056/NEJMp058118 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16000351/>

<sup>202</sup> Owens AP 3rd, Passam FH, Antoniak S, et al.

Monocyte tissue factor-dependent activation of coagulation in hypercholesterolemic mice and monkeys is inhibited by simvastatin. *J Clin Invest.* 2012;122(2):558-568. doi:10.1172/JCI58969 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3266787/>

<sup>203</sup> Erol A.

Role of oxidized LDL-induced "trained macrophages" in the pathogenesis of COVID-19 and benefits of pioglitazone: A hypothesis. *Diabetes Metab Syndr.* 2020;14(4):713-714. doi:10.1016/j.dsx.2020.05.007 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7214326/>

<sup>204</sup> Tang N, Bai H, Chen X, Gong J, Li D, Sun Z.

Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost.* 2020;18(5):1094-1099. doi:10.1111/jth.14817 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jth.14817>

<sup>205</sup> Xiang-Hua Y, Le-Min W, Ai-Bin L, et al.

Severe acute respiratory syndrome and venous thromboembolism in multiple organs. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;182(3):436-437. doi:10.1164/ajrccm.182.3.436 <https://www.atsjournals.org/doi/pdf/10.1164/ajrccm.182.3.436>

<sup>206</sup> Zhang Y, Xiao M, Zhang S, et al.

Coagulopathy and Antiphospholipid Antibodies in Patients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2020;382(17):e38. doi:10.1056/NEJMc2007575 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7161262/>

<sup>207</sup> Levi M, Nieuwdorp M, van der Poll T, Stroes E.

## APPROFONDIMENTO

### FISIOPATOLOGIA DELL'EMOSTASI

#### IL PROCESSO EMOSTATICO

#### PANORAMICA SUI DISTURBI DELLA COAGULAZIONE

#### EMBOLIA POLMONARE (PE)

#### TROMBOSI VENOSA PROFONDA

#### COAGULAZIONE INTRAVASCOLARE DISSEMINATA (CID)

L'infezione da SARS-CoV-2 delle cellule epiteliali bronchiali umane può indurre tre risposte molecolari chiave che promuovono le coagulopatie associate al COVID-19;

- (1) **induzione della cascata di coagulazione** estrinseca attraverso l'attivazione della segnalazione di fattori tissutali senza espressione degli inibitori compensativi;
- (2) la **soppressione della segnalazione anticoagulante** attraverso la sottoregolazione della proteina S \* nello spazio polmonare;
- (3) la **sovra-regolazione delle proteine di inattivazione del plasminogeno** e dei fattori che localizzano il coagulo nel sito di lesione.

*\*La proteina C è il maggiore anticoagulante fisiologico. La sua sintesi avviene nel fegato, è vitamina K-dipendente ed è attivata dalla trombina nella proteina C attiva. La forma attiva della proteina C (grazie alla proteina S come cofattore) inattiva, mediante un meccanismo di proteolisi, il Fattore V e il Fattore VIII della coagulazione. Pertanto la proteina C assieme alla proteina S e all'antitrombina III, ha il compito di controllare un eccesso di attività coagulativa.*

Tali attività da parte delle cellule epiteliali polmonari infettate in vivo potrebbero predisporre in modo significativo i pazienti all'iper-coagulazione associata a SARS-CoV-2.

Studi recenti <sup>208</sup> indicano che il profilo di espressione degli stessi geni che regolano la coagulazione non sono sovra-regolati nelle cellule epiteliali bronchiali umane infette da IAV (virus influenzale A), suggerendo che la

---

Metabolic modulation of inflammation-induced activation of coagulation.  
Semin. Thromb. Hemost. 2008;34:26–32. doi: 10.1055/s-2008-1066020  
<https://www.ahajournals.org/doi/epub/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047549>

<sup>208</sup> Costanzo L, Palumbo FP, Ardita G, et al.  
Coagulopathy, thromboembolic complications, and the use of heparin in COVID-19 pneumonia [published online ahead of print, 2020 Jun 17]. J Vasc Surg Venous Lymphat Disord. 2020;S2213-333X(20)30342-5. doi:10.1016/j.jvsv.2020.05.018  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7297687/>

Henry BM, Vikse J, Benoit S, Favaloro EJ, Lippi G.  
Hyperinflammation and derangement of renin-angiotensin-aldosterone system in COVID-19: A novel hypothesis for clinically suspected hypercoagulopathy and microvascular immunothrombosis.  
Clin Chim Acta. 2020;507:167-173. doi:10.1016/j.cca.2020.04.027  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7195008/>

Amiral J, Vissac AM, Seghatchian J.  
Covid-19, induced activation of hemostasis, and immune reactions: Can an auto-immune reaction contribute to the delayed severe complications observed in some patients?.  
Transfus Apher Sci. 2020;59(3):102804. doi:10.1016/j.transci.2020.102804  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7252011/>

Ranucci M, Ballotta A, Di Dedda U, et al.  
The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome.  
J Thromb Haemost. 2020;18(7):1747-1751. doi:10.1111/jth.14854

gravità della coagulopatia nei pazienti COVID-19 può essere derivata da cambiamenti nelle cellule epiteliali polmonari infette.<sup>209</sup>

Un modello di danno tissutale coerente con il danno microvascolare mediato dal complemento è stato osservato nel polmone e/o nella pelle di 5 individui con COVID-19 grave con la deposizione di C5b-9, C4d e MASP2 nel microcircolo dei due sistemi di organi.

Dall'esame delle caratteristiche morfologiche e molecolari di sette polmoni ottenuti durante l'autopsia da pazienti deceduti per infezione da SARSCoV-2 e confrontate con quelle di pazienti deceduti per infezione da ARDS secondaria a influenza A (H1N1) e da controlli non infetti<sup>210</sup> è emerso che i polmoni dei pazienti con ovid-19 e con influenza condividevano un modello morfologico comune di danno alveolare diffuso e infiltrazione di linfociti perivascolari, però c'erano **tre caratteristiche angiocentriche distintive nel Covid-19**.

- La prima caratteristica è una grave lesione endoteliale associata alla presenza intracellulare del SARS-CoV-2 e la distruzione delle membrane delle cellule endoteliali.
- In secondo luogo, i polmoni dei pazienti con Covid-19 avevano una trombosi vascolare diffusa con microangiopatia e occlusione dei capillari alveolari.<sup>211</sup>
- In terzo luogo, i polmoni di pazienti con Covid-19 avevano una significativa crescita di nuovi vasi attraverso un meccanismo di angiogenesi intussuscettiva\*. Sebbene il campione fosse piccolo, le caratteristiche vascolari identificate potrebbero essere distintive in alcuni casi di Covid-19.<sup>212</sup>

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jth.14854>

Connors JM, Levy JH.  
Thromboinflammation and the hypercoagulability of COVID-19.  
J Thromb Haemost. 2020;18(7):1559-1561. doi:10.1111/jth.14849  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jth.14849>

<sup>209</sup> FitzGerald ES, Jamieson AM.  
Unique transcriptional changes in coagulation cascade genes in SARS-CoV-2-infected lung epithelial cells: A potential factor in COVID-19 coagulopathies.  
Preprint. bioRxiv. 2020;2020.07.06.182972. Published 2020 Jul 7. doi:10.1101/2020.07.06.182972  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7359516/>

<sup>210</sup> Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, et al.  
Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19.  
N Engl J Med. 2020;383(2):120-128. doi:10.1056/NEJMoa2015432  
<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2015432>

Hariri L, Hardin CC.  
Covid-19, Angiogenesis, and ARDS Endotypes.  
N Engl J Med. 2020;383(2):182-183. doi:10.1056/NEJMe2018629  
[https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMe2018629?query=recirc\\_curatedRelated\\_article](https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMe2018629?query=recirc_curatedRelated_article)

<sup>211</sup> Spherhake JP.  
Autopsies of COVID-19 deceased? Absolutely!  
[published online ahead of print, 2020 Jul 26]. Leg Med (Tokyo). 2020;47:101769. doi:10.1016/j.legalmed.2020.101769  
<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2015432>

van Dam LF, Kroft LJM, van der Wal LI, et al.  
Clinical and computed tomography characteristics of COVID-19 associated acute pulmonary embolism: A different phenotype of thrombotic disease?  
[published online ahead of print, 2020 Jun 6]. Thromb Res. 2020;193:86-89. doi:10.1016/j.thromres.2020.06.010  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7274953/>

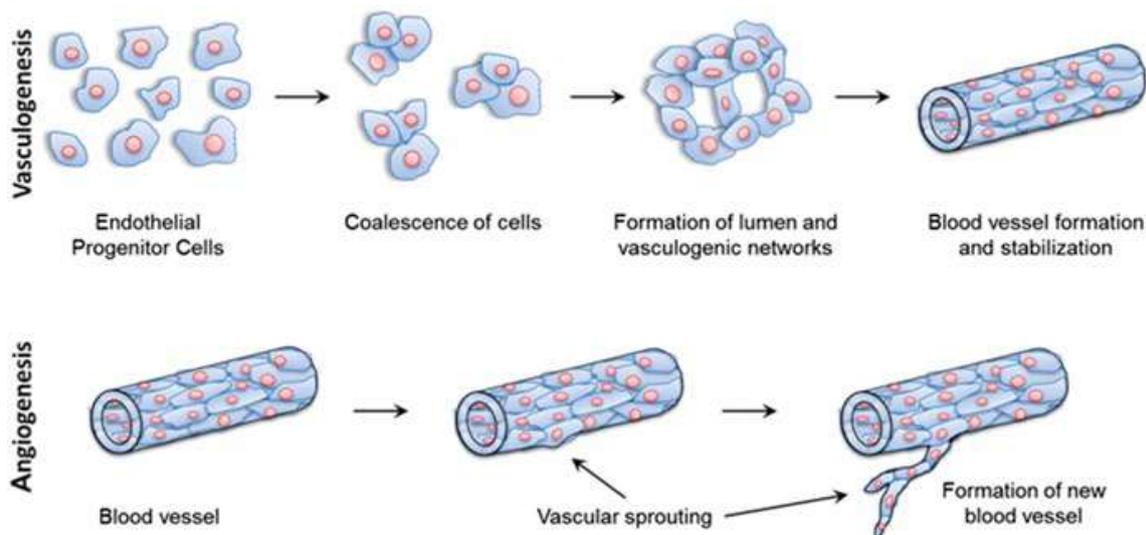
<sup>212</sup> Zhou Z, Ren L, Zhang L, et al.  
Heightened Innate Immune Responses in the Respiratory Tract of COVID-19 Patients.  
Cell Host Microbe. 2020;27(6):883-890.e2. doi:10.1016/j.chom.2020.04.017  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7196896/>

Iba T, Levy JH, Connors JM, Warkentin TE, Thachil J, Levi M.  
The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy.  
Crit Care. 2020;24(1):360. Published 2020 Jun 18. doi:10.1186/s13054-020-03077-0  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7301352/>

**\* vasculogenesi e angiogenesi**

Due meccanismi distinti, la vasculogenesi e l'angiogenesi, implementano la formazione della rete vascolare. Mentre la vasculogenesi si riferisce alla differenziazione in situ e alla crescita dei vasi sanguigni dagli emangioblasti di derivazione mesodermica, l'angiogenesi comprende due diversi meccanismi: la germinazione endoteliale e crescita microvascolare intussuscettiva (IMG).

Il processo di germinazione si basa sulla migrazione delle cellule endoteliali, sulla proliferazione e sulla formazione del tubo. L'IMG divide i lumi dei vasi esistenti mediante la formazione e l'inserimento di pieghe e colonne di tessuto interstiziale nel lume del vaso. Questi ultimi sono definiti strutture interstiziali o intervascolari di tessuto (ITS) e pilastri o colonne di tessuto. L'intussuscezione comprende anche la creazione di nuovi vasi mediante la formazione di anelli in situ nella parete di grandi vene <sup>213</sup>



[https://www.researchgate.net/publication/298084071\\_Microscale\\_Technologies\\_for\\_Engineering\\_Complex\\_Tissue\\_Structures](https://www.researchgate.net/publication/298084071_Microscale_Technologies_for_Engineering_Complex_Tissue_Structures)

**La formazione di nuovi vasi sanguigni avviene tramite vasculogenesi e angiogenesi.** La vasculogenesi è un processo di formazione spontanea di vasi sanguigni da cellule progenitrici endoteliali. Le cellule progenitrici proliferano e formano il lume che alla fine porta alla formazione di nuovi vasi sanguigni. L'angiogenesi è la formazione di nuovi vasi sanguigni da quelli preesistenti attraverso la germinazione vascolare

<sup>213</sup> Patan S.

Vasculogenesis and angiogenesis as mechanisms of vascular network formation, growth and remodeling. J Neurooncol. 2000;50(1-2):1-15. doi:10.1023/a:1006493130855  
<https://link.springer.com/article/10.1023/A:1006493130855>

Peak, Charles & Cross, Lauren & Singh, Ankur & Gaharwar, Akhilesh  
 Microscale Technologies for Engineering Complex Tissue Structures. (2015) 10.1007/978-3-319-20726-1\_1.  
[https://www.researchgate.net/publication/298084071\\_Microscale\\_Technologies\\_for\\_Engineering\\_Complex\\_Tissue\\_Structures](https://www.researchgate.net/publication/298084071_Microscale_Technologies_for_Engineering_Complex_Tissue_Structures)

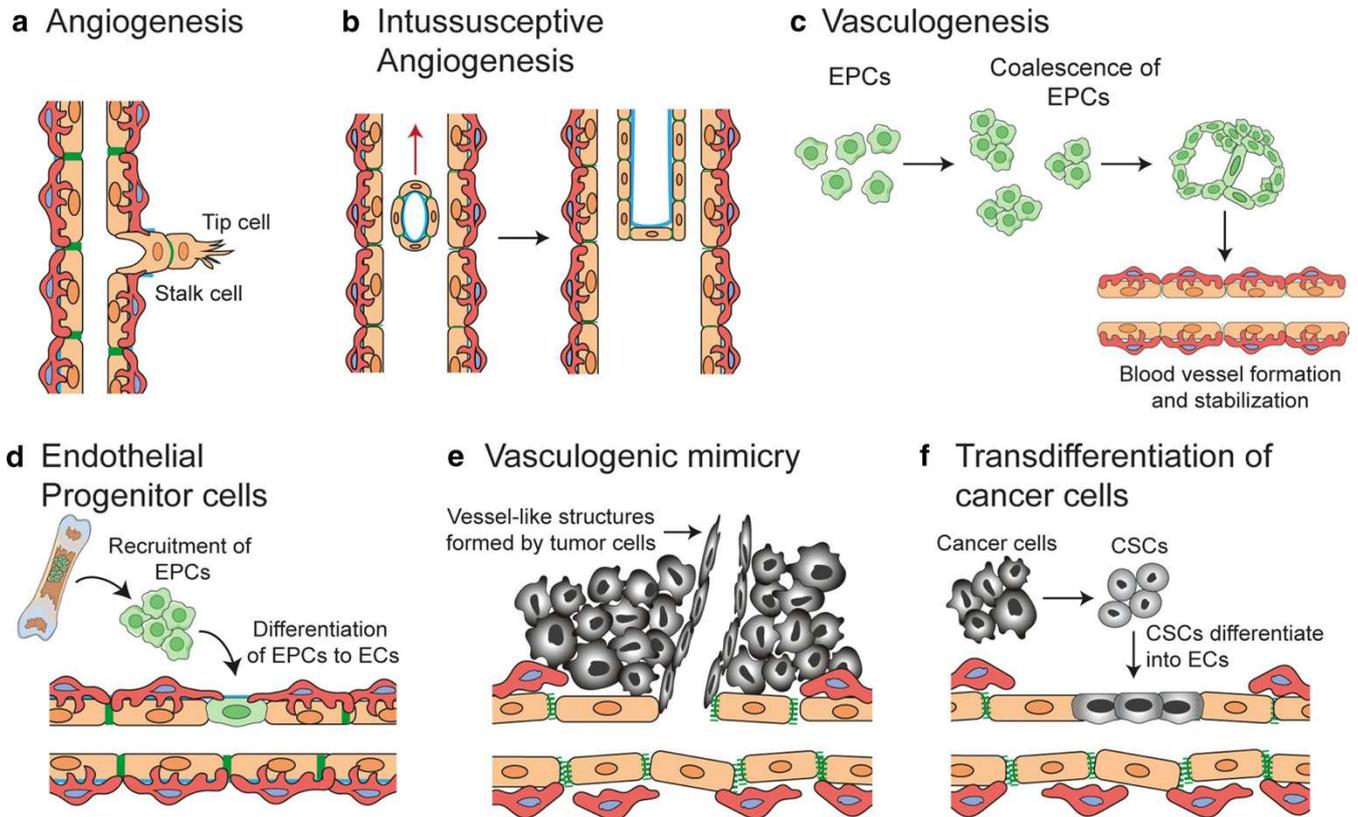
Lugano R, Ramachandran M, Dimberg A.  
 Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. Cell Mol Life Sci. 2020;77(9):1745-1770. doi:10.1007/s00018-019-03351-7  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7190605/>

Djonov V, Baum O, Burri PH.  
 Vascular remodeling by intussusceptive angiogenesis. Cell Tissue Res. 2003;314(1):107-117. doi:10.1007/s00441-003-0784-3  
[https://boris.unibe.ch/118035/1/441\\_2003\\_Article\\_784.pdf](https://boris.unibe.ch/118035/1/441_2003_Article_784.pdf)

De Spiegelaere W, Casteleyn C, Van den Broeck W, et al.  
 Intussusceptive angiogenesis: a biologically relevant form of angiogenesis [published correction appears in J Vasc Res. 2012;49(5):416]. J Vasc Res. 2012;49(5):390-404. doi:10.1159/000338278  
<https://www.karger.com/Article/Pdf/338278>

Mentzer SJ, Konerding MA.  
 Intussusceptive angiogenesis: expansion and remodeling of microvascular networks. Angiogenesis. 2014;17(3):499-509. doi:10.1007/s10456-014-9428-3  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4063884/>

Djonov V, Schmid M, Tschanz SA, Burri PH.  
 Intussusceptive angiogenesis: its role in embryonic vascular network formation. Circ Res. 2000;86(3):286-292. doi:10.1161/01.res.86.3.286  
<https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/01.res.86.3.286>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7190605/>

**Meccanismi di formazione dei vasi sanguigni.** La neo-vascolarizzazione nei tessuti e nei tumori normali si verifica attraverso uno o più dei seguenti meccanismi: **a Angiogenesi di germinazione:** un processo che coinvolge la formazione e la crescita dei germogli (cellule della punta), che alla fine si fondono con un vaso esistente o germinazioni di nuova formazione. **b Angiogenesi intussusettiva:** la formazione di nuova vascolarizzazione in cui un vaso preesistente si divide in due. **c Vasculogenesi:** neo-vascolarizzazione prenatale da cellule progenitrici endoteliali. Le cellule progenitrici endoteliali proliferano e formano i lumi, infine si assemblano in nuovi vasi sanguigni. **d Reclutamento di cellule progenitrici endoteliali:** formazione di vasi nei tumori mediante reclutamento di cellule progenitrici endoteliali circolanti. **e Mimetismo vascolare:** una rete a conduzione fluida incorporata nella matrice formata da cellule tumorali. **f Transdifferenziazione delle cellule staminali tumorali (CSC):** neo-vascolarizzazione nei tumori attraverso la differenziazione delle CSC nelle cellule endoteliali

La scoperta da parte di questo gruppo di ricerca dell'induzione dell'angiogenesi intussusettiva nei polmoni di pazienti con Covid-19 rispetto ai polmoni di pazienti con influenza è stata inaspettata.

La crescita di nuovi vasi può avvenire mediante **germinazione convenzionale** o **angiogenesi intussusettiva** (non germinativa).

La caratteristica dell'angiogenesi intussusettiva è la presenza di un tubo che attraversa il lume del vaso.<sup>214</sup> Tipicamente indicato come un pilastro intussusettivo, questa struttura intravascolare con rivestimento endoteliale non è vista dalla microscopia ottica ma è facilmente identificabile mediante la "corrosion casting"<sup>215</sup> e la microscopia elettronica a scansione.<sup>216</sup>

<sup>214</sup> Java A, Apicelli AJ, Liszewski MK, et al.

The complement system in COVID-19: friend and foe?

[published online ahead of print, 2020 Jun 18]. JCI Insight. 2020;140711. doi:10.1172/jci.insight.140711

<https://insight.jci.org/articles/view/140711>

<sup>215</sup> Rueda-Esteban, R.; López-McCormick, J.; Martínez, D. & Hernández, J.

Corrosion casting, a known technique for the study and teaching of vascular and duct structure in anatomy.

Int. J. Morphol., 35(3):1147-1153, 2017

<https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v35n3/art53.pdf>

<sup>216</sup> Lakshmanan, H.H.S., Pore, A.A., Kohs, T.C.L. et al.

Design of a Microfluidic Bleeding Chip to Evaluate Antithrombotic Agents for Use in COVID-19 Patients.

Cel. Mol. Bioeng. (2020). <https://doi.org/10.1007/s12195-020-00644-x>

<https://link.springer.com/article/10.1007/s12195-020-00644-x>

Sebbene l'ipossia tissutale sia probabilmente una caratteristica comune nei polmoni di entrambi i gruppi, gli autori ipotizzano che il maggior grado di endotelialite e trombosi nei polmoni di pazienti con Covid-19 possa contribuire alla frequenza relativa della germinazione e angiogenesi intussuscettiva osservate, però la correlazione di questo fenomeno con il decorso clinico di Covid-19 non è ancora chiaro.

Una grande limitazione dello studio è che il campione era piccolo; sono stati studiati solo 7 pazienti tra le oltre 320.000 persone decedute per Covid-19 e va tenuto presente che i dati delle autopsie rappresentano informazioni statiche e non permettono di valutare l'andamento dinamico del decesso.

Allo stesso modo, è possibile che le differenze nell'angiogenesi intussuscettiva possano essere dovute ai diversi decorsi temporali di Covid-19 e influenza.<sup>217</sup>

Nonostante queste limitazioni, lo studio ha dimostrato che l'angiogenesi intussuscettiva è il meccanismo angiogenico predominante anche nelle fasi avanzate della lesione polmonare cronica; inoltre è stato riscontrato un numero maggiore di cellule endoteliali ACE2 positive e cambiamenti significativi nella morfologia endoteliale, una scoperta coerente con un ruolo centrale delle cellule endoteliali nella fase vascolare del Covid-19.

Le cellule endoteliali nei campioni di pazienti con Covid-19 hanno mostrato interruzioni delle giunzioni intercellulari, rigonfiamento delle cellule e perdita di contatto con la membrana basale.

La presenza del virus SARS-CoV-2 all'interno delle cellule endoteliali, una constatazione coerente con altri studi,<sup>218</sup> suggerisce che gli effetti virali diretti e l'infiammazione perivascolare possono contribuire alla lesione endoteliale.

Infine, un'analisi in multiplex dell'espressione genica correlata all'angiogenesi di 323 geni dal pannello di progressione PanCancer nCounter (tecnologie NanoString) ha rivelato differenze tra i campioni dei pazienti con Covid-19 e quelli dei pazienti con influenza.

Un totale di 69 geni correlati all'angiogenesi era regolato in modo differenziato solo nel gruppo Covid-19, rispetto a 26 geni regolati in modo differenziale solo nel gruppo influenzale; 45 geni hanno condiviso cambiamenti nell'espressione.

### La triade di Vinchow

Tre principali fattori (triade di Virchow) predispongono alla formazione della trombosi (attivazione impropria della coagulazione in sede intra-vascolare, in assenza della rottura del vaso):

- danno all'endotelio (endotelite vascolare)
- stasi o turbolenza del flusso ematico
- iper-coagulabilità (trombofilia) del sangue (aumento della velocità di base della cascata coagulativa)

<sup>217</sup> Alharthy A, Faqih F, Memish ZA, Karakitsos D.

Fragile Endothelium and Brain Dysregulated Neurochemical Activity in COVID-19.

ACS Chem Neurosci. 2020;11(15):2159-2162. Published 2020 Jul 27. doi:10.1021/acchemneuro.0c00437

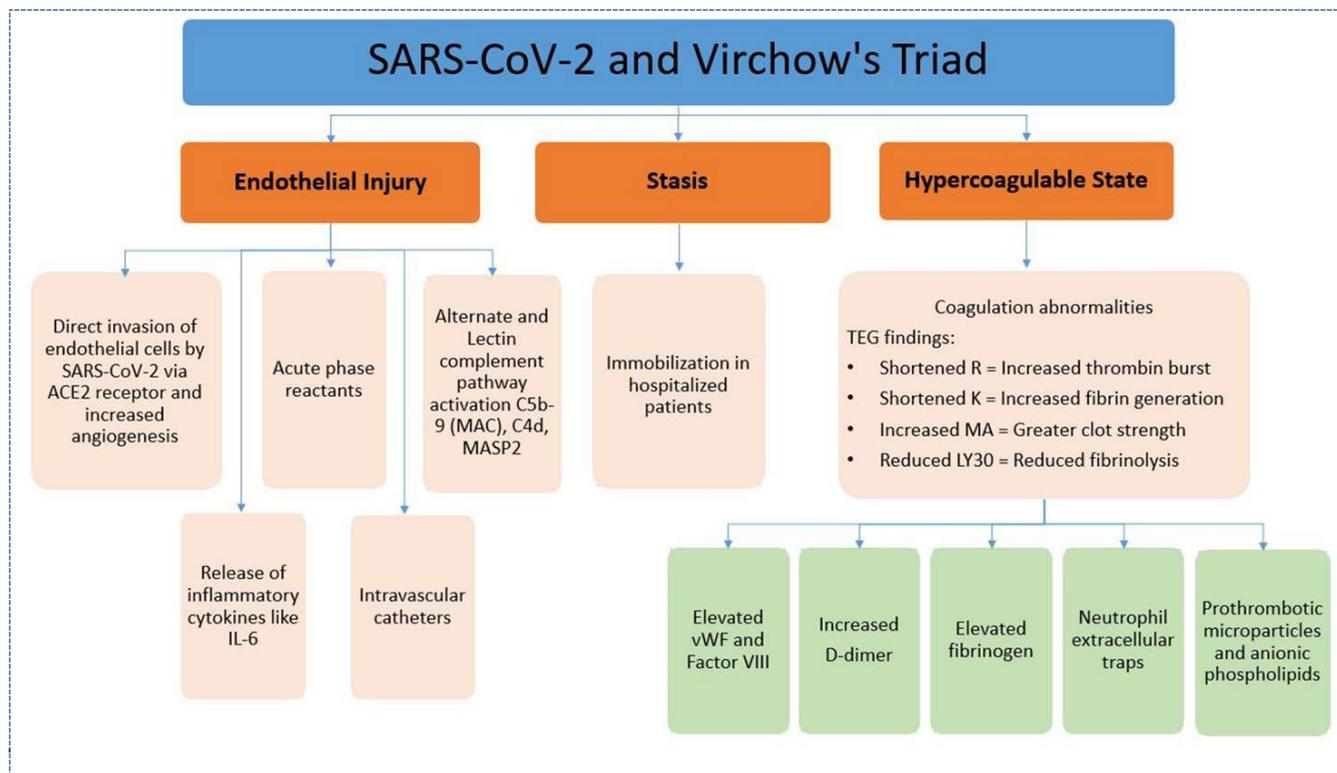
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7393674/>

<sup>218</sup> Singhania N, Bansal S, Nimmatooi DP, Ejaz AA, McCullough PA, Singhania G.

Current Overview on Hypercoagulability in COVID-19

[published online ahead of print, 2020 Aug 4]. Am J Cardiovasc Drugs. 2020;1-11. doi:10.1007/s40256-020-00431-z

<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs40256-020-00431-z>



<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs40256-020-00431-z>

**Patogenesi della coagulopatia in COVID-19.** Il danno endoteliale (endoteliite) è causato dal danno diretto delle cellule endoteliali da parte del virus SARS-CoV-2 tramite i recettori ACE-2, dal rilascio di citochine infiammatorie come IL-6, di reagenti della fase acuta, dall'attivazione del complemento e dal danno diretto da cateteri intravascolari. La stasi è dovuta all'immobilizzazione in tutti i pazienti ospedalizzati. Lo stato ipercoagulabile è dovuto a fattori protrombotici circolanti elevati come l'elevata attività del vWF, fattore VIII, D-dimero, fibrinogeno, trappole extracellulari neutrofilari, microparticelle protrombotiche e fosfolipidi anionici. I risultati della TEG hanno mostrato una riduzione della R (aumento della trombina precoce), una riduzione della K (aumento della generazione di fibrina), un aumento della MA (maggiore forza del coagulo) e riduzione della LY30 (riduzione della fibrinolisi). ACE-2 enzima di conversione dell'angiotensina 2, complemento C4d, complemento C5b-9 5b-9, malattia coronavirus COVID-19 2019, interleuchina IL, tempo di formazione del coagulo K, lisi del coagulo LY30 a 30 min, ampiezza massima MA, attacco MAC membrana proteasi serina 2 associata a proteina MASP2 associata a mannosio, tempo di reazione R, sindrome respiratoria acuta grave SARS-CoV-2 coronavirus 2, tromboelastografia TEG, fattore vWF von Willebrand

**RIASSUNTO**

La malattia da coronavirus 2019 (COVID-19), che sta provocando centinaia di migliaia di morti nel mondo, è complessa e può presentare una localizzazione multiorgano. Essa può determinare polmonite interstiziale con insufficienza respiratoria acuta nota come sindrome respiratoria acuta severa da coronavirus 2 (SARS-CoV-2), con necessità di ventilazione non invasiva o invasiva. Nel 5-10% dei casi si rileva coagulopatia severa a prognosi infausta. Il SARS-CoV-2 si configura quale malattia multidimensionale di cui si stanno definendo aspetti fisiopatologici e clinici caratteristici a volte coesistenti:

**a)** un' aumentata risposta immunologica ed infiammatoria con attivazione di una tempesta citochinica e conseguente coagulopatia, che favorisce sia eventi di tromboembolismo venoso (TEV), sia la trombosi in situ a livello delle arteriole e dei capillari alveolari polmonari; **b)** un alto shunt intrapolmonare, che rende spesso ragione della severità dell' insufficienza respiratoria, attribuito ad una ridotta vasocostrizione polmonare ipossica con fenomeni neo-angiogenetici polmonari.

Inoltre, l'elevata incidenza di TEV nei pazienti COVID-19 ricoverati in unità di terapia intensiva ed il riscontro autoptico di microtrombosi in situ a livello vascolare polmonare, sta evidenziando che in tale malattia, la coagulopatia, a differenza della coagulazione intravascolare disseminata in corso di sepsi, è sbilanciata verso un' aumentata trombogenicità dando luogo ad un dibattito (con studi in corso) circa l' uso preventivo di dosi anticoagulanti di eparina per ridurre la mortalità. Scopo del presente position paper ANMCO vuole essere quello di sottolineare le principali implicazioni che l' infezione da COVID-19 ha sul circolo polmonare dal punto di vista fisiopatologico, clinico, terapeutico e gestionale.

**Position paper ANMCO: Malattie del circolo polmonare e COVID-19**

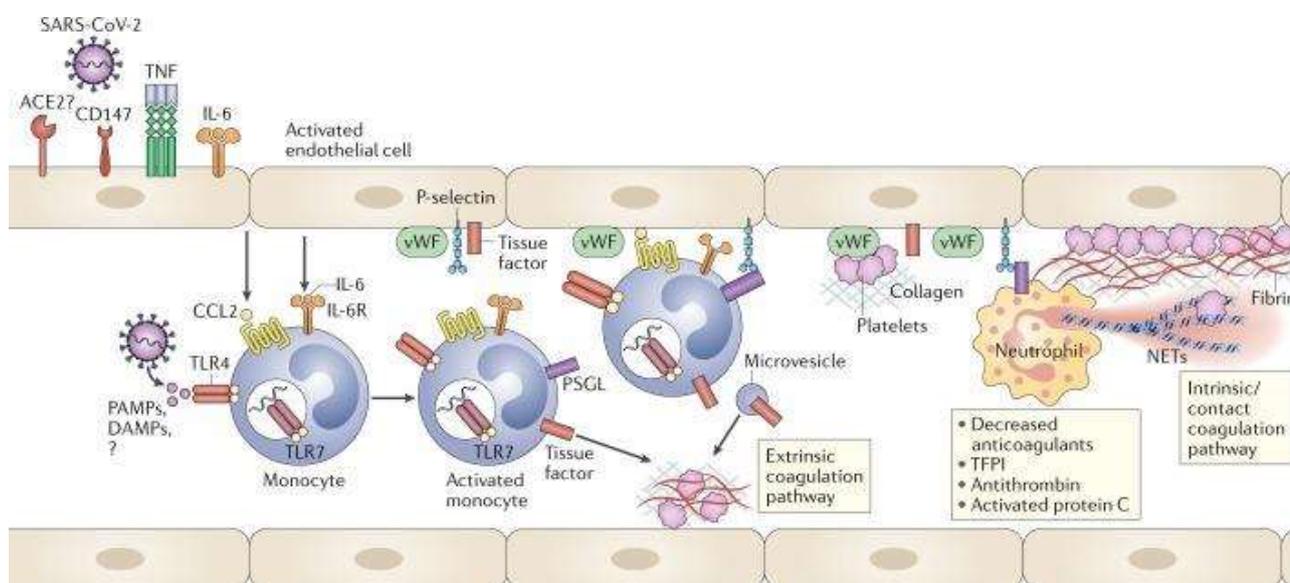
**La coagulopatia associata al COVID-19 (CAC - COVID-19-associated coagulopathy) e la TTP-like" sindrome**

I cambiamenti della coagulazione associati al COVID-19 imitano altre coagulopatie sistemiche che si osservano regolarmente durante infezioni gravi, come la coagulazione intravascolare disseminata o la microangiopatia trombotica.

Tuttavia, allo stesso tempo, le caratteristiche cliniche e di laboratorio delle variazioni della coagulazione nel COVID-19 sono nettamente diverse da quelle che si osservano nella presentazione comune di queste condizioni.

Gravi infezioni da COVID-19 sembrano causare profonde anomalie della coagulazione indotte dall'infiammazione in combinazione con una grave lesione delle cellule endoteliali, con conseguente rilascio massiccio del fattore di von Willebrand e attivatori del plasminogeno.

Questa coagulopatia probabilmente contribuisce alla trombosi microvascolare polmonare, alla deposizione di fibrina broncoalveolare (che è un segno distintivo della sindrome da distress respiratorio dell'adulto) e alle complicanze tromboemboliche.<sup>219</sup>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7201395/>

**Possibile contributo dei monociti iperattivati alla coagulazione in COVID-19.**

Gli stimoli pro-infiammatori circolanti, come i pattern molecolari associati ai patogeni virali (PAMP), i pattern molecolari associati al danno (DAMP) e le citochine, innescano l'attivazione dei monociti del sangue, che rispondono inducendo l'espressione della membrana del fattore tissutale. Le cellule endoteliali sono attivate da citochine e particelle virali e producono chemoattraenti monocitici e molecole di adesione. Il danno endoteliale indotto dal virus può anche esporre il fattore tissutale sulle cellule endoteliali. I monociti attivati vengono reclutati nelle cellule endoteliali. Il fattore tissutale espresso dai monociti attivati, dalle microvesicole derivate dai monociti e dalle cellule endoteliali attiva la via estrinseca della coagulazione, portando alla deposizione di fibrina e alla coagulazione del sangue. I neutrofili sono reclutati da cellule endoteliali attivate e rilasciano trappole extracellulari di neutrofili (NET), che attivano la via di contatto della coagulazione e si legano e attivano le piastrine per amplificare la coagulazione del sangue. Le

<sup>219</sup> Levi M.

COVID-19 coagulopathy vs disseminated intravascular coagulation. Blood Adv. 2020;4(12):2850. doi:10.1182/bloodadvances.2020002197 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7322961/>

Levi M, Thachil J, Iba T, Levy JH. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. Lancet Haematol. 2020;7(6):e438-e440. doi:10.1016/S2352-3026(20)30145-9 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7213964/>

Magro G. Cytokine Storm: Is it the only major death factor in COVID-19 patients? Coagulation role [published online ahead of print, 2020 May 12]. Med Hypotheses. 2020;142:109829. doi:10.1016/j.mehy.2020.109829 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7217113/>

Jayarangaiah A, Kariyanna PT, Chen X, Jayarangaiah A, Kumar A. COVID-19-Associated Coagulopathy: An Exacerbated Immunothrombosis Response. Clin Appl Thromb Hemost. 2020;26:1076029620943293. doi:10.1177/1076029620943293 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7401047/>

principali vie anticoagulanti endogene, che includono l'inibitore della via del fattore tissutale (TFPI), antitrombina e proteina C, sono ulteriormente ridotte, supportando l'attivazione della coagulazione. CCL2, CC-chemochina ligando 2; SARS-CoV-2, sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2; TLR, recettoreToll-like; TNF, fattore di necrosi tumorale; vWF, fattore di von Willebrand.

Nella malattia microtrombotica del COVID-19, definita **coagulopatia associata al COVID-19 (CAC - COVID-19-associated coagulopathy)**<sup>220</sup>, grandi quantità di complessi circolanti di microtrombi piastrinici di ULVWF (Endothelial Derived Ultralarge von Willebrand Factor) vengono filtrati dal microcircolo (embolia) o si sviluppano nel microcircolo in situ causando occlusione microtrombotica secondo un nuovo concetto di **"TTP-like" sindrome** (Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP): anemia emolitica microangiopatica e trombocitopenia associate a disfunzione cerebrale e renale)<sup>221</sup>, in cui l'attivazione del complemento e il complesso del complemento terminale (C5b-9, complesso di attacco della membrana, MAC) possono svolgere un ruolo chiave nell'induzione dell'endotelopatia.

Gli autori dello studio ritengono che una terapia appropriata dovrebbe includere la terapia antimicrotrombotica mirata all'endotelopatia ed emostasi primaria nelle prime fasi della malattia (adesione piastrinica, attivazione e aggregazione; in particolare l'eULVWF).<sup>222</sup>

	DIC	Microangiopathy	Covid-19
PT	↑↑	↔	↑↑
PTT	↑↑	↔	↑
Fibrinogen	↓	↔	↑↑
FDPs	↑↑	↔	↑↑
D-dimer	↑	↔	↑↑ or ↑+
Platelet count	↓↓	↓	↑ or ↔
Peripheral blood Smear	++	++	+
VWF	↑↑	↔	↑↑
ADAMTS 13		↓	↔
AT	↓	↓	↑
ACA	↔	↔	+
PC	↓	↔	+

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7225095/>

**Caratteristiche distintive tra la coagulopatia associata a COVID-19, la coagulazione intravascolare disseminata acuta e la microangiopatia trombotica**

+ ≥ 6 times the ULN; ++ peripheral blood smear containing fragmented red blood cells

PT prothrombin time, APTT activated partial thromboplastin time, FDPs fibrin(ogen) degradation products, VWF von Willebrand Factor, ADAMTS-13 a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member, AT antithrombin, ACA anticardiolipin antibodies, PC protein C

<sup>220</sup> Becker RC.

COVID-19 update: Covid-19-associated coagulopathy.

J Thromb Thrombolysis. 2020;50(1):54-67. doi:10.1007/s11239-020-02134-3

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7225095/>

<sup>221</sup> Chang JC.

TTP-like syndrome: novel concept and molecular pathogenesis of endotheliopathy-associated vascular microthrombotic disease.

Thromb J. 2018;16:20. Published 2018 Aug 11. doi:10.1186/s12959-018-0174-4

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6087012/>

<sup>222</sup> Varatharajah N, Rajah S.

Microthrombotic Complications of COVID-19 Are Likely Due to Embolism of Circulating Endothelial Derived Ultralarge von Willebrand Factor (eULVWF) Decorated-Platelet Strings.

Fed Pract. 2020;37(6):258-259.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7357889/>

**Per riassumere** <sup>223</sup>

- IL-1 $\beta$  e IL-6 inducono trombocitosi e iperfibrinogenemia e un'inflammatione prolungata può stimolare la produzione di questi fattori.
- L'inflammatione e la coagulazione sono localizzate all'interno del polmone nelle prime fasi ma, con la progressione della malattia, l'ipercoagulabilità diventa sistemica e procede verso la SIC/DIC.
- L'aumento disregolato del D-dimero è spiegato dalla sovraregolazione della fibrinolisi locale negli alveoli da parte dell'attivatore del plasminogeno di tipo urochinasi (u-PA) rilasciato dai macrofagi alveolari.
- L'infezione diretta delle cellule endoteliali da parte del virus attraverso ACE2 porta a un massiccio rilascio di attivatori del plasminogeno.
- Con l'aumento della gravità della malattia, vi è uno spostamento procoagulante con l'accelerazione della formazione di fibrina prodotta da livelli aumentati di fibrinogeno e piastrine attivate. La fibrinolisi soppressa dal rilascio di PAI-1 accelera la formazione di coaguli nei capillari polmonari.
- Mentre ACE2 aiuta a mediare le proprietà anticoagulanti dell'endotelio vascolare in uno stato sano, il legame di SARS-CoV-2 con ACE2 aggrava il danno cellulare, sovraesprime il fattore tissutale e sottoregola il sistema della proteina C.
- In questa situazione, con o senza complicazioni secondarie come l'ipossia tissutale e l'infezione concomitante, si verificano rapidamente coagulopatia ed eventi trombotici.

**Risultati autoptici**

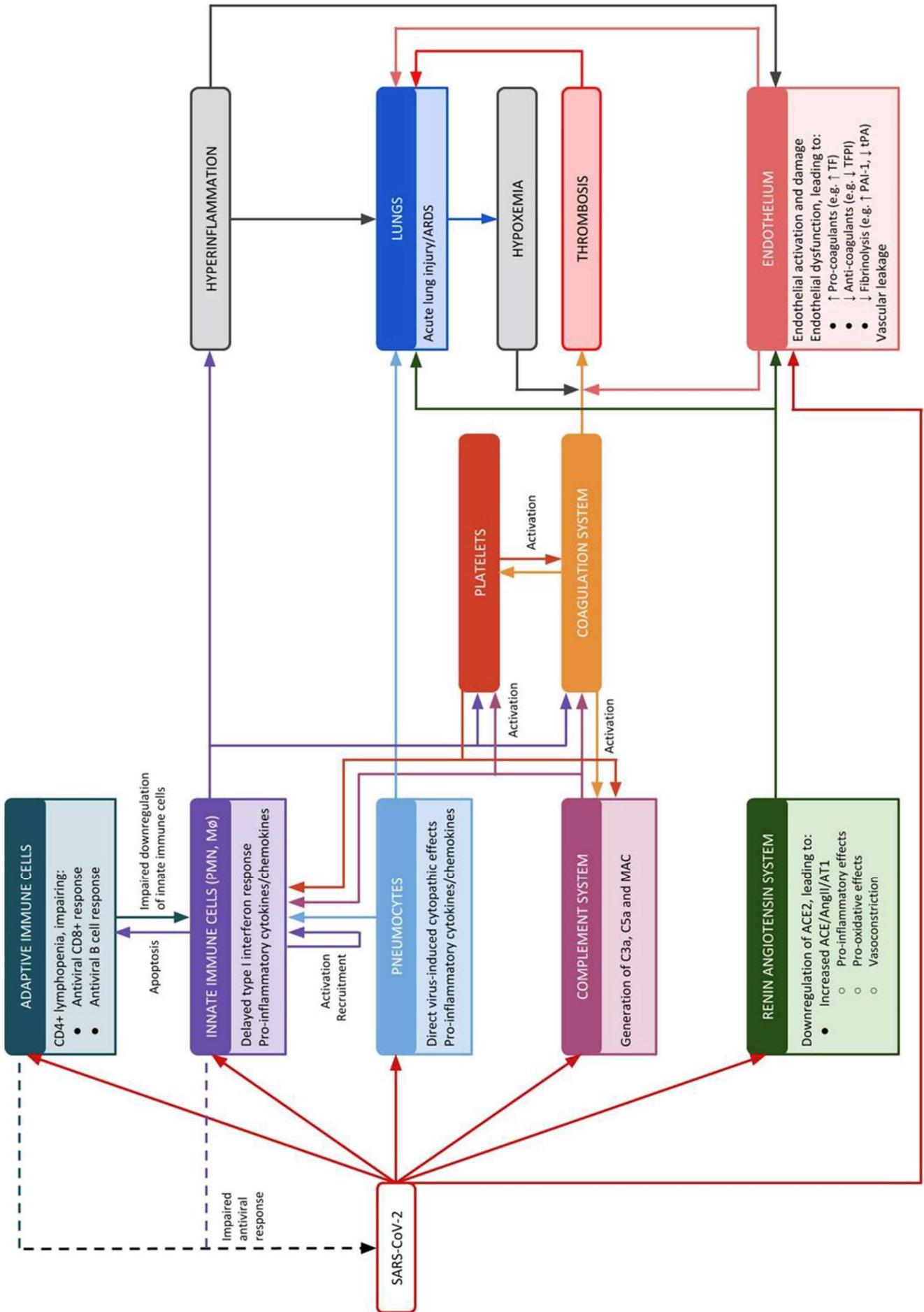
- la maggior parte dei pazienti ha mostrato trombosi macro e microvascolare
- L'esame grossolano dei polmoni ha mostrato trombi piccoli e compatti nel parenchima periferico
- La caratteristica patologica di COVID-19 è la presenza di trombi piastrinici diffusi nei piccoli vasi e megacariociti intravascolari in tutti gli organi principali, inclusi cuore, polmoni, reni, fegato e grasso mesenterico
- I risultati microscopici hanno dimostrato lesioni capillari pauci-inflammatorie, congestione capillare con deposizione di fibrina luminale e angiogenesi
- Sebbene la coagulazione intravascolare disseminata (CID) sia stata raramente segnalata in pazienti gravemente malati con COVID-19, ci sono diverse caratteristiche che distinguono la CAC dalla DIC: il principale risultato clinico nella CAC è la trombosi, mentre nella CID acuta scompensata, il sanguinamento è la caratteristica predominante.
- Tromboembolia venosa (embolia polmonare [PE] e/o trombosi venosa profonda [TVP]): l'incidenza composita di eventi trombotici è stata del 31%. Gli eventi tromboembolici venosi erano i più comuni (27%) e la maggioranza erano PE.
- Tromboembolia arteriosa: il tasso di incidenza cumulativo di ictus ischemico acuto è risultato tra il 2 e il 3,7% nei pazienti in terapia intensiva e circa il 2% nei pazienti non in terapia intensiva

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7195008/> <sup>224</sup>

Il modello fisiopatologico di immunotrombosi nel COVID-19. SARS-CoV-2 è associato a una risposta antivirale dell'ospite compromessa, che porta a una rapida replicazione virale e un successivo stato iperinflammatorio. L'iperinflammatione e la disregolazione indotta dal virus del sistema renina-angiotensina aldosterone (RAAS) induce un danno polmonare acuto, che porta all'ipossiemia. Insieme, iperinflammatione, RAAS e ipossiemia inducono disfunzione endoteliale e uno stato ipercoagulabile che porta a un'immunotrombosi diffusa che propaga ulteriormente il danno d'organo. ACE = enzima di conversione dell'angiotensina, ACE2 = enzima di conversione dell'angiotensina 2, AngII = angiotensina II, ARDS = sindrome da distress respiratorio acuto, AT1 = recettore dell'angiotensina II tipo 1, MAC = complesso di attacco di membrana, M $\phi$  = monociti / macrofagi, PAI-1 = plasminogeno attivatore inibitore-1, PMN = neutrofili polimorfonucleati, SARS-CoV-2 = sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2, TF = fattore tissutale, TFPI = inibitore della via del fattore tissutale, tPA = attivatore del plasminogeno tissutale.

<sup>223</sup> <https://link.springer.com/article/10.1007/s40256-020-00431-z> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7225095/>

<sup>224</sup> Henry BM, Vikse J, Benoit S, Favaloro EJ, Lippi G. Hyperinflammation and derangement of renin-angiotensin-aldosterone system in COVID-19: A novel hypothesis for clinically suspected hypercoagulopathy and microvascular immunothrombosis. Clin Chim Acta. 2020;507:167-173. doi:10.1016/j.cca.2020.04.027 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7195008/>

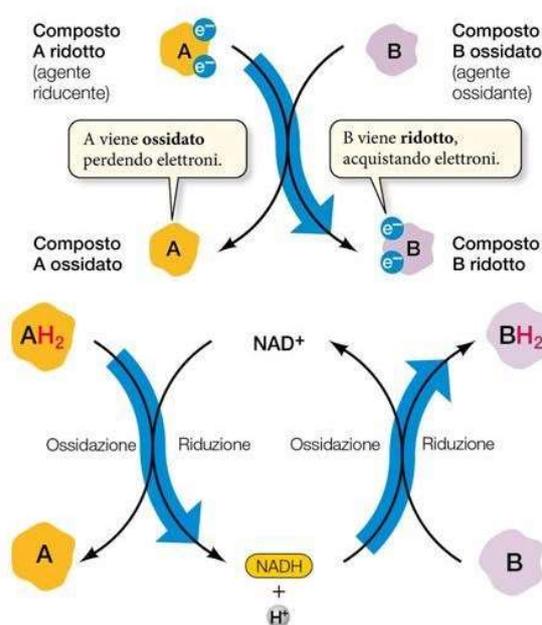


## MECCANISMI REDOX NELLA RISPOSTA IMMUNITARIA

I fattori che contribuiscono alla risposta infiammatoria e immunitaria comprendono il rapporto ossido nitrico/specie reattive dell'ossigeno (NO/ROS), l'attivazione dei macrofagi M1 e i danni ai globuli rossi (RBC). Un bilancio equilibrato NO/ROS è cruciale per la normale funzione vascolare.<sup>225</sup>

*Le specie reattive dell'ossigeno (ROS) sono piccole molecole di metaboliti dell'ossigeno che tendono a partecipare alle reazioni redox a causa della loro elevata reattività.*

*Le reazioni redox si dividono in due processi chimici: l'ossidazione e la riduzione. L'ossidazione è un processo chimico che porta all'acquisizione di ossigeno e la perdita di idrogeno o elettroni, mentre la riduzione è un processo chimico che porta alla perdita di ossigeno e l'acquisizione di idrogeno o elettroni.*



In conclusione le **reazioni redox** sono **reazioni accoppiate**

Nelle cellule le reazioni redox sono generalmente accompagnate da coenzimi che funzionano da trasportatori di elettroni e di atomi di idrogeno

Le specie legate all'ossigeno ad alta reattività chimica sono indicate come **specie reattive dell'ossigeno (ROS)**.

I ROS sono composti da radicali liberi e non radicali, sia inorganici che organici.

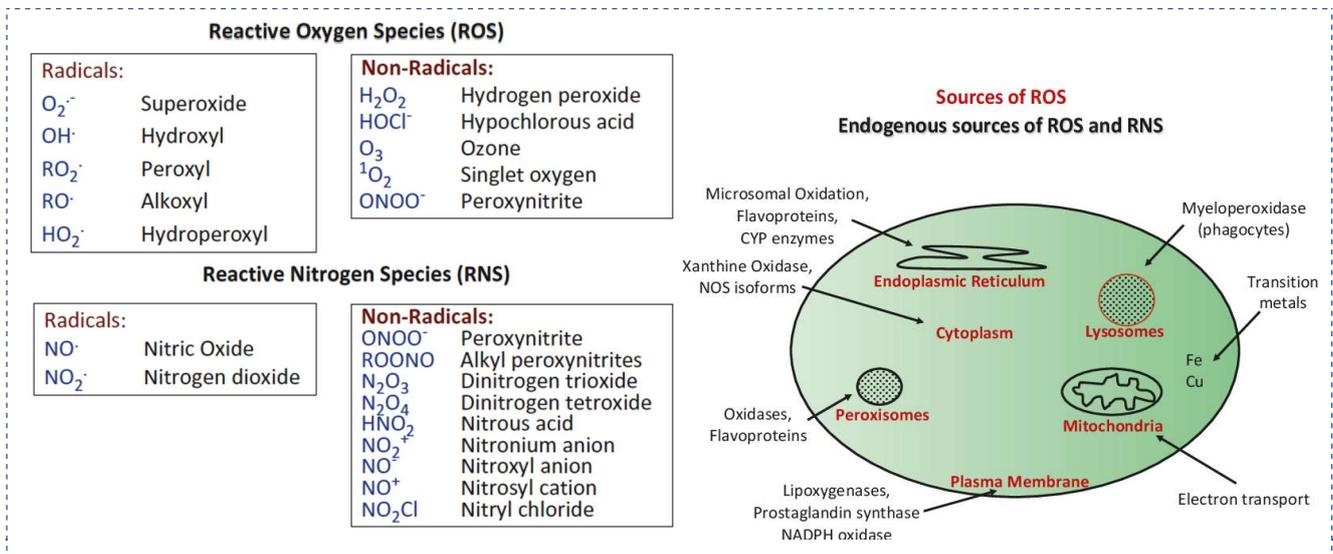
I radicali liberi sono gruppi di atomi che contengono un elettrone spaiato nel guscio più esterno degli elettroni in una configurazione estremamente instabile e reagiscono rapidamente con altre molecole o radicali per ottenere la configurazione stabile di quattro coppie di elettroni nel loro guscio più esterno (una coppia per l'idrogeno).

Le specie contenenti azoto sono spesso trattate separatamente come **specie reattive dell'azoto (RNS)**.<sup>226</sup>

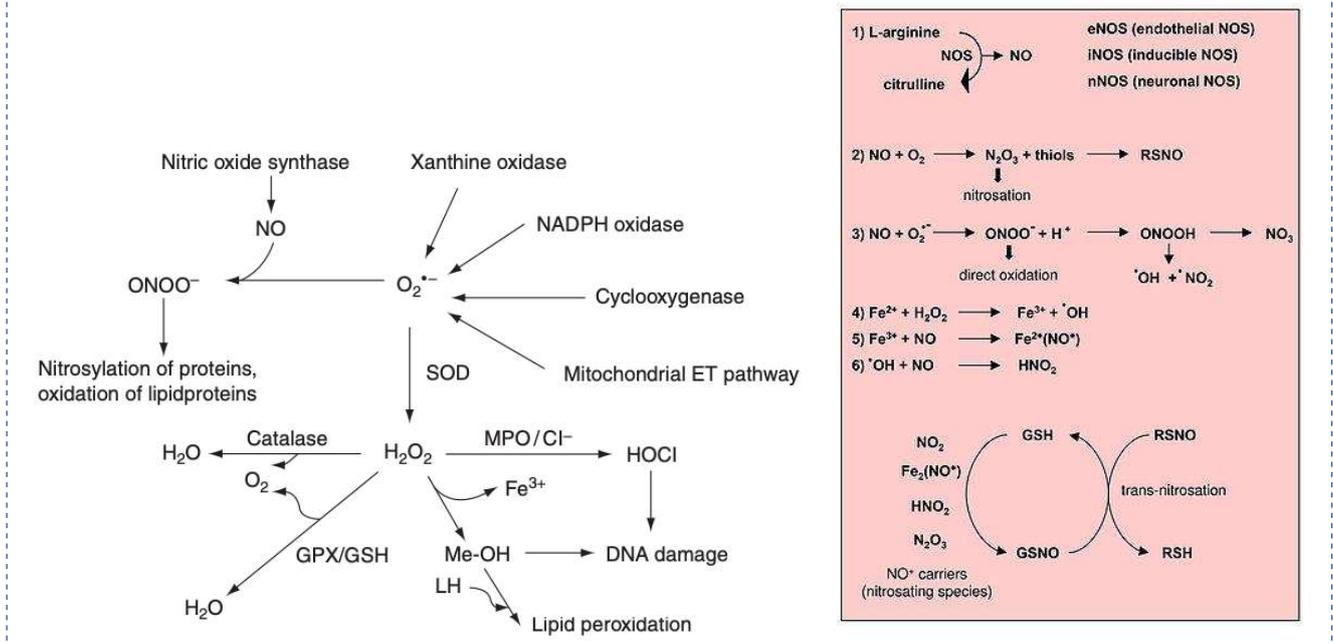
<sup>225</sup> Wang, G. sd. Encyclopedia of Cancer, (2016) 3930–3935. doi:10.1007/978-3-662-46875-3\_4966 [https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-662-46875-3\\_4966](https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-662-46875-3_4966)

<sup>226</sup> Dhawan V. (2014) Reactive Oxygen and Nitrogen Species: General Considerations. In: Ganguly N., Jindal S., Biswal S., Barnes P., Pawankar R. (eds) Studies on Respiratory Disorders. Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice. Humana Press, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0497-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0497-6_2) [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4939-0497-6\\_2](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4939-0497-6_2)

I ROS e gli RNS includono i radicali dell'ossigeno e i perossidi, come il superossido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e il perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ), NO e il biossido di azoto ( $NO_2^{\cdot}$ ) e altre specie, come il perossinitrito ( $ONOO^-$ ) e l'ipoclorito ( $ClO^-$ ).



<https://www.semanticscholar.org/paper/Chapter-2-Reactive-Oxygen-and-Nitrogen-Species-%3A-Dhawan/d46efbea58c7daa56a5aab948558606eb9345d2e>



[https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-662-46875-3\\_4966](https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-662-46875-3_4966)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2584013/227>

**Metabolismo delle specie reattive dell'ossigeno.** L' $O_2^{\cdot-}$  è considerata la specie reattiva "primaria" dell'ossigeno e principalmente generata dai mitocondri, dalla NADPH ossidasi, dalla cicloossigenasi e dalla xantina ossidasi. Da un lato, l' $O_2^{\cdot-}$  può reagire rapidamente con NO per formare  $ONOO^-$  altamente reattivi che possono modificare i bersagli proteici. D'altra parte,  $O_2^{\cdot-}$  viene trasmutata dalla SOD in  $H_2O_2$ , che ha tre destini principali: (i)  $H_2O_2$  viene eliminata in modo più efficiente dalla catalasi, così come dalla glutazione perossidasi (GPX), in  $H_2O$ ; (ii)  $H_2O_2$  viene scomposto da alcuni metalli di transizione in radicale idrossile reattivo ( $OH^{\cdot}$  reazione di Fenton), che svolge un ruolo importante nel danno al DNA o nella perossidazione lipidica; (iii)  $H_2O_2$  viene degradato dalla mieloperossidasi (MPO) in  $O_2$  e  $H_2O$ , generando HOCl in presenza di cloruro ( $Cl^-$ )

Vale la pena indicare che, nonostante siano state a lungo considerate specie tossiche, la maggior parte di queste molecole ha dimostrato di esercitare importanti funzioni di segnalazione.

<sup>227</sup> Novo E, Parola M.

Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis.

Fibrogenesis Tissue Repair. 2008;1(1):5. Published 2008 Oct 13. doi:10.1186/1755-1536-1-5

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2584013/>

Pertanto, il ruolo di molte di queste molecole nella salute e nella malattia è correlato alla loro velocità di produzione, alle concentrazioni allo stato stazionario e alla capacità dei sistemi antiossidanti cellulari di modulare la loro attività.

L'NO è un fattore rilassante di derivazione endoteliale che svolge ruoli chiave nella segnalazione vascolare, nella regolazione del flusso sanguigno e nella difesa dell'ospite.<sup>228</sup>

La generazione di livelli di NO sufficienti per regolare la resistenza dei vasi sanguigni e quindi il mantenimento di un flusso sanguigno adeguato è fondamentale per il corretto funzionamento del sistema vascolare.

I ROS, come il superossido, servono anche come difesa dell'ospite e sono indotti durante lo stress, come l'infezione virale<sup>229</sup>

Un eccesso di ROS, come nel caso del sovraccarico virale, attiva i macrofagi M1, recluta neutrofilo e aumenta la produzione di perossinitrito in combinazione con NO in una potente risposta al virus invasore, a cui segue un danno collaterale di disfunzione endoteliale, permeabilità vascolare e perossidazione della membrana lipidica.<sup>230</sup>

In generale, la produzione disregolata di ROS/RNS, come nel caso di NO, porta a stress ossidativo e conseguenze deleterie per i sistemi viventi.

Queste molecole hanno spesso importanti ruoli di segnalazione a basse concentrazioni e le differenze nella risposta all'NO a concentrazioni variabili hanno attirato una notevole attenzione da parte dei ricercatori.

È stato dimostrato che **bassi livelli (pM/nM) sono fisiologici** e correlati all'attivazione di bersagli attraverso legami primari ad alta affinità come la guanilil ciclastasi solubile (sGC) e la citocromo c ossidasi.

Un paradigma emergente propone che i **livelli intermedi (50-300 nM)** possano attivare una serie di risposte positive e negative, dalla guarigione delle ferite ai percorsi oncogenetici.

**Concentrazioni più elevate di NO (> 1 µM) possono portare non solo a stress ossidativo ma anche a stress nitrativo e nitrosativo** attraverso la generazione di specie perossinitriliche e nitrosanti e, in combinazione con l'ossigeno, possono innescare modifiche post-trasduzionali di proteine, lipidi e DNA.<sup>231</sup>

<sup>228</sup> Luiking YC, Engelen MP, Deutz NE.

Regulation of nitric oxide production in health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2010;13(1):97-104. doi:10.1097/MCO.0b013e328332f99d <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2953417/>

<sup>229</sup> Akaike T, Maeda H.

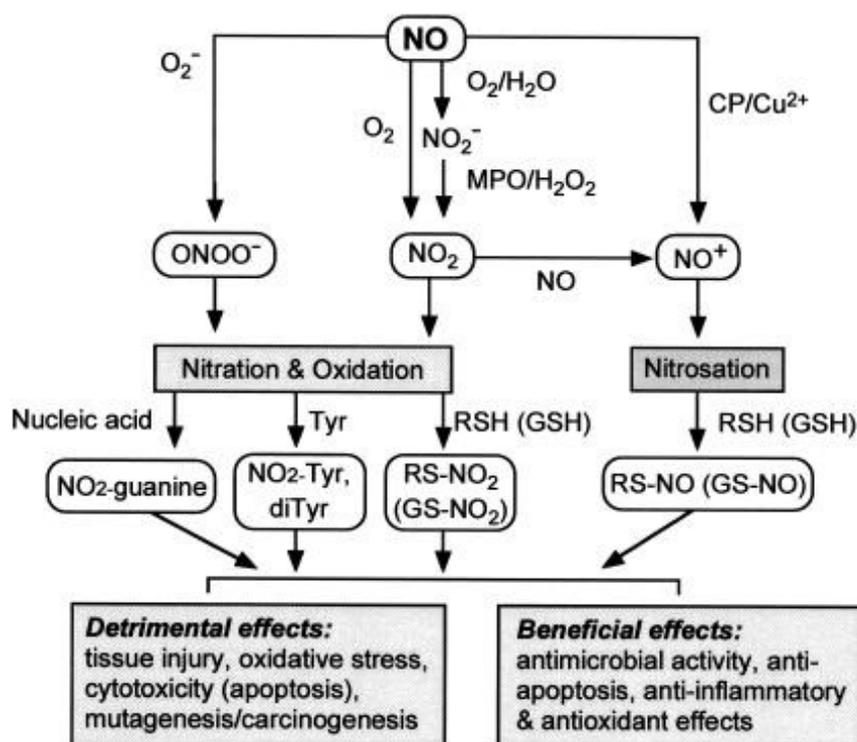
Nitric oxide and virus infection. *Immunology*. 2000;101(3):300-308. doi:10.1046/j.1365-2567.2000.00142.x <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2327086/>

<sup>230</sup> Tejero J, Shiva S, Gladwin MT.

Sources of Vascular Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species and Their Regulation. *Physiol Rev*. 2019;99(1):311-379. doi:10.1152/physrev.00036.2017 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6442925/>

<sup>231</sup> Thomas DD, Ridnour LA, Isenberg JS, et al.

The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling. *Free Radic Biol Med*. 2008;45(1):18-31. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.020 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2572721/>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2327086/>

**Meccanismi di formazione di vari intermedi azotati reattivi da NO e loro effetti biologici.** Gli effetti opposti dell'NO (sia tossico che protettivo) sembrano essere prodotti dalle interazioni dell'NO con l'ossigeno molecolare ( $O_2$ ), l'ossigeno attivo e i radicali dell'ossigeno come  $O_2^-$  e  $H_2O_2$ , sostanze contenenti sulfidrilici e metalli pesanti (in particolare ferro e rame). La ceruloplasmina (CP) e lo ione rame catalizzano la formazione di nitrosoli (RS-NO) in presenza di composti contenenti sulfidrilici (RSH) e  $O_2$ . MPO, mieloperossidasi da neutrofili; Tyr, L-tirosina; diTyr, ditirosina; GSH, glutazione ridotto; GS-NO, S-nitrosoglutazione; RS-NO<sub>2</sub>, nitrosoli; GS-NO<sub>2</sub>, S-nitrosoglutazione.

La produzione di livelli adeguati di NO nell'endotelio vascolare è fondamentale per la regolazione del flusso sanguigno e la vasodilatazione, come sarà discusso in seguito.

In questo contesto, è diventato sempre più evidente che i livelli di ossigeno possono influire sulle proprietà di ossidazione/riduzione di diverse proteine e regolare i livelli di NO.

Ad esempio, le sintasi dell'ossido nitrico (NOS) producono NO utilizzando L-arginina e ossigeno molecolare ( $O_2$ ) come substrati. Pertanto, **in condizioni ipossiche o anossiche, la generazione di NO tramite NOS è compromessa.**

Tuttavia, **un certo numero di proteine coinvolte nei processi ossidativi a livelli basali di ossigeno possono diventare di fatto ridotti quando l'ossigeno si esaurisce.**

Il ruolo biologico di questa transizione è particolarmente importante nel caso di proteine contenenti eme e molibdopterina come l'emoglobina (Hb), la mioglobina (Mb) e la xantina ossidasi (XO).

Recentemente Lippi e Mattiuzzi hanno riportato prove che **il SARS-CoV-2 distrugge l'emoglobina nei globuli rossi**<sup>232</sup>, scatenando uno stress ossidativo significativo.

<sup>232</sup> Lippi G, Mattiuzzi C.

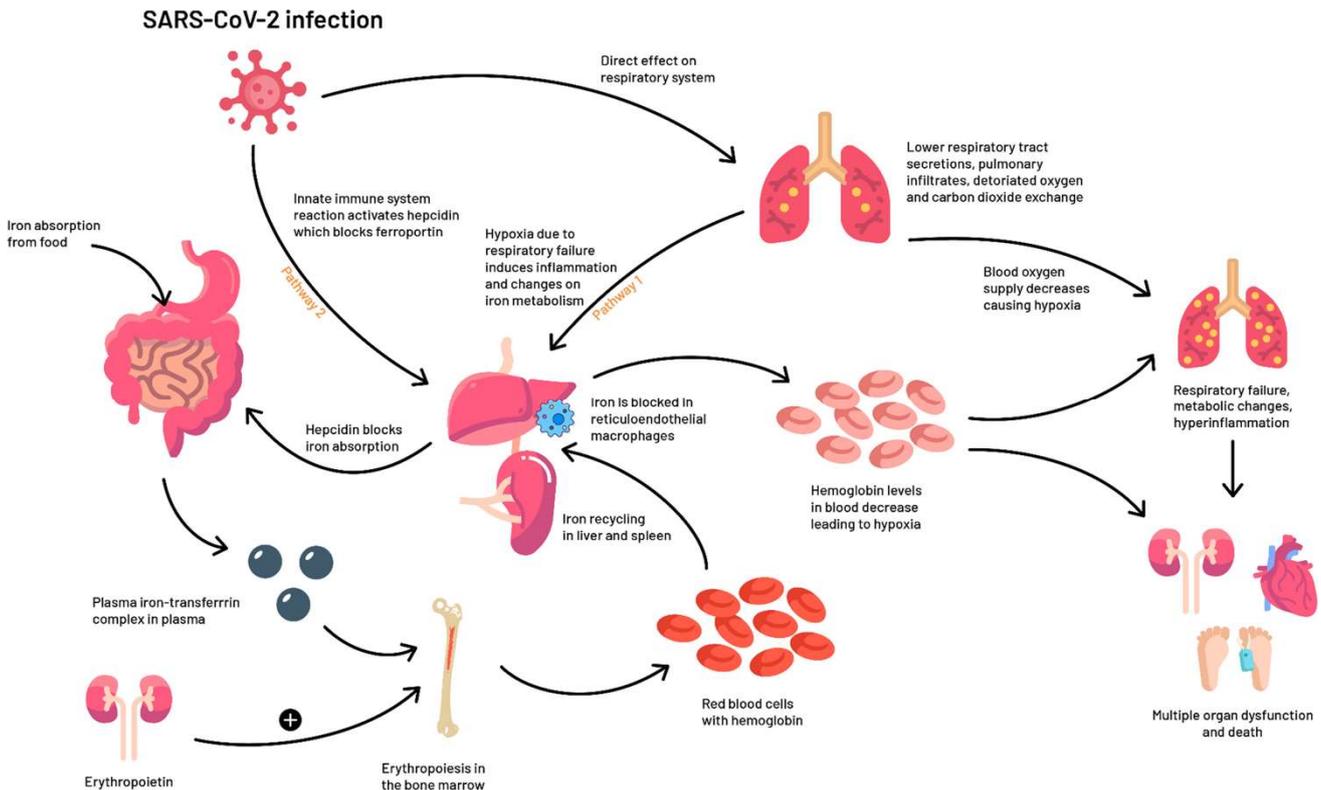
Hemoglobin value may be decreased in patients with severe coronavirus disease 2019. Hematol Transfus Cell Ther. 2020;42(2):116-117. doi:10.1016/j.htct.2020.03.001 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7128154/>

Cavezzi A, Troiani E, Corrao S.

COVID-19: hemoglobin, iron, and hypoxia beyond inflammation. A narrative review. Clin Pract. 2020;10(2):1271. Published 2020 May 28. doi:10.4081/cp.2020.1271 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7267810/>

Henry BM, Vikse J, Benoit S, Favaloro EJ, Lippi G.

Hyperinflammation and derangement of renin-angiotensin-aldosterone system in COVID-19: A novel hypothesis for clinically suspected hypercoagulopathy and microvascular immunothrombosis.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7438401/>

**Il ruolo potenziale della dinamica dei globuli rossi e dell'omeostasi del ferro nella presentazione clinica del COVID-19.** La figura mostra due potenziali percorsi attraverso i quali il metabolismo del ferro può essere coinvolto nella fisiopatologia di COVID-19. **Percorso 1:** il virus provoca ipossia tramite effetti deleteri diretti sul sistema respiratorio, alterando la risposta infiammatoria che porta all'anemia. **Percorso 2:** il sistema immunitario innato può mirare a diminuire la biodisponibilità del ferro per prevenire una carica virale in espansione nella fase acuta dell'infezione. Ciò porta all'attivazione dell'epcidina, al sequestro del ferro all'interno delle cellule, all'aumento dei livelli di ferritina e alla diminuzione dell'emoglobina, che culmina nell'ipossia

La successiva emolisi può provocare **anemia**<sup>233</sup>, ma soprattutto può esacerbare il processo infiammatorio. L'emoglobina libera elimina i modulatori della coagulazione, come l'NO endoteliale, mentre il rilascio di eme proinfiammatorio e ferro può attivare le piastrine.<sup>234</sup>

Come già visto, l'attivazione piastrinica indotta dall'infiammazione può portare ad un aumento della coagulazione, un'importante conseguenza della complicazione da COVID-19.<sup>235</sup>

Clin Chim Acta. 2020;507:167-173. doi:10.1016/j.cca.2020.04.027  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7195008/>

<sup>233</sup> Hariyanto TI, Kurniawan A.  
 Anemia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection  
 [published online ahead of print, 2020 Aug 28]. Transfus Apher Sci. 2020;102926. doi:10.1016/j.transci.2020.102926  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7452827/>

Taneri PE, Gómez-Ochoa SA, Llanaj E, et al.  
 Anemia and iron metabolism in COVID-19: a systematic review and meta-analysis.  
 Eur J Epidemiol. 2020;35(8):763-773. doi:10.1007/s10654-020-00678-5  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7438401/>

<sup>234</sup> Zhang R, Hess DT, Qian Z, et al.  
 Hemoglobin  $\beta$ Cys93 is essential for cardiovascular function and integrated response to hypoxia  
 [published correction appears in Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 May 26;112(21):E2846]. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015;112(20):6425-6430.  
 doi:10.1073/pnas.1502285112  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4443356/>

Cabrales P.  
 Examining and mitigating acellular hemoglobin vasoactivity.  
 Antioxid Redox Signal. 2013;18(17):2329-2341. doi:10.1089/ars.2012.4922  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3638537/>

<sup>235</sup> Tang N, Li D, Wang X, Sun Z.

L'ipercoagulabilità e il rallentamento del flusso sanguigno provocano **ipossia sistemica** in organi sensibili all'ossigeno come i reni.<sup>236</sup>

I macrofagi M1 producono una grande quantità di specie molecolari altamente reattive di azoto e ossigeno e citochine proinfiammatorie, come interleuchina (IL) -2, IL-6, IL-8, interferone (IFN) - $\alpha/\beta$  e fattore di necrosi tumorale TNF $\alpha$ , che neutralizzano il SARS-Cov-2 ma aggravano anche il danno vascolare.<sup>237</sup>

La ripolarizzazione della popolazione M1 a M2, promossa dall'NO, interrompe l'insulto proinfiammatorio ai tessuti e avvia i processi di riparazione e l'eliminazione dei detriti, mentre la risposta incontrollata dei macrofagi M1 crea una cascata infiammatoria e una tempesta di citochine che provoca un accumulo di detriti cellulari ed edema a causa della vascolarizzazione più permeabile che si manifesta nei polmoni come ARDS.<sup>239</sup>

Ulteriori processi che facilitano la progressione verso una cascata infiammatoria includono il **sistema renina angiotensina (RAS)** e la **riossigenazione/riperfusione**.

## IL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA (RAS)

Le osservazioni secondo cui il SARS-CoV-2 utilizza ACE2 come dominio di legame del recettore per la sua proteina spike (S), con un'affinità superiore rispetto a quella misurata con il SARS-CoV-1, hanno portato a indagare il ruolo del RAS nella fisiopatologia del nuovo virus<sup>238</sup>.

I geni per l'ingresso virale e per l'espressione dell'ACE2 sono altamente arricchiti nell'epitelio nasale, e ciò implica un ruolo significativo dell'ACE2 nell'infettività e nel decorso dell'infezione<sup>239</sup>.

Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost.* 2020;18(4):844-847. doi:10.1111/jth.14768  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7166509/>

<sup>236</sup> Del Vecchio L, Locatelli F. Hypoxia response and acute lung and kidney injury: possible implications for therapy of COVID-19. *Clin Kidney J.* 2020;13(4):494-499. Published 2020 Sep 2. doi:10.1093/ckj/sfaa149  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7467604/>

<sup>237</sup> Adusumilli NC, Zhang D, Friedman JM, Friedman AJ. Harnessing nitric oxide for preventing, limiting and treating the severe pulmonary consequences of COVID-19 [published online ahead of print, 2020 Jul 15]. *Nitric Oxide.* 2020;103:4-8. doi:10.1016/j.niox.2020.07.003  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7362842/>

Cheung CY, Poon LL, Ng IH, et al. Cytokine responses in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected macrophages in vitro: possible relevance to pathogenesis. *J Virol.* 2005;79(12):7819-7826. doi:10.1128/JVI.79.12.7819-7826.2005  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1143636/>

<sup>238</sup> Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020;395(10224):565-574. doi:10.1016/S0140-6736(20)30251-8  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7159086/>

Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol.* 2020;92(4):418-423. doi:10.1002/jmv.25681  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7167049/>

Gurwitz D. Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics. *Drug Dev Res.* 2020;81(5):537-540. doi:10.1002/ddr.21656  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7228359/>

<sup>239</sup> W. Sungnak, N. Huang, C. Bécavin, M. Berg, H.C.A. Network SARS-CoV-2 Entry Genes Are Most Highly Expressed in Nasal Goblet and Ciliated Cells within Human Airways

La via del segnale del RAS è costituita da una cascata di proteasi che producono alcune molecole bioattive. L'angiotensinogeno viene rilasciato principalmente dal fegato e quindi scisso dalla renina, che viene secreta dalle cellule iuxtaglomerulari nel rene, generando così il decapeptide angiotensina I (Ang I).

L'Ang I viene convertita in angiotensina II (Ang II) dagli enzimi di conversione dell'angiotensina (ACE), espressi dalle cellule endoteliali di diversi organi, come polmone, cuore, rene e cervello. L'Ang II è la molecola più rilevante del percorso RAS e svolge la sua funzione attivando i seguenti recettori accoppiati alle proteine G: il recettore dell'angiotensina II tipo 1 (AT1R) e il recettore dell'angiotensina II tipo 2 (AT2R).

Gli effetti esercitati da questi due recettori di membrana sono opposti, in particolare, l'AT1R induce effetti dannosi, come infiammazione, fibrosi e alterato equilibrio redox oltre ad avere proprietà vasocostrittive, mentre l'AT2R è coinvolto in azioni protettive e rigeneranti (antinfiammatorie, anti-fibrotico, neurodegenerativo, metabolico) e nel rilascio di molecole vasodilatatrici.

Pertanto, il punto di equilibrio del RAS è rappresentato dall'Ang II, che può essere convertita anche nell'eptapeptide Ang- (1-7) grazie all'azione dell'enzima 2 di conversione dell'angiotensina (ACE2).

L'Ang- (1-7) può essere generato anche dalla scissione dell'Ang I da parte delle endopeptidasi, e si lega ai recettori MAS\* per contrastare la maggior parte delle azioni deleterie dell'asse ACE/Ang II/AT1, specialmente in condizioni patologiche.

A causa degli effetti regolatori di ACE e ACE2 sui livelli di Ang II, queste peptidasi sono i principali attori nella regolazione della pressione sanguigna nel sistema cardiovascolare.<sup>240</sup>

*L'attivazione anormale del recettore dell'angiotensina di tipo 1 (AT1) è associata a malattie cardiovascolari, infiammazione e aterosclerosi, disfunzione endoteliale, stress ossidativo, resistenza all'insulina, cancro e ipertensione maligna.*

*E' noto che i polimorfismi genetici di questo recettore sono associati all'ipertensione e all'infarto del miocardio. I bloccanti del recettore AT1 (ARB) sono antagonisti selettivi usati per trattare l'ipertensione e disturbi cardiovascolari.*

*Il recettore dell'angiotensina di tipo 2 (AT2) ha un'omologia del 34% con AT1R ma bassa espressione negli adulti.*

*Le concentrazioni diminuiscono subito dopo la nascita e si trova a basse concentrazioni nel sistema cardiovascolare adulto, nelle ghiandole surrenali, nei reni, nel cervello, nel miometrio uterino e nella pelle.*

*La sovraregolazione può verificarsi in condizioni fisiologiche stressanti come lesioni vascolari, infarto miocardico e insufficienza cardiaca. Studi su topi knockout hanno dimostrato lo sviluppo di ipertensione. La mutazione del recettore è anche associata a ritardo mentale e svolge un ruolo nelle funzioni antidiuretiche e antinatriuretiche.*

*Poiché si trova anche nel tessuto cerebrale, è stato studiato come possibile bersaglio terapeutico per il dolore neuropatico. Tuttavia, il trattamento ha avuto una scarsa efficacia e molti effetti collaterali.<sup>241</sup>*

arXiv preprint arXiv:2003.06122 (2020)  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7280877/>

<sup>240</sup> D'Ardes D, Boccatonda A, Rossi I, et al.  
 COVID-19 and RAS: Unravelling an Unclear Relationship.  
 Int J Mol Sci. 2020;21(8):3003. Published 2020 Apr 24. doi:10.3390/ijms21083003  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7215550/>

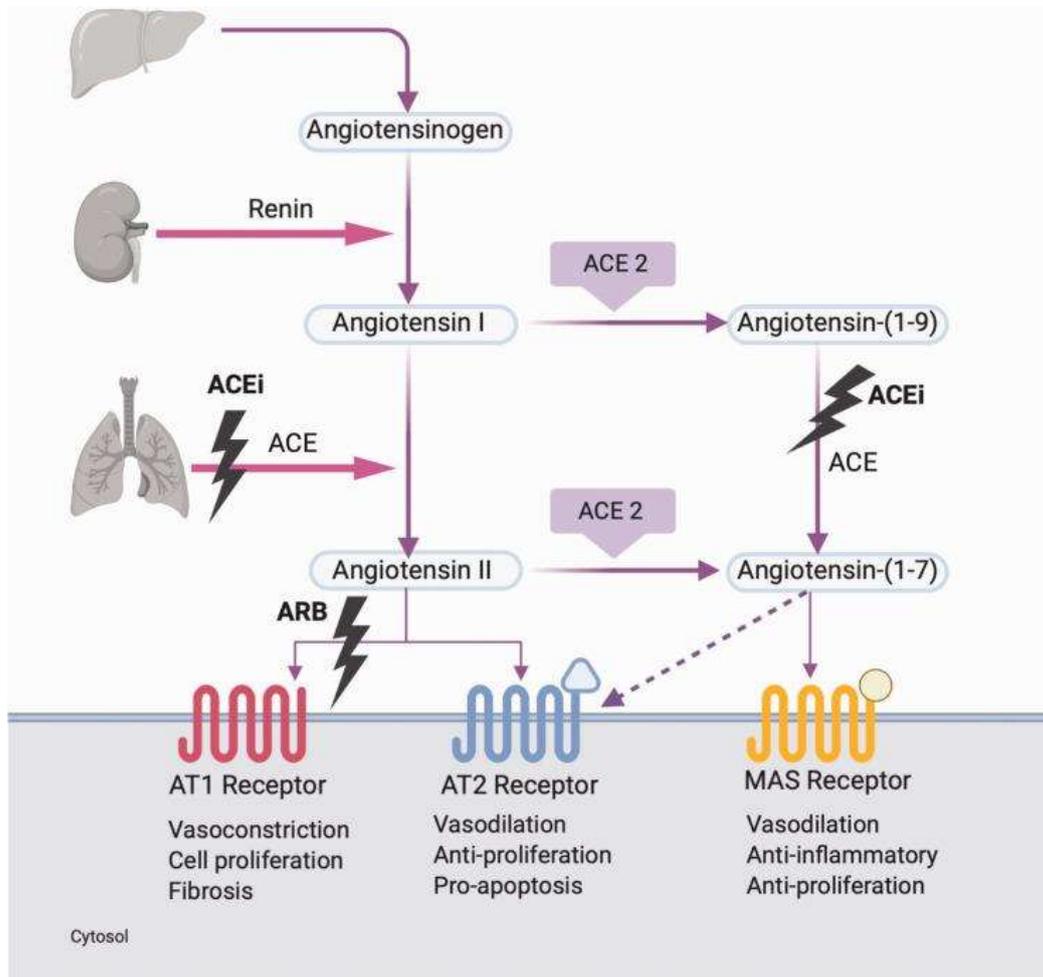
Bourgonje AR, Abdulle AE, Timens W, et al.  
 Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19)  
 [published online ahead of print, 2020 May 17]. J Pathol. 2020;10.1002/path.5471. doi:10.1002/path.5471  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7276767/>

<sup>241</sup> Zemlin AE, Wiese OJ.  
 Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and the renin-angiotensin system: A closer look at angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)

\* Il **MAS** (*G-coupled protein receptor of angiotensin-(1-7)*) è il recettore dell'angiotensina (1-7) prodotto da ACE2. L'attivazione del MAS porta alla sintesi dell'acido arachidonico e all'attivazione dell'ossido nitrico (NO) sintasi.

Un'alta espressione di MAS si trova nel cervello, dove è importante per la regolazione cardiovascolare. È stato anche scoperto che svolge un ruolo importante nella funzione testicolare in cui l'immunolocalizzazione dell'angiotensina (1-7) e dei recettori MAS mostrava una ridotta spermatogenesi nell'infertilità maschile.

I Topi knockout presentano una frequenza cardiaca alterata e la diminuzione della pressione sanguigna probabilmente a causa di uno squilibrio di NO e la formazione di specie reattive dell'ossigeno. Il ruolo protettivo del MAS-angiotensina (1-7) è studiato come un possibile bersaglio farmacologico.<sup>242</sup>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7267743/>

**Percorso RAS che mostra vari recettori e i loro effetti.** Sono anche mostrati i meccanismi di azione per ACE inibitori e ARB

RAS: Renin Angiotensin System; ACEi: inibitore dell'enzima di conversione dell'angiotensina; ARB: antagonista del recettore dell'angiotensina; AT1: angiotensina 1; AT2: angiotensina 2.

[published online ahead of print, 2020 Jun 2]. Ann Clin Biochem. 2020;4563220928361. doi:10.1177/0004563220928361  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7267743/>

<sup>242</sup> Bader M, Alenina N, Young D, Santos RAS, Touyz RM. The Meaning of Mas. Hypertension. 2018;72(5):1072-1075. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.10918  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6217935/>

Simões e Silva AC, Silveira KD, Ferreira AJ, Teixeira MM. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. Br J Pharmacol. 2013;169(3):477-492. doi:10.1111/bph.12159  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3682698/>

Nei polmoni l'attività del RAS, l'ACE e l'Ang II sono intrinsecamente elevati, ma anche l'attività dell'ACE2 è molto elevata, e ciò per regolare l'equilibrio AngII/Ang-(1-7), in quanto alti livelli di Ang II nel polmone possono portare ad aumenti della permeabilità vascolare e ad edema polmonare.

Nei modelli murini di ARDS, topi knockout per ACE2 hanno sviluppato sintomi più gravi, mentre la sovraespressione di ACE2 ha avuto alcuni effetti protettivi.<sup>243</sup>

I dati finora noti da considerare circa l'interazione tra il RAS e l'infezione da SARS-CoV-2 sono che:

- l'ACE2 funge da mediatore dell'ingresso delle particelle virali all'interno delle cellule
- la sottoregolazione dell'ACE2, osservata in generale in modelli animali di ARDS ed indotta anche dall'infezione da SARS-CoV-2, porta all'inattivazione dell'asse ACE2/Ang(1-7)/Mas e potrebbe favorire la suscettibilità di cuore, polmoni e reni al danno tissutale in corso di COVID-19.<sup>244</sup>
- Il RAS può essere attivato dall'infiammazione cronica da ipertensione, diabete, obesità e cancro.

Pertanto, è stato ipotizzato un **modello a due eventi (double-hits) per la progressione del COVID-19 in relazione al RAS.**

In breve, il primo evento ha origine da un'**infiammazione cronica che attiva l'asse ACE/Ang II/AT1R**, e il secondo ha origine dall'**infezione da SARS-Cov-2 che disattiva l'asse ACE2/Ang(1-7)/Mas.**

I due eventi possono essere la ragione principale dell'aumento della mortalità nei pazienti con COVID-19 che hanno comorbidità e possono servire come bersaglio terapeutico per il trattamento COVID-19.<sup>245</sup>

<sup>243</sup> Yuntao Wu.

Compensation of ACE2 Function for Possible Clinical Management of 2019-nCoV-Induced Acute Lung Injury [J].VIROLOGICA SINICA, 2020, 35(3) : 256-258. <http://dx.doi.org/10.1007/s12250-020-00205-6>  
<https://www.virosin.org/article/doi/10.1007/s12250-020-00205-6>

<sup>244</sup> Lanza K, Perez LG, Costa LB, et al.

Covid-19: the renin-angiotensin system imbalance hypothesis. Clin Sci (Lond). 2020;134(11):1259-1264. doi:10.1042/CS20200492  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7276636/>

Ni W, Yang X, Yang D, et al.

Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. Crit Care. 2020;24(1):422. Published 2020 Jul 13. doi:10.1186/s13054-020-03120-0  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7356137/>

Yan T, Xiao R, Lin G.

Angiotensin-converting enzyme 2 in severe acute respiratory syndrome coronavirus and SARS-CoV-2: A double-edged sword? FASEB J. 2020;34(5):6017-6026. doi:10.1096/fj.202000782  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7264803/>

Li Y, Zhou W, Yang L, You R.

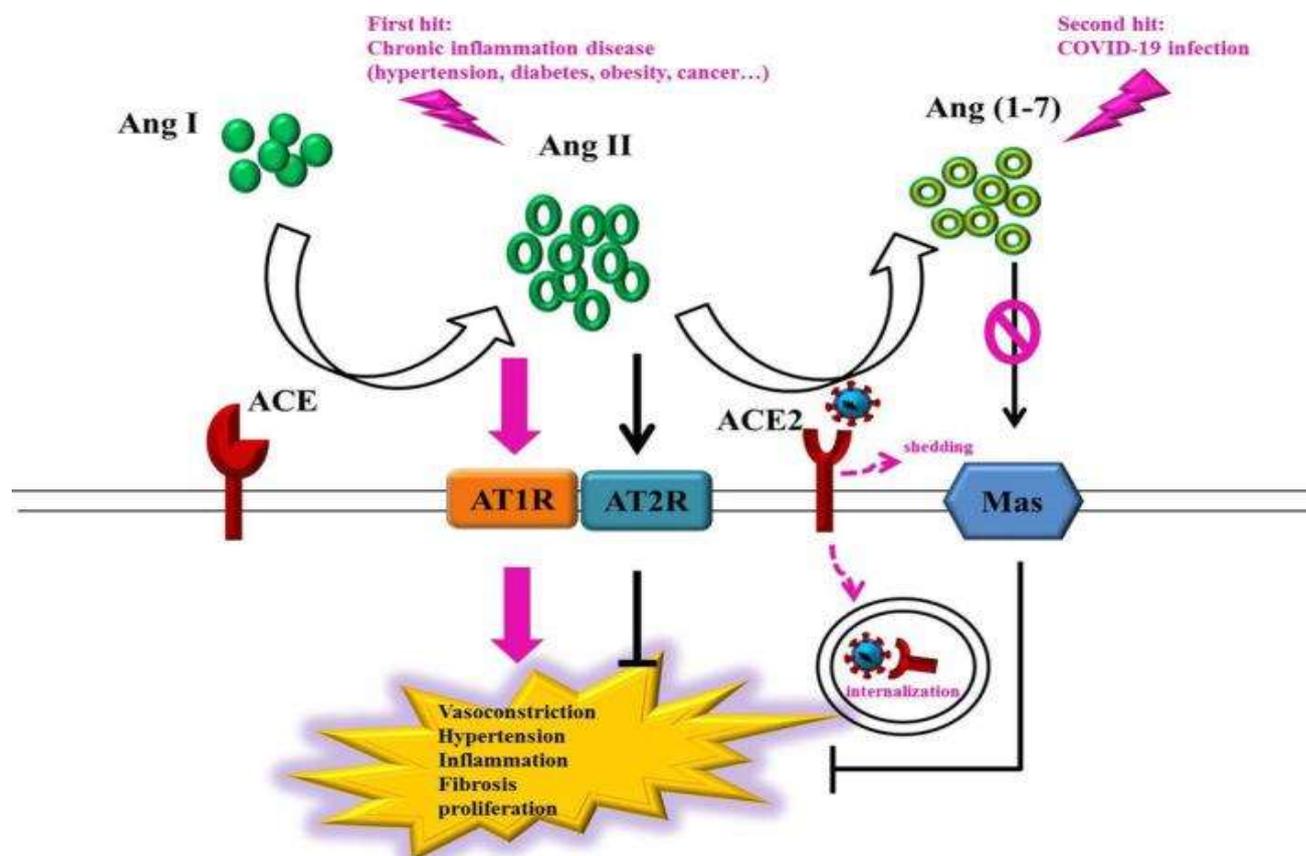
Physiological and pathological regulation of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor. Pharmacol Res. 2020;157:104833. doi:10.1016/j.phrs.2020.104833  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194807/>

<sup>245</sup> Tseng YH, Yang RC, Lu TS.

Two hits to the renin-angiotensin system may play a key role in severe COVID-19. Kaohsiung J Med Sci. 2020;36(6):389-392. doi:10.1002/kjm2.12237  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7300771/>

Behl T, Kaur I, Bungau S, et al.

The dual impact of ACE2 in COVID-19 and ironical actions in geriatrics and pediatrics with possible therapeutic solutions [published online ahead of print, 2020 Jul 10]. Life Sci. 2020;257:118075. doi:10.1016/j.lfs.2020.118075  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7347488/>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7300771/>

**Due eventi (hits) associati al RAS da infiammazione cronica e infezione da COVID-19.** L'asse ACE/AngII/AT1R del RAS viene attivato dall'infiammazione cronica, tra cui ipertensione, diabete, obesità e cancro. SARS-CoV-2 induce l'internalizzazione e l'eliminazione di ACE2, che portano all'inattivazione dell'asse ACE2/Ang(1-7)/Mas. Pertanto, i due hits al RAS possono essere la ragione principale per cui il tasso di mortalità è alto tra i pazienti con COVID-19 che hanno comorbidità. In breve, il primo stadio ha origine da un'infiammazione cronica che attiva l'asse ACE/AngII/AT1R, e il secondo ha origine dall'infezione COVID-19 che disattiva l'asse ACE2/Ang(1-7)/Mas

Sulla base delle osservazioni finora riportate sono state avanzate due ipotesi antitetiche sul possibile ruolo dei farmaci che interferiscono con il RAS (ACE-I e ARB) e l'infezione da COVID-19.

*Da una parte si ipotizza che questi farmaci, inducendo una sovra-espressione di ACE2, recettore del virus, possano potenziare il danno tissutale da SARS-CoV-2.*

*L'altra ipotesi è che la sovra-espressione di ACE2, indotta da questi farmaci, possa avere effetti favorevoli aumentando la produzione di Angiotensina 1-7, mediatore antinfiammatorio, e riducendo i livelli locali di angiotensina II, che ha effetti pro-infiammatori.*

In considerazione delle complesse interazioni tra SARS-CoV-2 e RAS evidenziate dagli studi sperimentali finora disponibili, solo evidenze scientifiche ottenute con dati clinici ed epidemiologici potranno fare chiarezza in questo ambito ed eventualmente guidare specifiche strategie terapeutiche.<sup>246</sup>

<sup>246</sup> Il punto su Sistema Renina-Angiotensina Aldosterone e malattia da COVID-19

Stefania Angela Di Fusco e Marco Flori

[http://www.anmco.it/uploads/u\\_cms/media/2020/4/57c27440f2043a955d0831a29ffc30a1.pdf](http://www.anmco.it/uploads/u_cms/media/2020/4/57c27440f2043a955d0831a29ffc30a1.pdf)

Offringa A, Montijn R, Singh S, Paul M, Pinto YM, Pinto-Sietsma SJ.

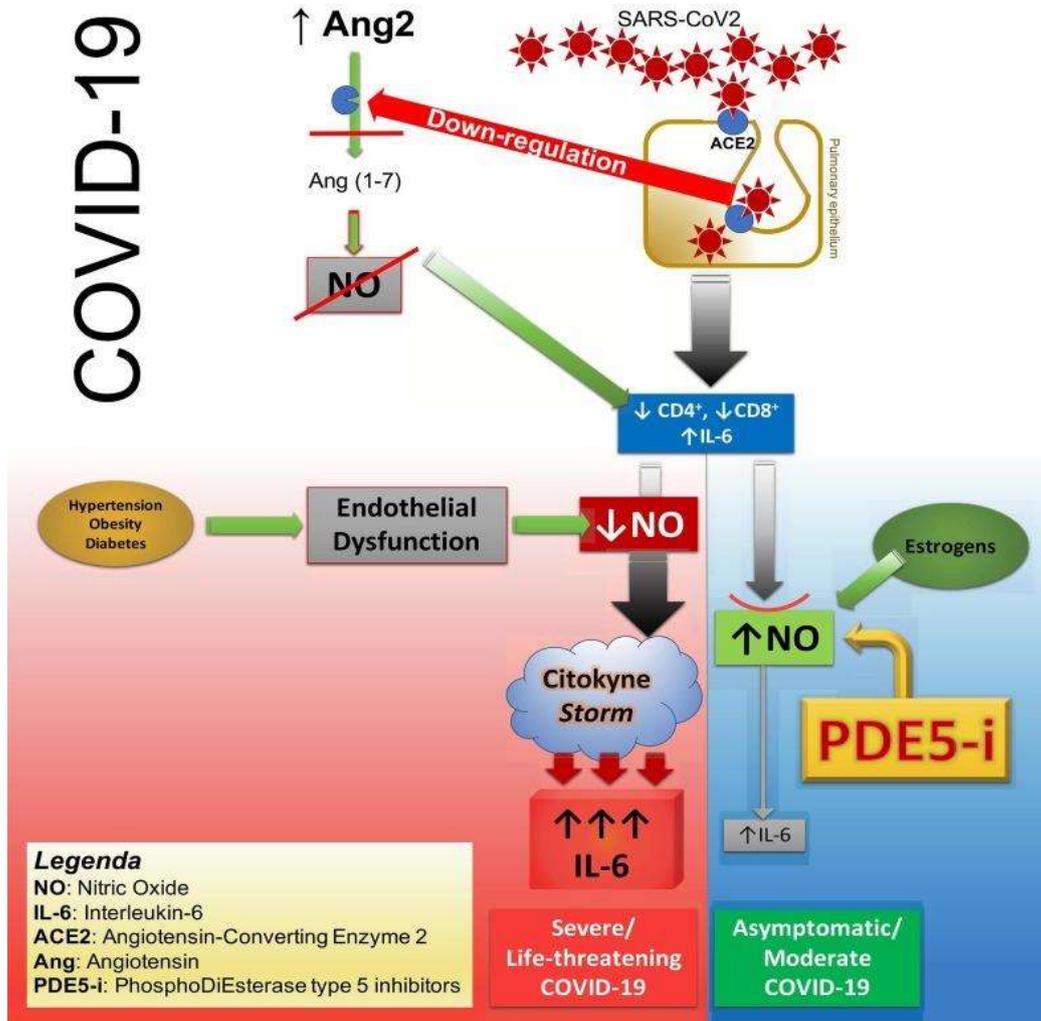
The mechanistic overview of SARS-CoV-2 using angiotensin-converting enzyme 2 to enter the cell for replication: possible treatment options related to the renin-angiotensin system

[published online ahead of print, 2020 May 28]. Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020;pvaa053. doi:10.1093/ehjcvp/pvaa053

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7314063/>

Riguardo al ruolo sulla produzione di NO, ACE2 inattiva ATII e genera angiotensina 1-7, la quale promuove la produzione endoteliale di NO, entrambi potenti vasodilatatori e inibitori dell'ACE. Al contrario, L'ACE inibisce la produzione di NO, promuovendo i ROS e l'infiammazione.

Il legame della proteina spike di SARS-CoV-2 con l'ACE2 probabilmente la sottoregola e contribuisce agli effetti a valle non controllati dell'ACE, tra cui un aumento della permeabilità vascolare e una riduzione dei mediatori antinfiammatori come NO. <sup>247</sup>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7373683/>

<sup>247</sup> Smyth LJ, Cañadas-Garre M, Cappa RC, Maxwell AP, McKnight AJ. Genetic associations between genes in the renin-angiotensin-aldosterone system and renal disease: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2019;9(4):e026777. Published 2019 May 1. doi:10.1136/bmjopen-2018-026777 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6501980/>

Dal Moro F, Vendramin I, Livi U. The war against the SARS-CoV2 infection: Is it better to fight or mitigate it? [published online ahead of print, 2020 Jul 22]. *Med Hypotheses*. 2020;143:110129. doi:10.1016/j.mehy.2020.110129 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7373683/>

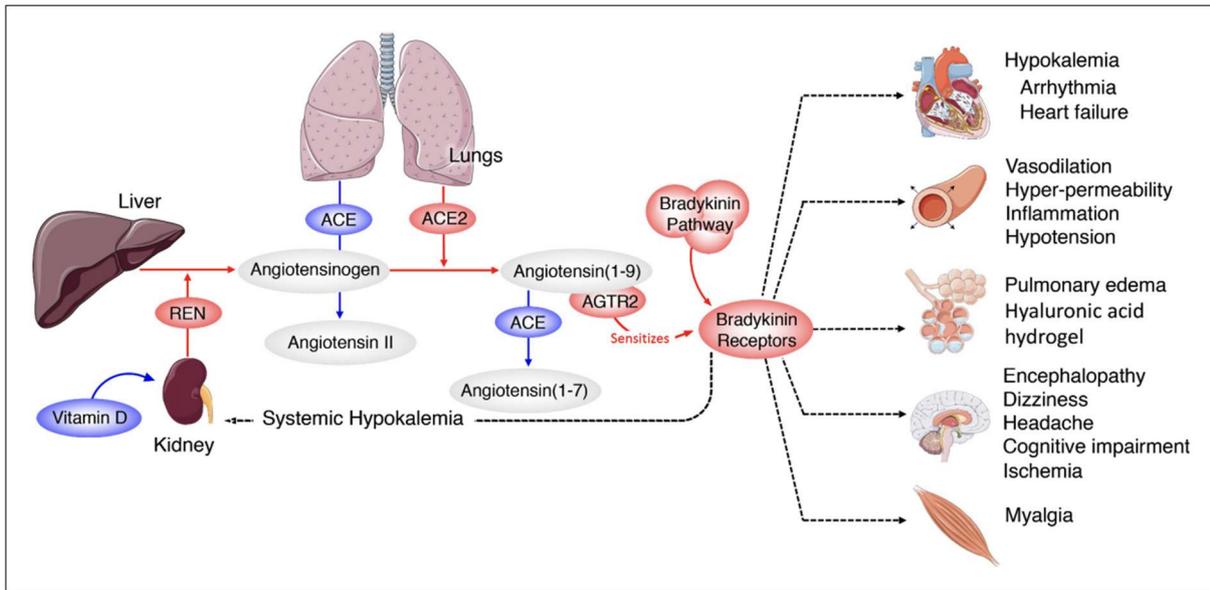
Green SJ. Covid-19 accelerates endothelial dysfunction and nitric oxide deficiency. *Microbes Infect*. 2020;22(4-5):149-150. doi:10.1016/j.micinf.2020.05.006 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7229726/>

Wu J. Tackle the free radicals damage in COVID-19. *Nitric Oxide*. 2020;102:39-41. doi:10.1016/j.niox.2020.06.002 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1089860320301580?via%3Dihub>

**La tempesta bradichininica**<sup>248</sup>

Come già visto, le analisi hanno evidenziato che SARS-CoV-2 causa la diminuzione dei livelli di ACE nelle cellule polmonari, mentre i livelli di ACE2 aumentano. Ciò a sua volta aumenta i livelli nelle cellule di una molecola nota come bradichinina causando un fenomeno definibile come "tempesta di bradichinina".

Studi precedenti avevano dimostrato che la bradichinina induce dolore e provoca l'espansione dei vasi sanguigni e la perdita di liquido che porta a gonfiore e infiammazione del tessuto circostante.



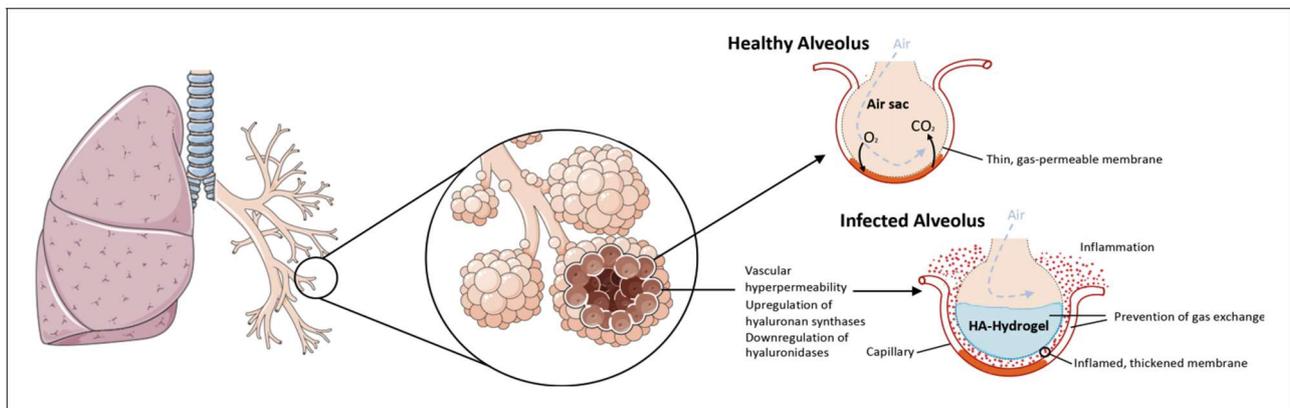
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7410499/pdf/elife-59177.pdf>

**Effetti a livello sistemico delle vie RAS e BK criticamente squilibrate.** I modelli di espressione genica dei campioni COVID BAL rivelano un RAS che è orientato verso livelli bassi di ACE che si traducono in livelli più alti di Ang1-9 e BK. Alti livelli di ACE normalmente presenti nei polmoni sono responsabili della generazione di peptidi derivati dall'angiotensina a livello sistemico. E' probabile che la tempesta di bradichinina colpisca i principali organi regolati dai derivati dell'angiotensina. Questi includono l'equilibrio elettrolitico alterato del tessuto renale e cardiaco colpito, aritmia nel tessuto cardiaco disregolato, disturbi neurologici nel cervello, mialgia nei muscoli e gravi alterazioni nell'assorbimento di ossigeno nel polmone stesso. I colori rossi indicano la sovraregolazione e blu la sottoregolazione.

Inoltre, è stato rilevato che la produzione di acido ialuronico è aumentata e gli enzimi che potrebbero degradarlo erano notevolmente diminuiti.

L'acido ialuronico può assorbire più di 1.000 volte il proprio peso in acqua per formare un idrogel.

La fuoriuscita di liquido nei polmoni indotta dalla tempesta di bradichinina, combinata con l'acido ialuronico in eccesso, probabilmente si tradurrebbe in una sostanza gelatinosa che impedisce l'assorbimento di ossigeno e il rilascio di anidride carbonica nei polmoni dei pazienti COVID-19 gravemente colpiti.



<sup>248</sup> Garvin MR, Alvarez C, Miller JI, et al.

A mechanistic model and therapeutic interventions for COVID-19 involving a RAS-mediated bradykinin storm.

Elife. 2020;9:e59177. Published 2020 Jul 7. doi:10.7554/eLife.59177

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7410499/pdf/elife-59177.pdf>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7410499/pdf/elife-59177.pdf>

La sovraregolazione delle sintasi ialuroniano e la sottoregolazione delle ialuronidasi combinate con l'iperpermeabilità indotta dalla bradichinina della microvascolarizzazione polmonare porta alla formazione di un idrogel di acido ialuronico che inibisce lo scambio di gas negli alveoli nei pazienti COVID-19

Pertanto, i risultati di Garvin et al. suggeriscono che la tempesta bradichinica potrebbe essere responsabile per i sintomi più gravi COVID-19.

Ulteriori esperimenti hanno identificato diversi farmaci già esistenti che hanno il potenziale per essere riproposti per il trattamento della tempesta di bradichinina.

## LA RIOSSIGENAZIONE/RIPERFUSIONE

### I fattori ipossici inducibili

L'omeostasi dell'ossigeno riflette il costante fabbisogno corporeo di generare energia.

L'ipossia (0,1–1% O<sub>2</sub>), la fisioxia o fisossia (~1–13%) e la normossia (~20%) sono termini usati per definire la concentrazione di ossigeno nell'ambiente cellulare.

Una diminuzione dell'ossigeno (ipossia) o un eccesso di ossigeno (iperossia) potrebbero essere deleteri per l'adattamento cellulare e la sopravvivenza.

L'ipossia può verificarsi sia in condizioni fisiologiche (ad es. esercizio fisico, sviluppo embrionale, immersioni subacquee o alta quota) che in condizioni patologiche (ad es., infiammazione, formazione di tumori solidi, malattia polmonare o infarto del miocardio).

L'ipossia gioca un ruolo chiave nella fisiopatologia di malattie cardiache, tumori, ictus e altre cause di mortalità.

I fattori ipossici inducibili (HIF) sono sensori di ossigeno chiave che mediano la capacità della cellula di far fronte alla diminuzione della tensione di ossigeno. Questi fattori di trascrizione regolano l'adattamento cellulare all'ipossia e proteggono le cellule rispondendo in modo acuto e inducendo la produzione di metaboliti e proteine endogeni per regolare prontamente le vie metaboliche.<sup>249</sup>

Una scarsa disponibilità di O<sub>2</sub> derivante da una vascolarizzazione danneggiata, alti tassi metabolici di batteri e altri patogeni e numerose cellule immunitarie infiltranti privano i tessuti infiammati di O<sub>2</sub>, portando spesso a pressioni parziali di O<sub>2</sub> (pO<sub>2</sub>) inferiori all'1%.

La segnalazione dell'ipossia e l'attivazione dell'HIF possono avere effetti antinfiammatori e pro-infiammatori per regolare l'attività delle cellule del sistema immunitario.

Le cellule immunitarie, se sottoposte a stimolazione infiammatoria, modificano la loro attività metabolica per acquisire un fenotipo che è solitamente associato a nicchie immunologiche patologiche: i neutrofili attivati aumentano l'utilizzo dell'ossigeno, mentre i macrofagi e i linfociti aumentano la glicolisi.

<sup>249</sup> Kumar H, Choi DK.

Hypoxia Inducible Factor Pathway and Physiological Adaptation: A Cell Survival Pathway?

Mediators Inflamm. 2015;2015:584758. doi:10.1155/2015/584758

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4600544/>

Palazon, Asis & Goldrath, Ananda & Nizet, Victor & Johnson, Randall. (2014).

HIF Transcription Factors, Inflammation, and Immunity.

Immunity. 41. 518-528. 10.1016/j.immuni.2014.09.008.

[https://www.researchgate.net/publication/267814422\\_HIF\\_Transcription\\_Factors\\_Inflammation\\_and\\_Immunity](https://www.researchgate.net/publication/267814422_HIF_Transcription_Factors_Inflammation_and_Immunity)

Cummins EP, Keogh CE, Crean D, Taylor CT.

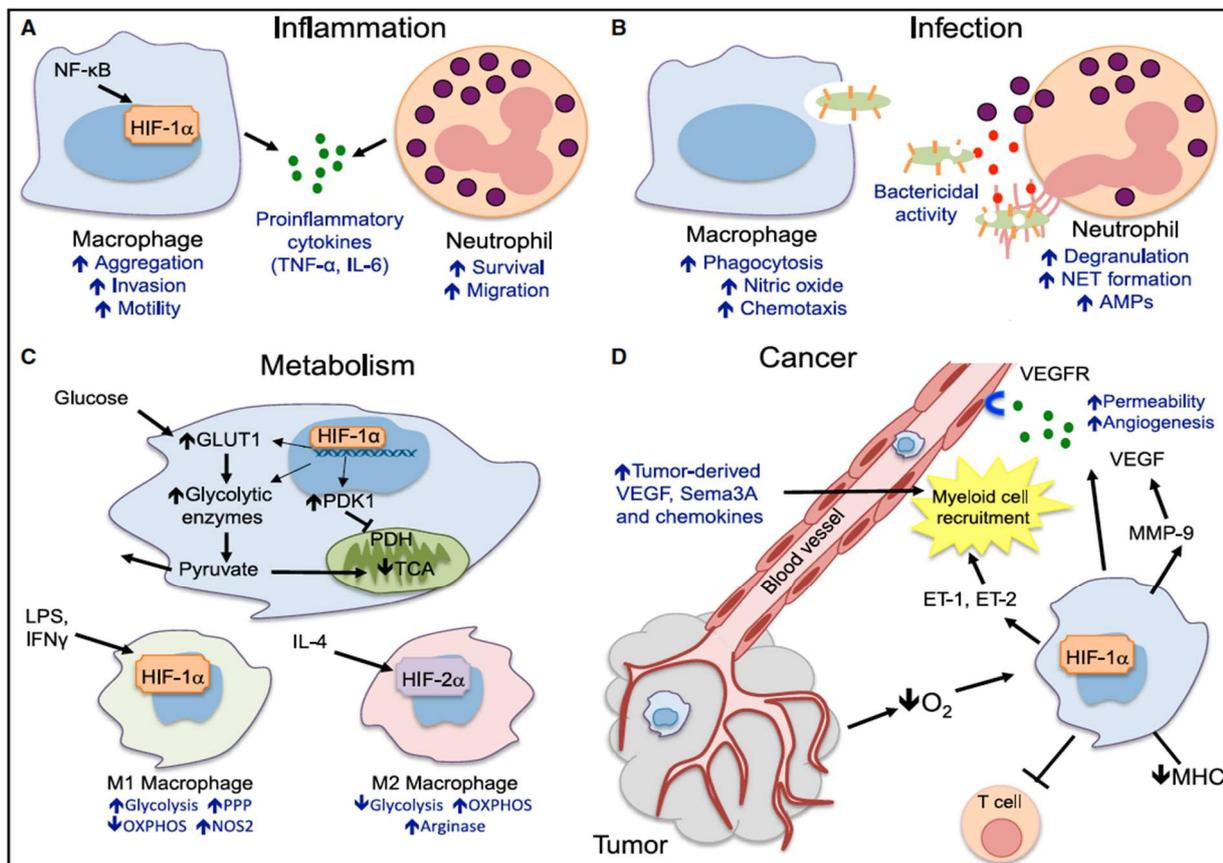
The role of HIF in immunity and inflammation.

Mol Aspects Med. 2016 Feb-Mar;47-48:24-34. doi: 10.1016/j.mam.2015.12.004. Epub 2016 Jan 6. PMID: 26768963.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26768963/>

Di conseguenza, vi è una diminuzione della quantità locale di ossigeno e uno spostamento verso un microambiente ipossico, che porta all'attivazione della segnalazione HIF e alla modulazione dell'attività delle cellule immunitarie.

Questo ciclo regolatorio dimostra la correlazione tra infiammazione, ipossia e metabolismo delle cellule immunitarie.<sup>250</sup>



[https://www.researchgate.net/publication/267814422\\_HIF\\_Transcription\\_Factors\\_Inflammation\\_and\\_Immunity](https://www.researchgate.net/publication/267814422_HIF_Transcription_Factors_Inflammation_and_Immunity)

**Via dell'ipossia e immunità innata**

(A) infiammazione. Il crosstalk HIF-1a e NF-κB regola le funzioni infiammatorie essenziali nelle cellule mieloidi. HIF-1a aumenta l'aggregazione dei macrofagi, l'invasione, e motilità e guida l'espressione delle citochine proinfiammatorie. HIF-1a aumenta anche la sopravvivenza dei neutrofilii inibendo l'apoptosi e innesca NF-κB-dipendente infiammazione neutrofila.

(B) Infezione. HIF-1a aumenta l'uccisione batterica intracellulare da parte dei macrofagi e promuove anche la produzione di proteasi dei granuli e il rilascio di ossido nitrico (NO) e TNF-α, che a sua volta contribuisce ulteriormente al controllo antimicrobico.

(C) Metabolismo. L'HIF-1a nelle cellule mieloidi aumenta la trascrizione degli enzimi glicolitici chiave, con conseguente aumento dell'assorbimento del glucosio e della velocità glicolitica. È importante sottolineare che l'ingresso del piruvato nel ciclo dell'acido citrico (TCA) viene inibito e convertito in lattato, che viene rilasciato nel compartimento extracellulare. Questo adattamento metabolico si traduce in un ridotto consumo di O<sub>2</sub> limitando il tasso di fosforilazione ossidativa (OXPHOS). I macrofagi polarizzati M1 e M2 mostrano diverse preferenze del percorso metabolico: mentre M1 si basa sulla glicolisi come fonte di energia, M2 ha un metabolismo OXPHOS costante.

(D) Cancro. Come risultato dell'ipossia, HIF-1a viene stabilizzato nelle cellule tumorali, aumentando la produzione di fattori chemiotattici come CCL5, CXCL12, VEGF, endoteline ET-1 ed ET-2 e semaforina 3A (Sema3A), che provocano il reclutamento delle cellule mieloidi nel tumore. Una volta localizzati in regioni ipossiche, i macrofagi associati al tumore stabilizzano HIF-1a, che contribuisce all'infiammazione che promuove il tumore, all'angiogenesi e alla ridotta funzionalità dei linfociti.

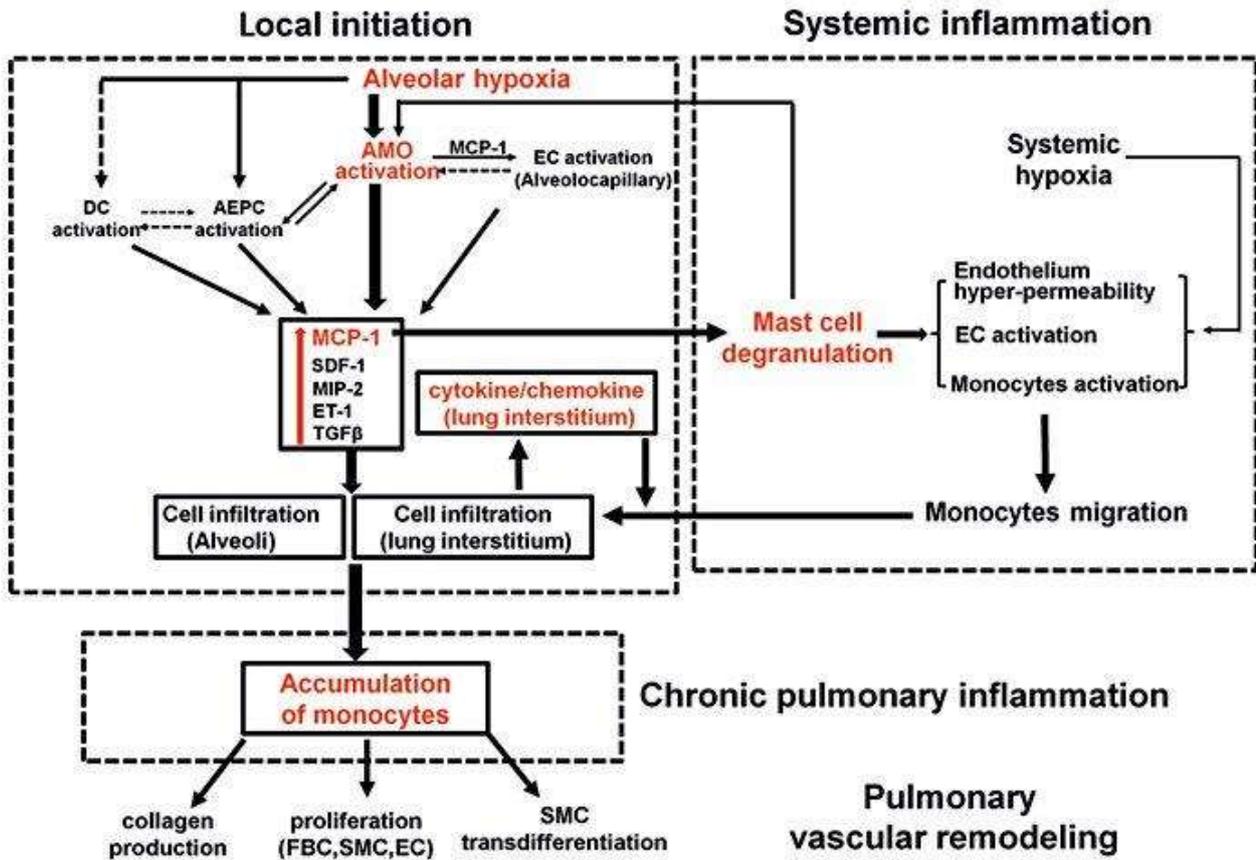
Nel polmone, l'**ipossia alveolare** può essere indotta esponendo i ratti al 10% di O<sub>2</sub> per un massimo di 8 ore, che innesca il reclutamento dei macrofagi, aumenta l'espressione di HIF-1α e delle citochine infiammatorie (p. es., la proteina infiammatoria dei macrofagi 1-α [MIP-1α], la proteina 1 chemiotattica dei monociti [MCP-1] e TNF-α), promuove l'attività di NF-κB ed aumenta la perdita di albumina.<sup>251</sup>

<sup>250</sup> Sadiku P, Walmsley SR.

Hypoxia and the regulation of myeloid cell metabolic imprinting: consequences for the inflammatory response. EMBO Rep. 2019;20(5):e47388. doi:10.15252/embr.201847388 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6500960/>

<sup>251</sup> Lin N, Simon MC.

Hypoxia-inducibile factors: key regulators of myeloid cells during inflammation.



<https://www.karger.com/Article/FullText/452800>

The initiation and progression of alveolar hypoxia-induced pulmonary inflammation. EC, endothelial cell; ET-1, endothelin-1; FBC, fibroblast cell; SMC, smooth muscle cell.

### Ipossiemia e SARS-Cov-2

Come già discusso ampiamente nella prima parte del capitolo, i pazienti con polmonite COVID-19 presentano una forma atipica della sindrome da distress respiratorio.

La caratteristica principale osservata è una dissociazione tra la loro meccanica polmonare relativamente ben conservata e la gravità dell'ipossiemia.

Un recente studio preprint <sup>252</sup> ipotizza che l'infezione da virus SARS-CoV-2 inneschi uno spostamento metabolico per attivare la glicolisi, creando così uno stato ipossico che porta a cambiamenti infiammatori nei polmoni.

La ragione di questa ipossiemia potrebbe essere correlata al fatto che molti virus si replicano più facilmente in ambienti a basso ossigeno.

Una varietà di agenti patogeni virali è in grado di attivare la via del fattore inducibile dall'ipossia (HIF-1), inducendo diversi effetti a valle come l'alterazione del metabolismo cellulare dell'ospite, la promozione dell'infiammazione e la facilitazione della replicazione virale.

J Clin Invest. 2016;126(10):3661-3671. doi:10.1172/JCI84426  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5096831/>

Chen T, Yang C, Li M, Tan X.  
 Alveolar Hypoxia-Induced Pulmonary Inflammation: From Local Initiation to Secondary Promotion by Activated Systemic Inflammation.  
 J Vasc Res. 2016;53(5-6):317-329. doi: 10.1159/000452800. Epub 2016 Dec 15. PMID: 27974708  
<https://www.karger.com/Article/FullText/452800>

<sup>252</sup> Rubio-Casillas, Alberto. (2020).  
 Does SARS CoV 2 virus induce hypoxia to increase its replication?  
 10.13140/RG.2.2.32461.26084/1.  
[https://www.researchgate.net/publication/343376914\\_Does\\_SARS\\_CoV\\_2\\_virus\\_induce\\_hypoxia\\_to\\_increase\\_its\\_replication](https://www.researchgate.net/publication/343376914_Does_SARS_CoV_2_virus_induce_hypoxia_to_increase_its_replication)

Il desametasone altera la funzione dell'HIF-1 e gli autori ipotizzano che bloccando la glicolisi indotta dall'ipossia, il **desametasone inibisce la replicazione della SARS-CoV-2**.<sup>253</sup>

### Il danno da riperfusione

Il danno da riperfusione si verifica quando l'ossigeno è reintrodotta nell'area ischemica attraverso il ripristino della circolazione. La riperfusione di ossigeno innesca la produzione dei ROS che danneggiano il tessuto ischemico. Questa condizione, nonostante largamente osservata a livello del miocardio, si verifica in qualunque tessuto ischemico e poi riperfuso.<sup>254</sup>

L'ipossia/Riossigenazione (H/R) e l'ischemia/riperfusione (I/R) iniziano entrambi il ciclo proinfiammatorio attraverso la degradazione del **glicocalice** \* e del rivestimento endoteliale mediata dai ROS e l'eparinasi.<sup>255</sup>

Nel contesto del ristagno del flusso sanguigno e degli emboli microvascolari, **la ventilazione e il rapido ripristino del flusso sanguigno verso siti ipossici e ischemici possono contribuire alla patogenesi dell'ARDS**.

Le molecole antinfiammatorie come la **N-acetilcisteina** possono potenzialmente attenuare il danno cellulare con i ROS,<sup>256</sup> e ripristinare l'equilibrio NO/ROS può ridurre il danno cellulare dovuto alla riossigenazione e riperfusione.<sup>257</sup>

<sup>253</sup> RECOVERY Collaborative Group, Horby P et al

Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 - Preliminary Report. N Engl J Med. 2020 Jul 17;NEJMoa2021436. doi: 10.1056/NEJMoa2021436. Epub ahead of print. PMID: 32678530; PMCID: PMC7383595. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7383595/>

<sup>254</sup> Pokorski M, Takeda K, Okada Y.

Oxygen Sensing Mechanisms: A Physiological Penumbra. Adv Exp Med Biol. 2016;952:1-8. doi: 10.1007/5584\_2016\_67. PMID: 27573643. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27573643/>

Antiossidanti & meccanismi regolatori REDOX Volume 9, numero 10,2007 Mary Ann Liebert, Inc. DOI:10.1089/ars.2007.1724 Revisione Forum Ossigeno, Attore Protagonista del Dramma Fisiopatologico: Meccanismi della Trinità, Normossia, Ipossia, ed Iperossia nelle Malattie ed in Terapia Aditi C. Kulkarni, Periannan Kuppusamy, E Narasimham Parinandi <https://www.farmaciasignorini.it/f/allegati/Antioxidants%20Ipossia%20ITA.pdf>

<sup>255</sup> Antonelli M, Azoulay E, Bonten M, et al.

Year in review in Intensive Care Medicine, 2008: II. Experimental, acute respiratory failure and ARDS, mechanical ventilation and endotracheal intubation. Intensive Care Med. 2009;35(2):215-231. doi:10.1007/s00134-008-1380-5 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2638603/>

Schmidt EP, Yang Y, Janssen WJ, et al.

The pulmonary endothelial glycocalyx regulates neutrophil adhesion and lung injury during experimental sepsis. Nat Med. 2012;18(8):1217-1223. doi:10.1038/nm.2843 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3723751/>

Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI.

The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. Crit Care. 2019;23(1):16. Published 2019 Jan 17. doi:10.1186/s13054-018-2292-6 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6337861/>

<sup>256</sup> Lee TF, Jantzie LL, Todd KG, Cheung PY.

Postresuscitation N-acetylcysteine treatment reduces cerebral hydrogen peroxide in the hypoxic piglet brain. Intensive Care Med. 2008;34(1):190-197. doi:10.1007/s00134-007-0880-z <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00134-007-0880-z>

<sup>257</sup> Zhou Z, Ren L, Zhang L, et al.

Heightened Innate Immune Responses in the Respiratory Tract of COVID-19 Patients. Cell Host Microbe. 2020;27(6):883-890.e2. doi:10.1016/j.chom.2020.04.017 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7196896/>

Yuxing Zhang, Yanzhi Du, Weidong Le, Kankan Wang, Nelly Kieffer, and Ji Zhang.

Antioxidants & Redox Signaling. Dec 2011.2867-2908. <http://doi.org/10.1089/ars.2010.3685> [https://www.researchgate.net/publication/50986151\\_Redox\\_Control\\_of\\_the\\_Survival\\_of\\_Healthy\\_and\\_Diseased\\_Cells](https://www.researchgate.net/publication/50986151_Redox_Control_of_the_Survival_of_Healthy_and_Diseased_Cells)

\* *Il GLICOCALICE<sup>258</sup> è uno strato gelatinoso che riveste la superficie luminale delle cellule endoteliali, composto da proteoglicani legati alla membrana, glicoproteine, glicosaminoglicani e proteine plasmatiche aderenti.<sup>259</sup> Svolge diverse funzioni necessarie per l'omeostasi vascolare: regola la permeabilità vascolare e il tono microvascolare, inibisce la trombosi microvascolare e aiuta a regolare l'adesione dei leucociti sull'endotelio<sup>260</sup>.*

Wink DA, Hines HB, Cheng RY, et al.

Nitric oxide and redox mechanisms in the immune response.

J Leukoc Biol. 2011;89(6):873-891. doi:10.1189/jlb.1010550

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3100761/>

<https://pharmaceuticalintelligence.com/2012/11/26/biochemistry-of-the-coagulation-cascade-and-platelet-aggregation/>

<https://pharmaceuticalintelligence.com/2012/11/08/nitric-oxide-platelets-endothelium-and-hemostasis/>

<https://pharmaceuticalintelligence.com/2012/08/16/no-and-platelet-aggregation/>

<sup>258</sup> Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI.

The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis.

Crit Care. 2019;23(1):16. Published 2019 Jan 17. doi:10.1186/s13054-018-2292-6

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6337861/>

Yilmaz O, Afsar B, Ortiz A, Kanbay M.

The role of endothelial glycocalyx in health and disease.

Clin Kidney J. 2019;12(5):611-619. Published 2019 Apr 23. doi:10.1093/ckj/sfz042

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6768294/>

Goligorsky MS, Sun D.

Glycocalyx in Endotoxemia and Sepsis.

Am J Pathol. 2020;190(4):791-798. doi:10.1016/j.ajpath.2019.06.017

[https://ajp.amjpathol.org/article/S0002-9440\(20\)30071-7/pdf](https://ajp.amjpathol.org/article/S0002-9440(20)30071-7/pdf)

Liu HQ, Li J, Xuan CL, Ma HC.

A review on the physiological and pathophysiological role of endothelial glycocalyx

[published online ahead of print, 2020 Jul 13]. J Biochem Mol Toxicol. 2020;e22571. doi:10.1002/jbt.22571

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbt.22571>

Machin DR, Phuong TT, Donato AJ.

The role of the endothelial glycocalyx in advanced age and cardiovascular disease.

Current Opinion in Pharmacology. 2019 Apr;45:66-71. DOI: 10.1016/j.coph.2019.04.011.

<https://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC7055464&blobtype=pdf>

Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, van Zandvoort MA, oude Egbrink MG.

The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization.

Pflugers Arch. 2007;454(3):345-359. doi:10.1007/s00424-007-0212-8

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00424-007-0212-8.pdf>

Inagawa R, Okada H, Takemura G, et al.

Ultrastructural Alteration of Pulmonary Capillary Endothelial Glycocalyx During Endotoxemia.

Chest. 2018;154(2):317-325. doi:10.1016/j.chest.2018.03.003

[https://journal.chestnet.org/article/S0012-3692\(18\)30409-4/fulltext](https://journal.chestnet.org/article/S0012-3692(18)30409-4/fulltext)

<sup>259</sup> Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER.

The structure and function of the endothelial glycocalyx layer.

Annu Rev Biomed Eng. 2007;9:121-167. doi:10.1146/annurev.bioeng.9.060906.151959

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17373886/>

<sup>260</sup> Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, Gomez H, Kellum JA, Ospina-Tascón GA, Hernandez G, Murray P, De Backer D.

The endothelium in sepsis.

Shock. 2016;45:259-270. doi: 10.1097/SHK.0000000000000473

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5281063/>

Alphonsus CS, Rodseth RN.

The endothelial glycocalyx: a review of the vascular barrier.

Anaesthesia. 2014;69(7):777-784. doi:10.1111/anae.12661

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/anae.12661>

Woodcock TE, Woodcock TM.

Revised Starling equation and the glycocalyx model of transvascular fluid exchange: an improved paradigm for prescribing intravenous fluid therapy.

Br J Anaesth. 2012;108(3):384-394. doi:10.1093/bja/aer515

<https://bjanaesthesia.org/retrieve/pii/S0007091217323012>

*La degradazione del glicocalice mediata dall'infiammazione porta a iper-permeabilità vascolare, vasodilatazione non regolata, trombosi dei microvasi e aumentata adesione dei leucociti.*

*Studi clinici hanno dimostrato la correlazione tra i livelli ematici dei componenti del glicocalice con disfunzione d'organo, gravità e mortalità nella sepsi.<sup>261</sup>*

*Durante la sepsi, la degradazione del glicocalice si verifica a causa di una combinazione di insulti fisiopatologici, potenzialmente aggravati da effetti iatrogeni associati alle pratiche di rianimazione con fluidi<sup>262</sup>*

***Infatti, le pratiche di terapia fluida eccessiva (che portano all'ipervolemia) possono aumentare la degradazione del glicocalice.***

*Al contrario, la somministrazione di plasma congelato fresco (congelato entro 24 ore dal prelievo) e albumina può attenuare la degradazione del glicocalice, i cui frammenti rilasciati nel sangue durante la sepsi possono servire anche come biomarcatori clinicamente rilevanti.*

*È importante segnalare che la somministrazione endovenosa di fluidi (bolo) può potenziare la disfunzione endoteliale septica e aumentare la mortalità come conseguenza della degradazione del glicocalice, la quale favorisce lo stravasamento di liquidi e causa edema interstiziale.*

*Lo stravasamento provoca a sua volta una ventilazione meccanica più lunga, una maggiore necessità di terapia di sostituzione renale e degenze nell'unità di terapia intensiva e in ospedale più lunghe.<sup>263</sup>*

*Lo studio FEAST (Fluid Expansion As Supportive Therapy) ha randomizzato 3400 bambini (età media 24 mesi) con sepsi ed ipoperfusione che hanno ricevuto la rianimazione in bolo con soluzione salina o albumina e un gruppo di controllo i cui partecipanti hanno ricevuto solo liquido di mantenimento senza bolo.*

*Nonostante il miglioramento precoce degli indici di perfusione, il tasso di mortalità a 48 ore era del 50% maggiore in entrambi i gruppi con fluido-bolo rispetto a nessun bolo (10,6% contro 7,3%).*

<sup>261</sup> Colbert JF, Schmidt EP.

Endothelial and Microcirculatory Function and Dysfunction in Sepsis. Clin Chest Med. 2016;37(2):263-275. doi:10.1016/j.ccm.2016.01.009 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4884305/>

<sup>262</sup> Martin L, Koczera P, Zechendorf E, Schuerholz T.

The Endothelial Glycocalyx: New Diagnostic and Therapeutic Approaches in Sepsis. Biomed Res Int. 2016;2016:3758278. doi:10.1155/2016/3758278 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5028820/>

Chelazzi C, Villa G, Mancinelli P, De Gaudio AR, Adembri C.

Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular permeability. Crit Care. 2015;19(1):26. Published 2015 Jan 28. doi:10.1186/s13054-015-0741-z <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4308932/>

Henrich M, Gruss M, Weigand MA.

Sepsis-induced degradation of endothelial glycocalyx. Sci World J. 2010;10:917-923. doi: 10.1100/tsw.2010.88 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5763774/pdf/TSWJ-2010-10-507693.pdf>

Chappell D, Jacob M.

Role of the glycocalyx in fluid management: Small things matter. Best Pract Res Clin Anaesthesiol. 2014;28:227-234. doi: 10.1016/j.bpa.2014.06.003 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25208958/>

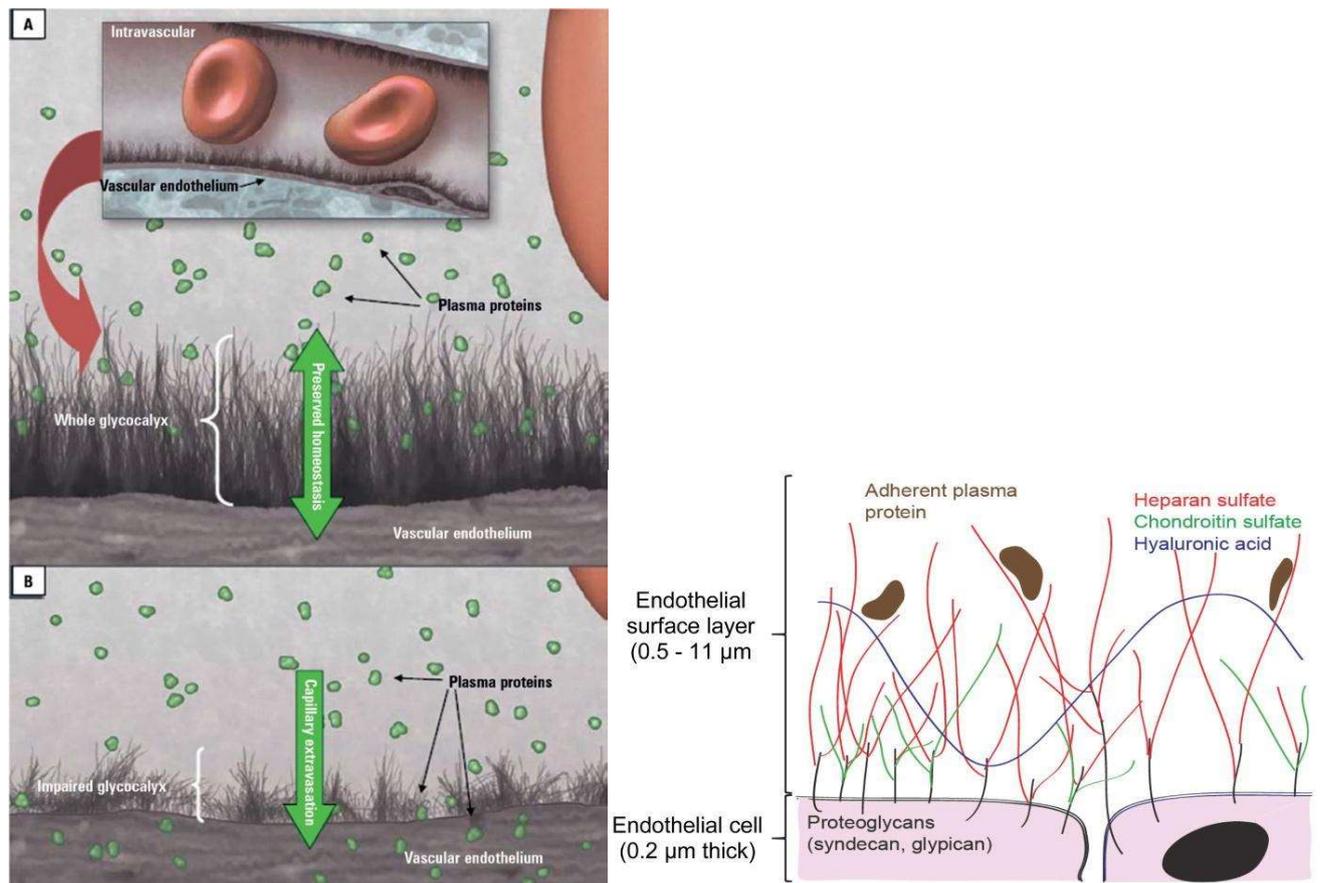
Yang Y, Schmidt EP.

The endothelial glycocalyx: an important regulator of the pulmonary vascular barrier. Tissue Barriers. 2013;1(1):e23494. doi:10.4161/tisb.23494 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3781215/>

<sup>263</sup> Hippensteel JA, Uchimido R, Tyler PD, et al.

Intravenous fluid resuscitation is associated with septic endothelial glycocalyx degradation. Crit Care. 2019;23(1):259. Published 2019 Jul 23. doi:10.1186/s13054-019-2534-2 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6652002/>

Ulteriori analisi hanno scoperto che le morti in eccesso erano dovute al **collasso cardiovascolare** piuttosto che alle complicazioni respiratorie o neurologiche dell'eccessiva somministrazione di liquidi.<sup>264</sup>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5632978/>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4884305/>

**Rappresentazione schematica del glicocalice endoteliale.** Il pannello A mostra un glicocalice sano che mantiene l'equilibrio transcapillare; Il pannello B mostra un glicocalice endoteliale danneggiato a causa di un processo infiammatorio, come la sepsi, con stravaso che si verifica insieme allo sviluppo di edema e invasione dei tessuti adiacenti da parte di citochine pro-infiammatorie.

## IMMUNOMETABOLISMO DEI MACROFAGI

Come già discusso in precedenza, i macrofagi sono una popolazione eterogenea di cellule immunitarie che svolgono diverse funzioni nelle risposte omeostatiche e immunitarie.

Anche se è chiaro che i fenotipi dei macrofagi sono difficili da classificare e dovrebbero essere visti come un insieme plastico e adattabile, possono essere semplificati in due estremi: un **profilo pro-infiammatorio (M1)** e un **profilo antinfiammatorio/pro-riparativo (M2)**.

<sup>264</sup> Macdonald SPJ, Taylor DM, Keijzers G, et al.

RESTRICTED FLUID RESUSCITATION IN SEPSIS-ASSOCIATED HYPOTENSION (REFRESH): STUDY PROTOCOL FOR A PILOT RANDOMISED CONTROLLED TRIAL.

Trials. 2017;18(1):399. Published 2017 Aug 29. doi:10.1186/s13063-017-2137-7

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5576288/>

Lopes CLS, Piva JP.

Fluid overload in children undergoing mechanical ventilation.

Rev Bras Ter Intensiva. 2017;29(3):346-353. doi:10.5935/0103-507X.20170045

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5632978/>

Sulla base di questa definizione, i **macrofagi M1** sono in grado di avviare e sostenere le **risposte infiammatorie**, secernendo citochine pro-infiammatorie, attivando le cellule endoteliali e inducendo il reclutamento di altre cellule immunitarie nel tessuto infiammato.

Dall'altro, i **macrofagi M2** promuovono la **risoluzione dell'infiammazione**, la fagocitosi delle cellule apoptotiche, la deposizione di collagene, coordinano l'integrità dei tessuti e rilasciano mediatori antinfiammatori <sup>265</sup>.

Cambiamenti drammatici nel metabolismo cellulare accompagnano questi profili fenotipici e funzionali dei macrofagi.

In particolare, i macrofagi M1 si basano principalmente sulla glicolisi \* mentre le cellule M2 dipendono maggiormente dalla fosforilazione ossidativa (OXPHOS).

Pertanto, a seconda degli stimoli ricevuti dal microambiente, i macrofagi possono passare da un profilo aerobico, basato sulla fosforilazione ossidativa, a uno anaerobico, basato sulla glicolisi e viceversa.

I macrofagi proinfiammatori sono indotti da prodotti microbici, come i lipopolisaccaridi (LPS) e altri ligandi dei recettori Toll-like (TLR), o da citochine secrete dai linfociti Th1, come l'interferone gamma (IFN- $\gamma$ ) e il fattore di necrosi tumorale alfa (TNF- $\alpha$ ).

Dal punto di vista funzionale, i macrofagi M1 sono caratterizzati dalla loro capacità di uccidere i patogeni e presentare i loro antigeni ai linfociti T per l'avvio di risposte adattative. <sup>266</sup>

I macrofagi M2 o antinfiammatori (o attivati alternativamente) sono indotti da IL-4 o IL-13 secreti da cellule immunitarie innate e adattive, come mastociti, basofili e linfociti Th2 <sup>267</sup> e sono caratterizzati da un profilo antinfiammatorio che consente la risoluzione dell'infiammazione e la riparazione dei tessuti.

<sup>265</sup> Viola A, Munari F, Sánchez-Rodríguez R, Scolaro T, Castegna A. The Metabolic Signature of Macrophage Responses. *Front Immunol.* 2019;10:1462. Published 2019 Jul 3. doi:10.3389/fimmu.2019.01462 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6618143/>

Kang S, Kumanogoh A. The spectrum of macrophage activation by immunometabolism. *Int Immunol.* 2020;32(7):467-473. doi:10.1093/intimm/dxaa017 <https://academic.oup.com/intimm/article/32/7/467/5807955>

Singer BD, Chandel NS. Immunometabolism of pro-repair cells. *J Clin Invest.* 2019;129(7):2597-2607. Published 2019 May 13. doi:10.1172/JCI124613 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6597201/>

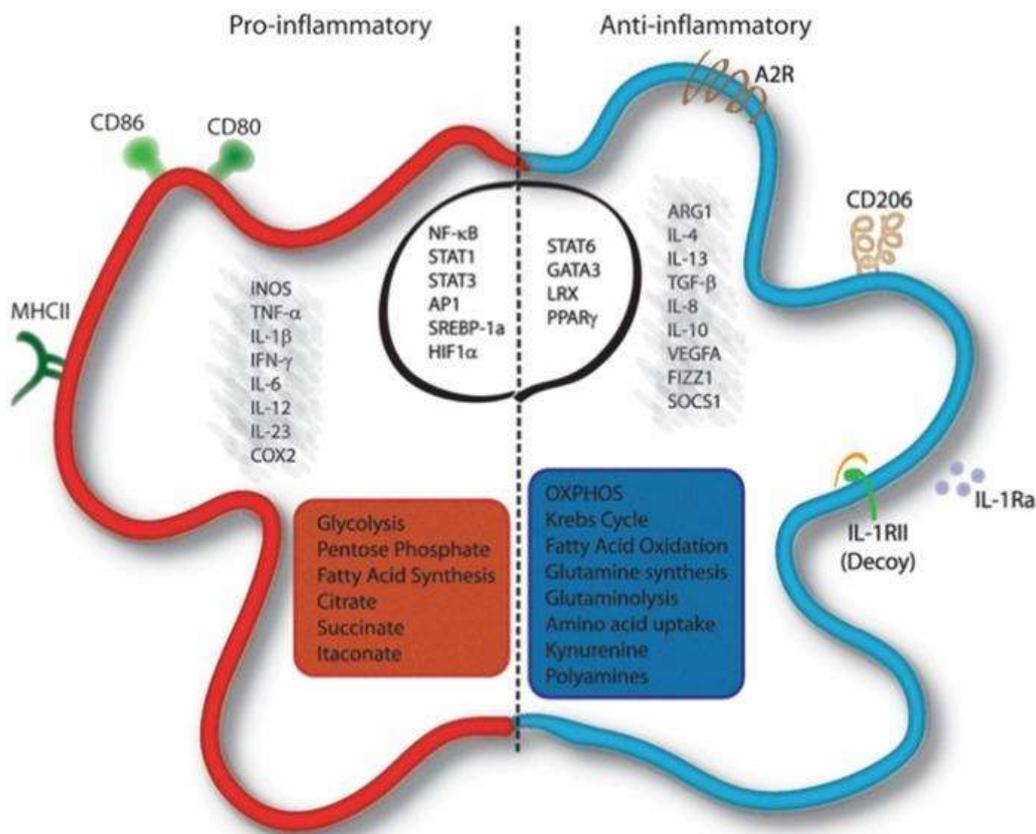
<sup>266</sup> Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep.* 2014;6:13. Published 2014 Mar 3. doi:10.12703/P6-13 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3944738/>

Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation [published correction appears in *Nat Rev Immunol.* 2010 Jun;10(6):460]. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(12):958-969. doi:10.1038/nri2448 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2724991/>

<sup>267</sup> Stein M, Keshav S, Harris N, Gordon S. Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation. *J Exp Med.* 1992;176(1):287-292. doi:10.1084/jem.176.1.287 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2119288/>

Doyle AG, Herbein G, Montaner LJ, et al. Interleukin-13 alters the activation state of murine macrophages in vitro: comparison with interleukin-4 and interferon-gamma. *Eur J Immunol.* 1994;24(6):1441-1445. doi:10.1002/eji.1830240630 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/eji.1830240630>

I macrofagi M2 inducono angiogenesi e linfangiogenesi producendo fattore di crescita endoteliale vascolare A (VEGF-A), fattore di crescita endoteliale (EGF), fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF) e IL-8.<sup>268</sup>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6618143/>

**Profili molecolari e metabolici dell'attivazione dei macrofagi.** Gli stimoli pro-infiammatori inducono l'attivazione di percorsi specifici attraverso l'attivazione di fattori di trascrizione come NF-κB, STAT1, STAT3, AP-1, SREBP-1 e HIF1α, che attivano l'espressione di marcatori come iNOS, COX-2, CD80, CD86 e MHC-II e il rilascio di IL-1β, TNF-α, IFN-γ, IL-6, IL-12 e IL-23. Le cellule subiscono una riprogrammazione metabolica verso la glicolisi, la via dei pentoso fosfati e la sintesi degli acidi grassi. Ciò si associa all'interruzione del ciclo di Krebs, alla formazione di ROS e all'efflusso di citrato, che supporta la sintesi di NADPH e PGE2, e succinato, che stabilizza HIF-1α. L'itaconato è prodotto dal citrato e mostra una funzione antibatterica. I macrofagi antinfiammatori sono caratterizzati dall'espressione di ARG1, FIZZ1, SOCS1, CD206, del recettore dell'adenosina (A2R), dell'IL1RII e dalla produzione di citochine come TGF-β, IL-10, IL-4, IL-13, IL-8, IL-1Ra e VEGFA. Il loro profilo è controllato principalmente dall'attività dei fattori di trascrizione STAT6, GATA3, PPARγ e LRX. Metabolicamente, queste cellule mostrano un metabolismo OXPHOS potenziato, ossidazione degli acidi grassi, glutaminolisi, catabolismo del triptofano con rilascio di chinurenina e sintesi di poliammine. AP-1, proteina attivatrice 1; ARG1, arginasi 1; COX2, cicloossigenasi 2; FIZZ1, trovato nella zona infiammatoria 1; iNOS, ossido nitrico sintasi inducibile; GATA3, proteina legante GATA 3; HIF1α, fattore 1-alfa inducibile dall'ipossia; IFN-γ, Interferone gamma; LRX, recettore X del fegato; MHC-II, complesso maggiore di istocompatibilità classe 2; NF-κB, potenziatore della catena leggera kappa del fattore nucleare delle cellule B attivate; PPARγ, recettore gamma attivato dal proliferatore del perossisoma; SOCS1, soppressore della segnalazione di citochine 1; SREBP-1, proteina legante l'elemento regolatorio degli steroli 1; STAT, trasduttore di segnale e attivatore di trascrizione; TNF-α, Fattore di necrosi tumorale alfa; TGF-β, fattore di crescita beta trasformante; VEGFA, Fattore di crescita endoteliale vascolare A.

### Approfondimento

#### IL METABOLISMO

#### RESPIRAZIONE CELLULARE

**Video GLICOLISI CICLO DI KREBS CATENA DI TRASPORTO DEGLI ELETTRONI**

Le differenze metaboliche tra le cellule M1 e M2 incidono sulla capacità di queste cellule di generare ROS (radicali liberi). In una situazione di respirazione accoppiata ed efficiente, la quantità di ROS prodotta dalla catena di trasporto degli elettroni (ETC) è tenuta sotto controllo e a livelli bassi.

<sup>268</sup> Corliss BA, Azimi MS, Munson JM, Peirce SM, Murfee WL. Macrophages: An Inflammatory Link Between Angiogenesis and Lymphangiogenesis. Microcirculation. 2016;23(2):95-121. doi:10.1111/micc.12259 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4744134/>

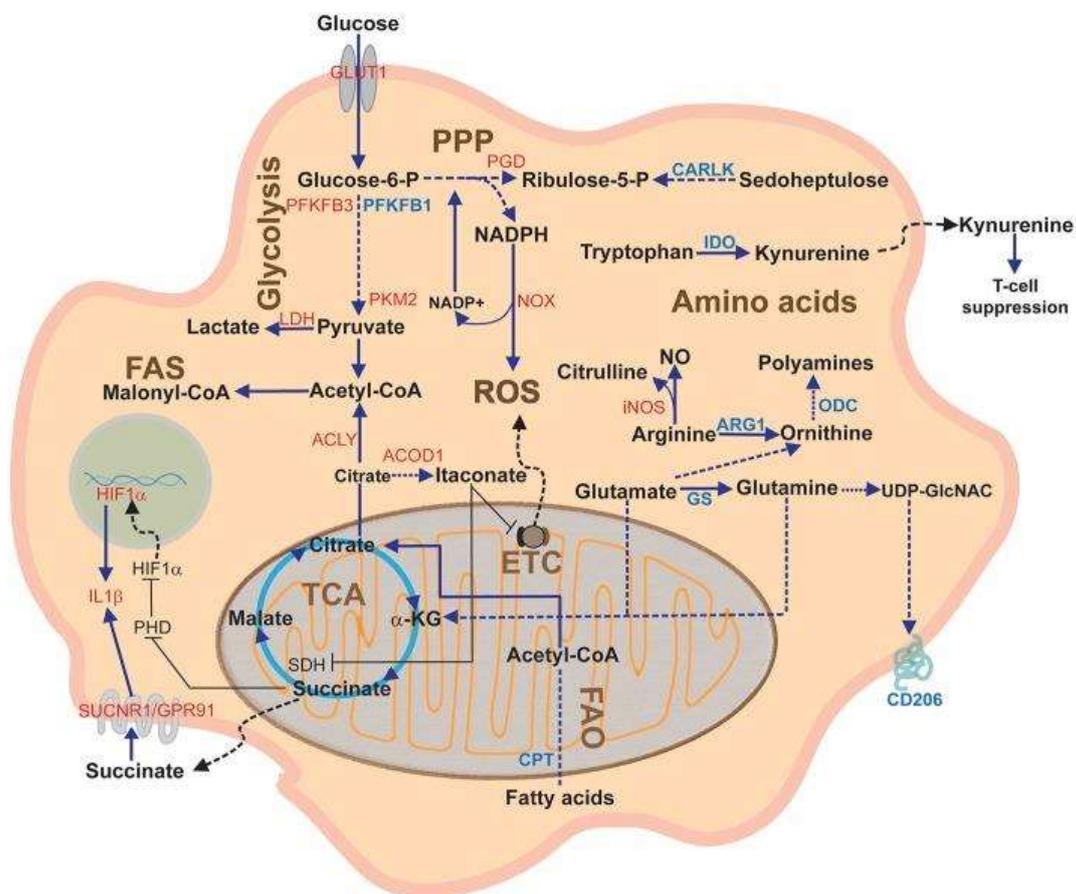
In condizioni di disfunzione OXPHOS, si verifica una perdita significativa di elettroni che, in presenza di ossigeno, produce ROS.<sup>269</sup>

Questo è il caso dei macrofagi pro-infiammatori, in cui la polarizzazione modifica profondamente l'OXPHOS, portando alla produzione di ROS.

Oltre ad essere un sottoprodotto dannoso del metabolismo, i ROS cellulari fungono anche da regolatori principali della segnalazione cellulare attraverso l'attivazione di molti percorsi sensibili allo stato redox<sup>270</sup>.

Nei macrofagi, i ROS regolano diverse funzioni, tra cui la fagocitosi, l'uccisione batterica e la polarizzazione in fenotipi specifici.

I ROS mitocondriali sono noti per sostenere l'infiammazione mediando la secrezione di citochine IL-6, TNF-α e IL-1β.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6618143/>

<sup>269</sup> Carneiro FRG, Lepelley A, Seeley JJ, Hayden MS, Ghosh S. An Essential Role for ECSIT in Mitochondrial Complex I Assembly and Mitophagy in Macrophages. Cell Rep. 2018;22(10):2654-2666. doi:10.1016/j.celrep.2018.02.051 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5909989/>

West AP, Brodsky IE, Rahner C, et al. TLR signalling augments macrophage bactericidal activity through mitochondrial ROS. Nature. 2011;472(7344):476-480. doi:10.1038/nature09973 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3460538/>

<sup>270</sup> Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. Cell Signal. 2012;24(5):981-990. doi:10.1016/j.cellsig.2012.01.008 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3454471/>

**Panoramica delle vie metaboliche dei macrofagi.** Questo diagramma illustra i principali percorsi dei macrofagi durante la polarizzazione classica e alternativa e le loro componenti. In rosso, proteine sovraregolate nell'attivazione pro-infiammatoria (M1); in blu, proteine sovraregolate durante l'attivazione antinfiammatoria (M2).  $\alpha$ -KG, alfa-chetoglutarato; ACLY, ATP citrato liasi; ARG1, arginase1; CARLK, proteina simile alla chinasi dei carboidrati; CPT, carnitina palmitoil transferasi; ECCETERA; Catena di trasporto degli elettroni; FAO Ossidazione degli acidi grassi; FAS, sintesi di acidi grassi; GS, glutamina sintetasi; GLUT1, trasportatore del glucosio 1; IDH, isocitrato deidrogenasi; IDO, indoleamina diossigenasi; iNOS, ossido nitrico sintasi inducibile; LDH, lattato deidrogenasi; NO, ossido nitrico; NOX, NADPH ossidasi; ODC, ornitina decarbossilasi; PGD, fosfogluconato deidrogenasi; PHD, prolil idrossilasi; PPP, via del pentoso fosfato; PFKFB3, fosfofruttochinasi fruttosio 2,6-bisfosfatasi B3; PKM2, piruvato chinasi M2; ROS, specie reattive dell'ossigeno; SDH, succinato deidrogenasi; SUCNR1, recettore 1 del succinato; TCA, ciclo dell'acido tricarbossilico o ciclo di Krebs.

### Risoluzione dell'infiammazione mediata dall'immunità innata

I macrofagi sono coinvolti anche nel processo di risoluzione dell'infiammazione attraverso la stimolazione della fagocitosi dei detriti (debris) cellulari (**efferocitosi**)<sup>271</sup> in un processo definito "risoluzione dell'infiammazione".

I mediatori endogeni autacoidi \* lipidici, denominati eicosanoidi, svolgono un ruolo critico nell'induzione dell'infiammazione e nella produzione di citochine pro-infiammatorie.

Il SARS-CoV-2 è in grado di scatenare una "**tempesta eicosanoide**" indotta dalla morte cellulare, che include prostaglandine e leucotrieni, e a sua volta avvia una risposta infiammatoria robusta.

Sta emergendo un mutamento di paradigma nella comprensione della risoluzione dell'infiammazione come processo biochimico attivo, con la scoperta di nuovi mediatori endogeni specializzati di autacoidi lipidici (SPM), come le **resolvine**.

Le **resolvine** e altri SPM stimolano la rimozione dei detriti mediata dai macrofagi e contrastano la produzione di citochine pro-infiammatorie.

Gli SPM e i loro precursori lipidici mostrano **attività antivirale** a dosi di nanogrammi nell'influenza senza essere immunosoppressivi; promuovono anche la formazione di anticorpi anti-virali delle cellule B e l'attività dei linfociti, evidenziando il loro potenziale utilizzo nel trattamento del COVID-19.

Gli inibitori dell'eossido-idrolasi solubile (sEH) stabilizzano gli acidi epossieicosatrienoici derivati dall'acido arachidonico (EET), che stimolano anche la risoluzione dell'infiammazione.

Sia le resolvine che gli EET **attenuano anche la trombosi patologica e promuovono la rimozione del coagulo**, complicazione grave dell'infezione da COVID-19.

Pertanto, sia gli SPM che gli inibitori della SEH possono promuovere la risoluzione dell'infiammazione nel COVID-19, riducendo così la sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS) e altre complicazioni potenzialmente letali associate a una forte infiammazione indotta da virus.<sup>272</sup>

<sup>271</sup> Morioka S, Maueröder C, Ravichandran KS.

Living on the Edge: Efferocytosis at the Interface of Homeostasis and Pathology. *Immunity*. 2019;50(5):1149-1162. doi:10.1016/j.immuni.2019.04.018 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6721617/>

Kourtzelis I, Hajishengallis G, Chavakis T.

Phagocytosis of Apoptotic Cells in Resolution of Inflammation. *Front Immunol*. 2020;11:553. Published 2020 Mar 31. doi:10.3389/fimmu.2020.00553 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7137555/>

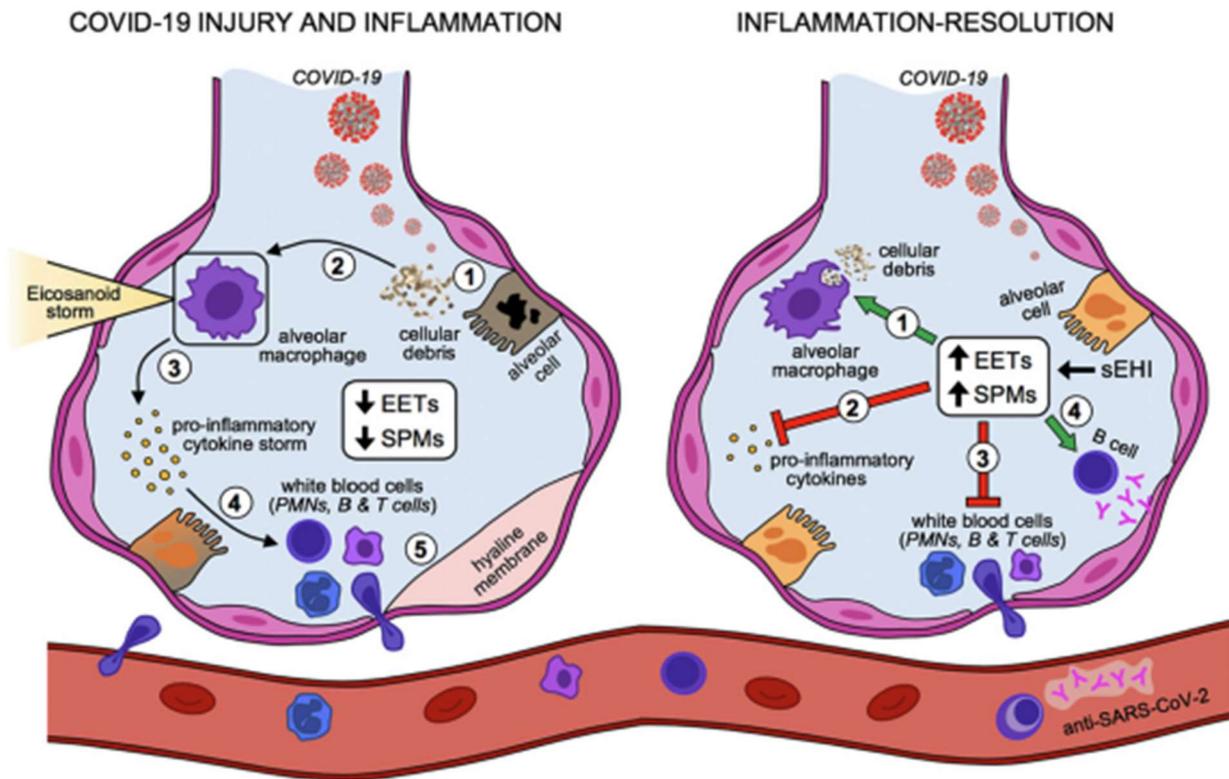
<sup>272</sup> Panigrahy D, Gilligan MM, Huang S, et al.

Inflammation resolution: a dual-pronged approach to averting cytokine storms in COVID-19? *Cancer Metastasis Rev*. 2020;39(2):337-340. doi:10.1007/s10555-020-09889-4 [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7207990/pdf/10555\\_2020\\_Article\\_9889.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7207990/pdf/10555_2020_Article_9889.pdf)

Watanabe S, Alexander M, Misharin AV, Budinger GRS.

The role of macrophages in the resolution of inflammation.

**\* Definizione AUTACOIDI E INFIAMMAZIONE**



[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7207990/pdf/10555\\_2020\\_Article\\_9889.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7207990/pdf/10555_2020_Article_9889.pdf)

**Risoluzione dell'infiammazione nell'infezione grave da COVID-19.** L'alveolo sinistro mostra (1) morte cellulare alveolare indotta da virus e accumulo di detriti cellulari apoptotici e necrotici. Questi detriti provocano una risposta proinfiammatoria da parte dei macrofagi (2), che a loro volta producono elevate quantità di eicosanoidi generando una "tempesta eicosanoide". Questi eicosanoidi stimolano successivamente la produzione di citochine proinfiammatorie (3) da parte delle cellule immunitarie come i macrofagi, generando una robusta "tempesta di citochine" che a sua volta promuove ulteriori leucocitosi e infiltrati di cellule immunitarie (4). Questa robusta risposta infiammatoria all'infezione virale promuove la formazione della membrana ialina (5) e la conseguente sindrome da distress respiratorio acuto. I livelli tissutali di SPM e EET sono diminuiti in questo robusto contesto infiammatorio. L'alveolo destro mostra l'infezione da COVID-19 nel contesto dei meccanismi di risoluzione attiva dell'infiammazione, come nel caso di un'infezione lieve o potenzialmente a seguito di trattamento con SPM o inibizione di sEH per aumentare gli EET. Gli EET promuovono la generazione di SPM dall'acido arachidonico e dagli acidi grassi omega-3. Gli SPM (1) stimolano la fagocitosi e l'efferocitosi dei macrofagi, (2) riducono la produzione di citochine proinfiammatorie, (3) inibiscono la leucocitosi e quindi diminuiscono l'infiltrato infiammatorio e (4) possono stimolare la risposta immunitaria adattativa e la produzione di anti-SARS- Anticorpi CoV-2

J Clin Invest. 2019;129(7):2619-2628. Published 2019 May 20. doi:10.1172/JCI124615  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6597225/>

Headland SE, Norling LV.

The resolution of inflammation: Principles and challenges.

Semin Immunol. 2015;27(3):149-160. doi:10.1016/j.smim.2015.03.014

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1044532315000226?via%3Dihub>

## L'immunoma del COVID-19

Il successo della gestione e dell'intervento terapeutico del paziente COVID-19 si basa sull'integrazione completa di tutte le conoscenze sul tropismo del SARS-CoV-2 e l'immunopatologia del COVID-19 in un unico paradigma unificato di "immunoma".<sup>273</sup>

L'integrazione delle prove attualmente pubblicate<sup>274</sup> e delle ipotesi di lavoro preliminari indicano una disregolazione immunitaria spazio-temporale durante il COVID-19.

In particolare, si ipotizza un modello di due immunopatologie che interagiscano tra loro e possono entrambe culminare in effetti immunocitopatici indiretti e/o diretti.<sup>275</sup>

- (i) un'infezione virale con tropismo polmonare (VLI) che porta all'iperinfiammazione citochina-guidata associata a risposte IFN disfunzionali che impediscono la clearance virale nel sito di ingresso (vie respiratorie superiori/polmoni);
- (ii) un'immuno-disregolazione sistemica collaterale (CSID) risultante da un'induzione eccessiva ma inefficace di cellule immunitarie mieloidi<sup>276</sup>,

<sup>273</sup> Wauters E, Thevissen K, Wouters C, et al.

Establishing a Unified COVID-19 "Immunome": Integrating Coronavirus Pathogenesis and Host Immunopathology.

Front Immunol. 2020;11:1642. Published 2020 Jul 3. doi:10.3389/fimmu.2020.01642

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7347900/>

<sup>274</sup> Cao X.

COVID-19: immunopathology and its implications for therapy.

Nat Rev Immunol. 2020;20(5):269-270. doi:10.1038/s41577-020-0308-3

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7143200/>

Vardhana SA, Wolchok JD.

The many faces of the anti-COVID immune response.

J Exp Med. 2020;217(6):e20200678. doi:10.1084/jem.20200678

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7191310/>

Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP.

The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention.

Nat Rev Immunol. 2020;20(6):363-374. doi:10.1038/s41577-020-0311-8

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7187672/>

<sup>275</sup> Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, et al.

Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients.

Science. 2020;369(6504):718-724. doi:10.1126/science.abc6027

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7402632/>

Blanco-Melo D, Nilsson-Payant B, Liu W-C, Uhl S, Hoagland D, Moeller R, et al.

Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19.

Cell. (2020) 181:1036-45. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.026

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7227586/>

Wang K, Chen W, Zhou Y-S, Lian J-Q, Zhang Z, Du P, et al.

SARS-CoV-2 invades host cells via a novel route: CD147-spike protein.

BioRxiv [Preprint]. (2020). doi: 10.1101/2020.03.14.988345

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.03.14.988345v1.full.pdf>

Fu Y, Cheng Y, Wu Y.

Understanding SARS-CoV-2-Mediated Inflammatory Responses: From Mechanisms to Potential Therapeutic Tools.

Virology. 2020;35(3):266-271. doi:10.1007/s12250-020-00207-4

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7090474/>

Quinti I, Lougaris V, Miloto C, et al.

A possible role for B cells in COVID-19? Lesson from patients with agammaglobulinemia.

J Allergy Clin Immunol. 2020;146(1):211-213.e4. doi:10.1016/j.jaci.2020.04.013

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7175894/>

<sup>276</sup> Giamarellos-Bourboulis EJ, Netea MG, Rovina N, et al.

Complex Immune Dysregulation in COVID-19 Patients with Severe Respiratory Failure.

Cell Host Microbe. 2020;27(6):992-1000.e3. doi:10.1016/j.chom.2020.04.009

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7172841/>

la quale può determinare a sua volta una risposta non coordinata di citochine che compromette il funzionamento efficiente delle cellule linfocitiche e NK.<sup>277</sup>

La conferma di questo modello richiede un alto grado di coordinamento tra iniziative metodologiche e di progettazione di studi clinici, a partire dalla raccolta di campioni di pazienti dedicati e difficili da ottenere (invasivi) di diversi tessuti (polmone, cuore, milza, fegato, midollo osseo e linfonodi dopo autopsia e lavaggio broncoalveolare) e campioni di sangue longitudinali.

Esiste purtroppo tuttora un'enorme scarsità di analisi da autopsie di alta qualità nei pazienti deceduti con COVID-19, che compromette gravemente la comprensione di questa complessa malattia nel periodo terminale.<sup>278</sup>

Oltre alle tecnologie di tipizzazione immunologica di base (citometria a flusso/tipizzazione delle citochine), dovrebbe essere inclusa nel flusso di lavoro anche la trascrittomico a singola cellula. Ciò consentirebbe una valutazione approfondita degli stati fondamentali delle cellule immunitarie, cioè la differenziazione delle cellule immunitarie e i percorsi funzionali, nonché la discriminazione delle cellule immunitarie infettate da virus o non infette.

Tale conoscenza integrata ha un ruolo importante nella comprensione della fisiopatologia del COVID-19 e servirebbe come razionale per la realizzazione di protocolli terapeutici efficaci.<sup>279</sup>

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01642/full>

**Un modello unificato di "immunoma" del COVID-19 che integra la fisiopatologia associata ai polmoni con l'immunopatologia sistemica, che insieme rappresentano il paradigma immunologico SARS-CoV-2/COVID19.** SARS-CoV-2 mostra un aumento del tropismo (diretto) verso le cellule epiteliali ACE2 + all'interno dei polmoni e delle vie aeree superiori che, a causa della replicazione virale, alla fine provoca la morte delle cellule epiteliali e la distruzione dell'epitelio. Ciò è parallelo all'interruzione delle risposte dell'interferone di tipo I (IFN) all'interno delle cellule infette, probabilmente a causa dell'interferenza diretta dei profili anti-IFN derivati da SARS-CoV-2. Ciò è accompagnato dal rilascio di pattern molecolari associati al danno (DAMP; provenienti da cellule epiteliali morenti/morte) e da pattern molecolari associati a patogeni (PAMP; provenienti da materiale genetico virale e proteine immunogeniche). Questi eventi, insieme ai suddetti eventi patogeni virali, alimentano l'iperinfiammazione mieloide disregolata. Inoltre, attraverso meccanismi ancora poco chiari, SARS-CoV-2 può anche esercitare effetti citopatici diretti o indiretti sulle cellule immunitarie mieloidi, facilitando così ulteriormente la disregolazione immunitaria. Questi eventi insieme caratterizzano il fenotipo ARDS associato a COVID-19. L'ARDS può: (I) da un lato, facilitare l'iperinfiammazione sistemica guidata dalle citochine; (II) d'altra parte, stressare gli organi linfoidi richiedendo un maggiore reclutamento di cellule immunitarie per la risoluzione dell'infiammazione. Tale stress immunologico prolungato accompagnato da infiammazione a base di citochine facilita la linfopenia, tipicamente osservata nei pazienti COVID-19 (e può anche causare insufficienza d'organo linfoide se questa situazione stressante

Azkur AK, Akdis M, Azkur D, et al.

Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19.

Allergy. 2020;75(7):1564-1581. doi:10.1111/all.14364

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7272948/>

Li H, Liu L, Zhang D, et al.

SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses.

Lancet. 2020;395(10235):1517-1520. doi:10.1016/S0140-6736(20)30920-X

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7164875/>

Salomé B, Magen A.

Dysregulation of lung myeloid cells in COVID-19.

Nat Rev Immunol.(2020) 20:277. doi: 10.1038/s41577-020-0303-8

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7132548/>

<sup>277</sup> Lindsley AW, Schwartz JT, Rothenberg ME.

Eosinophil responses during COVID-19 infections and coronavirus vaccination.

J Allergy Clin Immunol. 2020;146(1):1-7. doi:10.1016/j.jaci.2020.04.021

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194727/>

<sup>278</sup> Salerno M, Sessa F, Piscopo A, et al.

No Autopsies on COVID-19 Deaths: A Missed Opportunity and the Lockdown of Science.

J Clin Med. 2020;9(5):1472. Published 2020 May 14. doi:10.3390/jcm9051472

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7291342/>

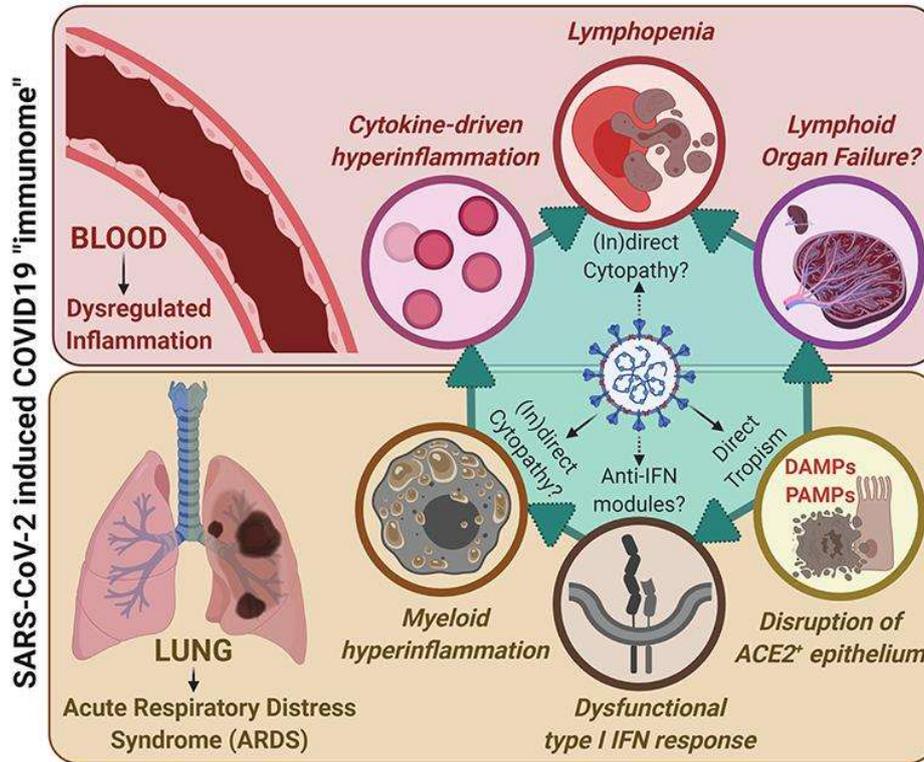
<sup>279</sup> Wauters E, et al

Establishing a Unified COVID-19 "Immunome": Integrating Coronavirus Pathogenesis and Host Immunopathology.

Front. Immunol. (2020) 11:1642. doi: 10.3389/fimmu.2020.01642

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01642/full>

si prolunga, come si è visto in alcuni pazienti critici). Qui, ci sono alcune prove che il SARS-CoV-2 può esercitare effetti citopatici (in) diretti contro i linfociti, alimentando così ulteriormente la linfopenia. Insieme, questi processi definiscono i fenotipi immunologici globali o il fenomeno (insieme dei tratti fenotipici) inclusivo (l' "immunoma") del COVID-19.



## L'ASSE INTESTINO-POLMONE

Studi recenti hanno dimostrato che il microbiota intestinale può influenzare l'infiammazione sistemica e il danno tissutale.

In particolare, è stato riscontrato che un aumento delle tossine batteriche circolanti provoca un'espressione genica ridotta delle giunzioni strette e un danno polmonare letale dopo il trapianto fecale.<sup>280</sup>

Gli autori suggeriscono che questi cambiamenti possono verificarsi a seguito della crescita eccessiva dei microbi intestinali e/o della produzione sopra soglia di prodotti tossici batterici, con conseguente traslocazione sistemica, aumento dell'infiammazione e conseguente danno endoteliale polmonare.

I ceppi batterici che erano principalmente implicati in questa patogenicità erano membri dei Clostridium.<sup>281</sup>

<sup>280</sup> Ji Y, Sun S, Goodrich JK, et al.

Diet-induced alterations in gut microflora contribute to lethal pulmonary damage in TLR2/TLR4-deficient mice. Cell Rep. 2014;8(1):137-149. doi:10.1016/j.celrep.2014.05.040 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4103790/>

<sup>281</sup> Thevaranjan N, Puchta A, Schulz C, et al.

Age-Associated Microbial Dysbiosis Promotes Intestinal Permeability, Systemic Inflammation, and Macrophage Dysfunction [published correction appears in Cell Host Microbe. 2018 Apr 11;23 (4):570]. Cell Host Microbe. 2017;21(4):455-466.e4. doi:10.1016/j.chom.2017.03.002 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5392495/>

Claesson M.J., Cusack S., O'Sullivan O., Greene-Diniz R., de Weerd H., Flannery E., Marchesi J.R., Falush D., Dinan T., Fitzgerald G. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly.

Le cellule immunitarie indotte da una varietà di antigeni possono spostarsi tra l'intestino e i polmoni attraverso il sistema linfatico e/o il sangue, regolando la risposta immunitaria di entrambi gli organi.

Il cross-talk tra i tessuti intestinali e polmonari mediato dal microbioma e dalle cellule immunitarie è chiamato **"asse intestino-polmone"**.<sup>282</sup>

Sono numerosi ormai gli studi che confermano che lo stato di disbiosi intestinale è correlato a malattie polmonari e infezioni del tratto respiratorio.<sup>283</sup>

Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011;108(Suppl 1):4586–4591.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3063589/>

Claesson M.J., Jeffery I.B., Conde S., Power S.E., O'Connor E.M., Cusack S., Harris H.M., Coakley M., Lakshminarayanan B., O'Sullivan O.  
 Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly.  
 Nature. 2012;488:178–184  
<https://www.nature.com/articles/nature11319>

Keebaugh ES, Ja WW.  
 Breaking Down Walls: Microbiota and the Aging Gut.  
 Cell Host Microbe. 2017;21(4):417-418. doi:10.1016/j.chom.2017.03.013

He LH, Ren LF, Li JF, Wu YN, Li X, Zhang L.  
 Intestinal Flora as a Potential Strategy to Fight SARS-CoV-2 Infection.  
 Front Microbiol. 2020;11:1388. Published 2020 Jun 9. doi:10.3389/fmicb.2020.01388  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.01388/full>

<sup>282</sup> McGhee JR, Fujihashi K.  
 Inside the mucosal immune system.  
 PLoS Biol. 2012;10(9):e1001397. doi:10.1371/journal.pbio.1001397  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3457930/>

Aktas B, Aslim B.  
 Gut-lung axis and dysbiosis in COVID-19.  
 Turk J Biol. 2020;44(3):265-272. Published 2020 Jun 21. doi:10.3906/biy-2005-102  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7314510/>

Dhar D, Mohanty A.  
 Gut microbiota and Covid-19- possible link and implications.  
 Virus Res. 2020;285:198018. doi:10.1016/j.virusres.2020.198018  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7217790/>

Date Y, Ebisawa M, Fukuda S, et al.  
 NALT M cells are important for immune induction for the common mucosal immune system.  
 Int Immunol. 2017;29(10):471-478. doi:10.1093/intimm/dxx064  
<https://academic.oup.com/intimm/article/29/10/471/4666431>

Ipci K, Altıntoprak N, Muluk NB, Senturk M, Cingi C.  
 The possible mechanisms of the human microbiome in allergic diseases.  
 Eur Arch Otorhinolaryngol. 2017;274(2):617-626. doi:10.1007/s00405-016-4058-6  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27115907/>

<sup>283</sup> Hand TW, Vujkovic-Cvijin I, Ridaura VK, Belkaid Y.  
 Linking the Microbiota, Chronic Disease, and the Immune System.  
 Trends Endocrinol Metab. 2016;27(12):831-843. doi:10.1016/j.tem.2016.08.003  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5116263/>

Belkaid Y, Harrison OJ.  
 Homeostatic Immunity and the Microbiota.  
 Immunity. 2017;46(4):562-576. doi:10.1016/j.immuni.2017.04.008  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5604871/>

Selber-Hnatiw S, Rukundo B, Ahmadi M, et al.  
 Human Gut Microbiota: Toward an Ecology of Disease.  
 Front Microbiol. 2017;8:1265. Published 2017 Jul 17. doi:10.3389/fmicb.2017.01265  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5511848/>

Nel modello murino, la deplezione dei batteri intestinali sensibili (ad es. Bifidobatteri) dopo la somministrazione di neomicina aumenta la suscettibilità dei topi all'infezione da virus dell'influenza e all'infiammazione allergica polmonare <sup>284</sup>, e un recente studio ha riportato che l'aumento della popolazione intestinale di Bifidobacterium endogeno migliorava la resistenza degli ospiti all'influenza in caso d'infezione da influenza letale. <sup>285</sup>

Bradley et al. hanno dimostrato che l'abbondanza di batteri filamentosi segmentati potrebbe stimolare la migrazione delle cellule Th17 nel polmone, aumentando la risposta autoimmune e aggravando le lesioni polmonari. <sup>286</sup>

Inoltre, il microbiota intestinale e i suoi metaboliti, come gli acidi grassi a catena corta (SCFA) e i lipopolisaccaridi (LPS), fanno parte della barriera immunitaria della mucosa intestinale e mantengono la sua funzione normale durante le infezioni del tratto respiratorio. <sup>287</sup>

---

Gong S, Lan T, Zeng L, et al.

Gut microbiota mediates diurnal variation of acetaminophen induced acute liver injury in mice. *J Hepatol.* 2018;69(1):51-59. doi:10.1016/j.jhep.2018.02.024  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29524531/>

Schirmer M, Franzosa EA, Lloyd-Price J, et al.

Dynamics of metatranscription in the inflammatory bowel disease gut microbiome. *Nat Microbiol.* 2018;3(3):337-346. doi:10.1038/s41564-017-0089-z  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6131705/>

<sup>284</sup> Dharmage SC, Lodge CJ, Lowe AJ, Allen KJ.

Antibiotics and risk of asthma: a debate that is set to continue. *Clin Exp Allergy.* 2015;45(1):6-8. doi:10.1111/cea.12424  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/cea.12424>

Metsälä J, Lundqvist A, Virta LJ, Kaila M, Gissler M, Virtanen SM.

Prenatal and post-natal exposure to antibiotics and risk of asthma in childhood. *Clin Exp Allergy.* 2015;45(1):137-145. doi:10.1111/cea.12356  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24943808/>

Pang P, Yu B, Shi Y, et al.

Alteration of Intestinal Flora Stimulates Pulmonary microRNAs to Interfere with Host Antiviral Immunity in Influenza. *Molecules.* 2018;23(12):3151. Published 2018 Nov 30. doi:10.3390/molecules23123151  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6321108/>

<sup>285</sup> Zhang Q, Hu J, Feng JW, et al.

Influenza infection elicits an expansion of gut population of endogenous Bifidobacterium animalis which protects mice against infection. *Genome Biol.* 2020;21(1):99. Published 2020 Apr 28. doi:10.1186/s13059-020-02007-1  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7187530/>

<sup>286</sup> Bradley CP, Teng F, Felix KM, et al.

Segmented Filamentous Bacteria Provoke Lung Autoimmunity by Inducing Gut-Lung Axis Th17 Cells Expressing Dual TCRs. *Cell Host Microbe.* 2017;22(5):697-704.e4. doi:10.1016/j.chom.2017.10.007  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5749641/>

<sup>287</sup> LeBlanc JG, Chain F, Martín R, Bermúdez-Humarán LG, Courau S, Langella P.

Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. *Microb Cell Fact.* 2017;16(1):79. Published 2017 May 8. doi:10.1186/s12934-017-0691-z  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5423028/>

Sittipo P, Shim JW, Lee YK.

Microbial Metabolites Determine Host Health and the Status of Some Diseases. *Int J Mol Sci.* 2019;20(21):5296. Published 2019 Oct 24. doi:10.3390/ijms20215296  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6862038/>

Visconti A, Le Roy CI, Rosa F, et al.

Interplay between the human gut microbiome and host metabolism. *Nat Commun.* 2019;10(1):4505. Published 2019 Oct 3. doi:10.1038/s41467-019-12476-z  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6776654/>

La barriera immunitaria della mucosa fornisce protezione contro migliaia di microorganismi e antigeni ambientali ed è strettamente correlata alla funzione immunitaria sistemica e polmonare dell'ospite.<sup>288</sup>

Se la barriera immunitaria della mucosa intestinale viene alterata o distrutta, gli organismi invasori sono in grado di penetrare nel sangue o nei polmoni e ciò può provocare setticemia e sindrome da distress respiratorio acuto.<sup>289</sup>

È interessante notare che i cambiamenti nel microambiente polmonare (ad esempio, da virus influenzale o infezione da SARS-CoV-2) possono alterare anche la struttura e la funzione del microbiota intestinale.<sup>290</sup>

Come accennato in precedenza, è stato riportato che molti pazienti COVID-19 presentavano un'evidente disbiosi microbica e le alterazioni della flora intestinale sono state associate alla suscettibilità e alla gravità del COVID-19.<sup>291</sup>

<sup>288</sup> Abt MC, Osborne LC, Monticelli LA, et al.

Commensal bacteria calibrate the activation threshold of innate antiviral immunity. *Immunity*. 2012;37(1):158-170. doi:10.1016/j.immuni.2012.04.011  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3679670/>

Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, Björkstén B, Engstrand L, Jenmalm MC. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clin Exp Allergy*. 2014;44(6):842-850. doi:10.1111/cea.12253  
<http://liu.diva-portal.org/smash/get/diva2:737516/FULLTEXT01.pdf>

Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Microbiol*. 2016;14(1):20-32. doi:10.1038/nrmicro3552  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4837114/>

<sup>289</sup> Dickson RP, Singer BH, Newstead MW, et al. Enrichment of the lung microbiome with gut bacteria in sepsis and the acute respiratory distress syndrome. *Nat Microbiol*. 2016;1(10):16113. Published 2016 Jul 18. doi:10.1038/nmicrobiol.2016.113  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5076472/>

<sup>290</sup> Dang AT, Marsland BJ. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis. *Mucosal Immunol*. 2019;12(4):843-850. doi:10.1038/s41385-019-0160-6  
<https://www.nature.com/articles/s41385-019-0160-6>

Budden KF, Gellatly SL, Wood DL, et al. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis. *Nat Rev Microbiol*. 2017;15(1):55-63. doi:10.1038/nrmicro.2016.142  
<https://www.nature.com/articles/nrmicro.2016.142>

<sup>291</sup> Zuo T, Zhang F, Lui GCY, et al. Alterations in Gut Microbiota of Patients With COVID-19 During Time of Hospitalization [published online ahead of print, 2020 May 20]. *Gastroenterology*. 2020;S0016-5085(20)34701-6. doi:10.1053/j.gastro.2020.05.048  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7237927/>

Xu, K., Cai, H., Shen, Y., Ni, Q., Chen, Y., Hu, S., et al [Management of corona virus disease-19 (COVID-19): the Zhejiang experience]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* (2020) 49, 147–157.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32096367/>

The active lung microbiota landscape of COVID-19 patients  
 Yang Han, Zhilong Jia, Jinlong Shi, Weidong Wang, Kunlun He  
 medRxiv 2020.08.20.20144014; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.08.20.20144014>  
<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.08.20.20144014v1.full.pdf>

Bao L, Zhang C, Dong J, Zhao L, Li Y, Sun J. Oral Microbiome and SARS-CoV-2: Beware of Lung Co-infection. *Front Microbiol*. 2020;11:1840. Published 2020 Jul 31. doi:10.3389/fmicb.2020.01840  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7411080/>

Sulla base delle attuali conoscenze relative all' "asse intestino-polmone", si può suggerire che il SARS-CoV-2 non solo invada direttamente le cellule epiteliali intestinali umane, ma influisca anche indirettamente sull'intestino e sul microbiota intestinale lungo l'asse intestino-polmone e che le lesioni polmonari causate da SARS-CoV-2 potrebbero potenzialmente essere prevenute e trattate agendo sulla flora intestinale.<sup>292</sup>

Tra i molti metaboliti microbici, gli SCFA, tra cui acido butirrico, acido acetico e acido propionico, sono i metaboliti più critici del microbiota intestinale e sono estremamente importanti nella regolazione delle risposte immunitarie e infiammatorie sistemiche e polmonari<sup>293</sup>.

La funzione più diretta degli SCFA è quella di ridurre il pH intestinale e aumentare la produzione di mucina, la quale riduce la crescita e l'adesione dei microrganismi patogeni e migliora l'integrità epiteliale, potenziando ulteriormente l'immunità sistemica dell'ospite.<sup>294</sup>

Gli SCFA esercitano i propri effetti biologici principalmente inibendo l'istone deacetilasi (HDAC) e attivando i recettori accoppiati alla proteina G (GPCR).<sup>295</sup>

<sup>292</sup> He LH, Ren LF, Li JF, Wu YN, Li X, Zhang L.

Intestinal Flora as a Potential Strategy to Fight SARS-CoV-2 Infection. *Front Microbiol.* 2020;11:1388. Published 2020 Jun 9. doi:10.3389/fmicb.2020.01388 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7295895/>

<sup>293</sup> Budden KF, Gellatly SL, Wood DL, et al.

Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis. *Nat Rev Microbiol.* 2017;15(1):55-63. doi:10.1038/nrmicro.2016.142 <https://www.nature.com/articles/nrmicro.2016.142>

Gonçalves P, Araújo JR, Di Santo JP.

A Cross-Talk Between Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids and the Host Mucosal Immune System Regulates Intestinal Homeostasis and Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2018;24(3):558-572. doi:10.1093/ibd/izx029 <https://hal.archives-ouvertes.fr/pasteur-02122775>

<sup>294</sup> Fukuda S, Toh H, Hase K, et al.

Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature.* 2011;469(7331):543-547. doi:10.1038/nature09646 <https://www.nature.com/articles/nature09646>

Jung TH, Park JH, Jeon WM, Han KS.

Butyrate modulates bacterial adherence on LS174T human colorectal cells by stimulating mucin secretion and MAPK signaling pathway. *Nutr Res Pract.* 2015;9(4):343-349. doi:10.4162/nrp.2015.9.4.343 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4523476/>

<sup>295</sup> Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L.

The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol.* 2014;121:91-119. doi:10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24388214/>

Husted AS, Trauelsen M, Rudenko O, Hjorth SA, Schwartz TW.

GPCR-Mediated Signaling of Metabolites. *Cell Metab.* 2017;25(4):777-796. doi:10.1016/j.cmet.2017.03.008 [https://www.cell.com/cell-metabolism/fulltext/S1550-4131\(17\)30160-2?\\_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1550413117301602%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell-metabolism/fulltext/S1550-4131(17)30160-2?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1550413117301602%3Fshowall%3Dtrue)

Li M, van Esch BCAM, Wagenaar GTM, Garssen J, Folkerts G, Henricks PAJ.

Pro- and anti-inflammatory effects of short chain fatty acids on immune and endothelial cells. *Eur J Pharmacol.* 2018;831:52-59. doi:10.1016/j.ejphar.2018.05.003 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299918302607?via%3Dihub>

Più specificamente, gli SCFA possono aumentare il numero e la funzione delle cellule T regolatorie (Treg), delle cellule Th1 e delle cellule effettrici Th17 attraverso l'inibizione dell'HDAC, attenuando così un'eccessiva infiammazione e risposta immunitaria nelle malattie delle vie aeree lungo l'asse intestino-polmone.<sup>296</sup>

Studi recenti hanno dimostrato che gli SCFA si distribuiscono tra midollo osseo, intestino e vie respiratorie.<sup>297</sup> Queste molecole sono state rilevate in quantità molto ridotte nei polmoni, indicando che il microbioma polmonare non le produce in grandi quantità e che gli SCFA circolanti non si accumulano nel tessuto polmonare. Pertanto, gli SCFA sembrano avere un ruolo trascurabile nel tratto respiratorio.

Tuttavia, gli SCFA intestinali metabolizzati possono entrare nella circolazione sanguigna periferica e nel midollo osseo e influenzare lo sviluppo delle cellule immunitarie che potrebbero poi essere reclutate nei polmoni per promuovere l'omeostasi e l'immunità polmonare.<sup>298</sup>

Gli SCFA possono inoltre promuovere la generazione di progenitori dei macrofagi e delle cellule dendritiche (DC) nel midollo osseo; le DC fagocitiche compongono la maggior parte delle cellule che entrano nei polmoni e potenziano così la funzione delle cellule T specifiche presenti, attivando un meccanismo protettivo contro l'infiammazione allergica delle vie aeree e le infezioni del tratto respiratorio<sup>299</sup>

### Sistema immunitario mucosale comune

Il sistema immunitario della mucosa comune (MIS) è una parte importante dell'immunità sistemica e costituisce la prima linea di difesa contro le infezioni.

<sup>296</sup> Meijer K, de Vos P, Priebe MG.

Butyrate and other short-chain fatty acids as modulators of immunity: what relevance for health? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2010;13(6):715-721. doi:10.1097/MCO.0b013e32833eebe5 [https://journals.lww.com/co-clinicalnutrition/Abstract/2010/11000/Butyrate\\_and\\_other\\_short\\_chain\\_fatty\\_acids\\_as.19.aspx](https://journals.lww.com/co-clinicalnutrition/Abstract/2010/11000/Butyrate_and_other_short_chain_fatty_acids_as.19.aspx)

Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, et al.

Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells [published correction appears in *Nature*. 2014 Feb 13;506(7487):254]. *Nature.* 2013;504(7480):446-450. doi:10.1038/nature12721 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24226770/>

Hull EE, Montgomery MR, Leyva KJ.

HDAC Inhibitors as Epigenetic Regulators of the Immune System: Impacts on Cancer Therapy and Inflammatory Diseases. *Biomed Res Int.* 2016;2016:8797206. doi:10.1155/2016/8797206 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4983322/>

<sup>297</sup> Dang AT, Marsland BJ.

Microbes, metabolites, and the gut-lung axis. *Mucosal Immunol.* 2019;12(4):843-850. doi:10.1038/s41385-019-0160-6 <https://www.nature.com/articles/s41385-019-0160-6>

<sup>298</sup> Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, et al.

Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med.* 2014;20(2):159-166. doi:10.1038/nm.3444 <https://www.nature.com/articles/nm.3444>

Kopf M, Schneider C, Nobs SP.

The development and function of lung-resident macrophages and dendritic cells. *Nat Immunol.* 2015;16(1):36-44. doi:10.1038/ni.3052 <https://www.nature.com/articles/ni.3052>

<sup>299</sup> Liu K, Victora GD, Schwickert TA, et al.

In vivo analysis of dendritic cell development and homeostasis. *Science.* 2009;324(5925):392-397. doi:10.1126/science.1170540 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2803315/>

Kopf M, Schneider C, Nobs SP.

The development and function of lung-resident macrophages and dendritic cells. *Nat Immunol.* 2015;16(1):36-44. doi:10.1038/ni.3052 <https://www.nature.com/articles/ni.3052>

Comprende principalmente il tessuto linfoide associato alla mucosa, come i tessuti linfoide associati all'intestino (GALT) e il tessuto linfoide associato ai bronchi.<sup>300</sup>

Il GALT è costituito dalle placche di Peyer (PP), i linfonodi mesenterici (MLN) e numerosi linfociti sparsi nella lamina propria (LP) e nell'epitelio intestinale.

L'epitelio intestinale ha anche cellule di microfold (M) ampiamente distribuite<sup>301</sup>. Le cellule M assorbono gli antigeni dalla mucosa intestinale e li presentano alle cellule T attraverso le DC, determinando la proliferazione e l'attivazione di cellule T specifiche.<sup>302</sup> Il GALT inoltre è ricco di IgA di superficie (sIgA).<sup>303</sup>

Quando i batteri patogeni vengono a contatto con le sIgA, vengono eliminati, mentre i batteri non patogeni e benefici non vengono disturbati e rimangono sulla superficie della mucosa.<sup>304</sup>

È interessante notare che queste cellule immunitarie e i loro fattori immunitari possono essere trasferiti dal GALT al tessuto linfoide associato ai bronchi attraverso vasi sanguigni e linfatici,<sup>305</sup> potenziando la resistenza alle infezioni respiratorie.

Migliorare la microecologia intestinale (ad es. assumendo probiotici e metaboliti benefici) può mantenere un sistema immunitario ottimale necessario per prevenire una serie di reazioni infiammatorie eccessive e infezioni batteriche secondarie<sup>306</sup>

<sup>300</sup> McGhee JR, Fujihashi K.

Inside the mucosal immune system.

PLoS Biol. 2012;10(9):e1001397. doi:10.1371/journal.pbio.1001397

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3457930/>

<sup>301</sup> Bekiaris V, Persson EK, Agace WW.

Intestinal dendritic cells in the regulation of mucosal immunity.

Immunol Rev. 2014;260(1):86-101. doi:10.1111/imr.12194

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/imr.12194>

Brugman S, Perdijk O, van Neerven RJ, Savelkoul HF.

Mucosal Immune Development in Early Life: Setting the Stage.

Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2015;63(4):251-268. doi:10.1007/s00005-015-0329-y

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4499104/>

<sup>302</sup> Cesta MF.

Normal structure, function, and histology of mucosa-associated lymphoid tissue.

Oxifol Pathol. 2006;34(5):599-608. doi:10.1080/01926230600865531

[https://journals.sagepub.com/doi/10.1080/01926230600865531?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://journals.sagepub.com/doi/10.1080/01926230600865531?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed)

Qi H, Egen JG, Huang AY, Germain RN.

Extrafollicular activation of lymph node B cells by antigen-bearing dendritic cells.

Science. 2006;312(5780):1672-1676. doi:10.1126/science.1125703

<https://science.sciencemag.org/content/312/5780/1672.long>

<sup>303</sup> McGhee JR, Fujihashi K.

Inside the mucosal immune system.

PLoS Biol. 2012;10(9):e1001397. doi:10.1371/journal.pbio.1001397

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3457930/>

<sup>304</sup> Bunker JJ, Erickson SA, Flynn TM, et al.

Natural polyreactive IgA antibodies coat the intestinal microbiota.

Science. 2017;358(6361):eaan6619. doi:10.1126/science.aan6619

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5790183/>

Bunker JJ, Bendelac A.

IgA Responses to Microbiota.

Immunity. 2018;49(2):211-224. doi:10.1016/j.immuni.2018.08.011

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6107312/>

<sup>305</sup> Samuelson DR, Welsh DA, Shellito JE.

Regulation of lung immunity and host defense by the intestinal microbiota.

Front Microbiol. 2015;6:1085. Published 2015 Oct 7. doi:10.3389/fmicb.2015.01085

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4595839/>

<sup>306</sup> Shinde T, Hansbro PM, Sohal SS, Dingle P, Eri R, Stanley R.

Species or products	Major physiological effect
<b>Microbial metabolites</b>	
SCFAs	Maintenance of mucosal barrier Enhanced antiviral immune reaction Anti-inflammatory effect
Retinoic acid	Increased IgA level Treg cell development
Niacin	Anti-inflammatory effect Increased activity of macrophages and DCs Development of Treg cells and IL-10-producing T cells
DAT	Increased IFN-1
<b>Probiotics</b>	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Enhanced inflammatory signals Enhanced antiviral immune reaction
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Enhanced antiviral immune reaction Enhanced vaccine immune efficacy
<i>Lactobacillus casei</i>	Enhanced phagocytic and killing activity of alveolar macrophages Increased levels of IgA, IFN- $\gamma$ , and TNF- $\alpha$
<i>Bifidobacterium</i>	Enhanced vaccine immune efficacy
<b>Others</b>	
Vitamins A and D	Enhanced intestinal barrier function and mucosal immune response Maintenance of the normal function of ILC3s and T cells
High-fiber diet	Increased level of SCFAs

*SCFAs, short-chain fatty acids; Treg cells, T regulatory cells; ILC3s, group 3 innate lymphoid cells; DCs, dendritic cells.*

Microbiota Modulating Nutritional Approaches to Countering the Effects of Viral Respiratory Infections Including SARS-CoV-2 through Promoting Metabolic and Immune Fitness with Probiotics and Plant Bioactives. *Microorganisms*. 2020;8(6):921. Published 2020 Jun 18. doi:10.3390/microorganisms8060921 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7355654/>

Dhar D, Mohanty A. Gut microbiota and Covid-19- possible link and implications. *Virus Res*. 2020;285:198018. doi:10.1016/j.virusres.2020.198018 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7217790/>

Aktas B, Aslim B. Gut-lung axis and dysbiosis in COVID-19. *Turk J Biol*. 2020;44(3):265-272. Published 2020 Jun 21. doi:10.3906/biy-2005-102 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7314510/>

Conte L, Toraldo DM. Targeting the gut-lung microbiota axis by means of a high-fibre diet and probiotics may have anti-inflammatory effects in COVID-19 infection. *Ther Adv Respir Dis*. 2020;14:1753466620937170. doi:10.1177/1753466620937170 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7328354/>

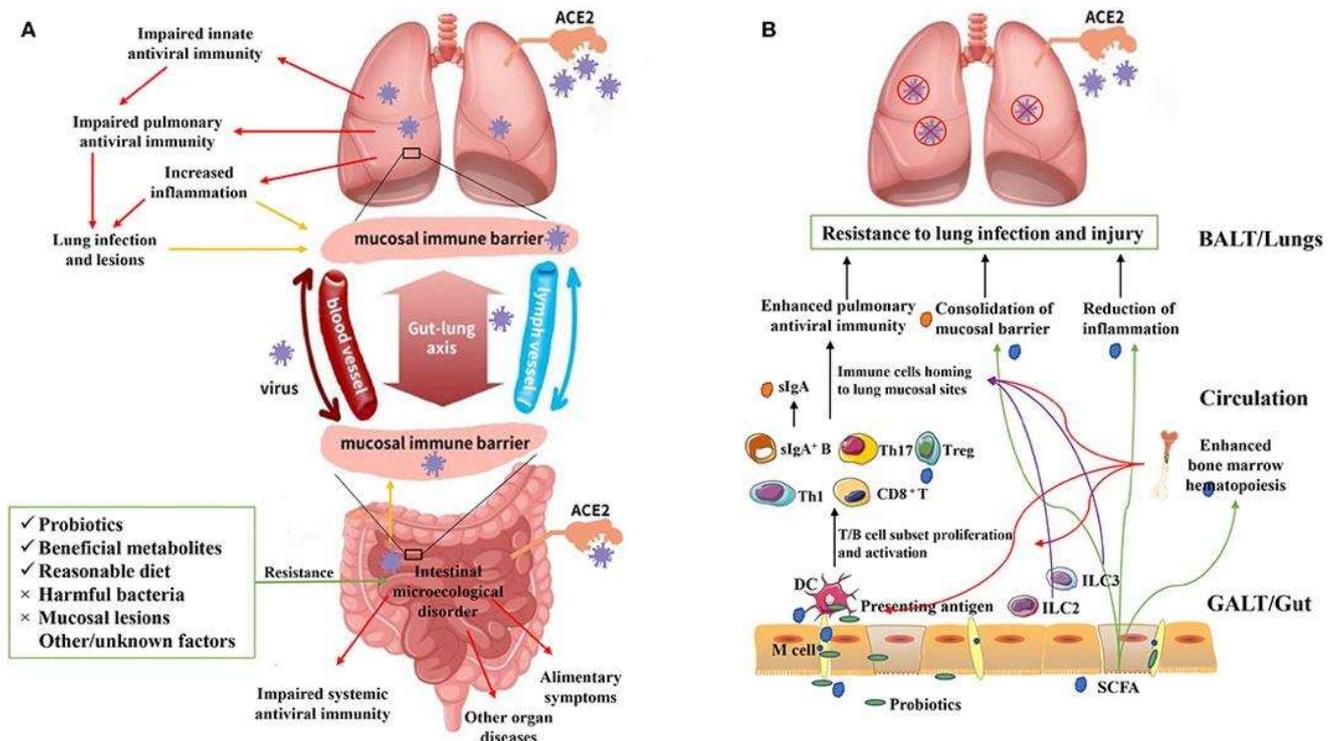
He Y, Wang J, Li F, Shi Y. Main Clinical Features of COVID-19 and Potential Prognostic and Therapeutic Value of the Microbiota in SARS-CoV-2 Infections. *Front Microbiol*. 2020;11:1302. Published 2020 Jun 5. doi:10.3389/fmicb.2020.01302 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7291771/>

Antunes AEC, Vinderola G, Xavier-Santos D, Sivieri K. Potential contribution of beneficial microbes to face the COVID-19 pandemic. *Food Res Int*. 2020;136:109577. doi:10.1016/j.foodres.2020.109577 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7378002/>

Ahlawat S, Asha, Sharma KK. Immunological co-ordination between gut and lungs in SARS-CoV-2 infection. *Virus Res*. 2020;286:198103. doi:10.1016/j.virusres.2020.198103 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32717345/>

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.01388/full>

Cambiamenti nella risposta immunitaria e infiammatoria in seguito alla somministrazione di diversi probiotici e prodotti per il trattamento delle malattie infettive polmonari.



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.01388/full>

**A) Effetti avversi del SARS-CoV-2 sui polmoni e sull'intestino umani.** Il SARS-CoV-2 può essere trasmesso attraverso il tratto respiratorio o digerente, infettando direttamente l'ospite legandosi al recettore ACE2 delle cellule epiteliali polmonari o intestinali. Ciò porta a danni ai tessuti polmonari e/o intestinali e ad una risposta immunitaria sistemica. Tuttavia, dopo aver inizialmente infettato i polmoni, SARS-CoV-2 può sfondare la barriera immunitaria della mucosa e colpire indirettamente l'intestino lungo l'"asse intestino-polmone" e viceversa. Il danno al tessuto intestinale, una risposta infiammatoria eccessiva e una risposta immunitaria disfunzionale possono portare a disturbi microecologici intestinali. Tuttavia, alcuni interventi (ad es. probiotici, metaboliti benefici ed eliminazione di batteri nocivi) possono fornire resistenza a questi effetti avversi. L'"asse intestino-polmone" si riferisce al dialogo incrociato tra queste due parti della mucosa del corpo umano, che può avvenire attraverso la circolazione sanguigna e linfatica. Le frecce gialle rappresentano "un aumento della disfunzione della barriera". Le frecce rosse rappresentano gli "effetti negativi dell'infezione da SARS-CoV-2".

**(B) Possibile modello per l'utilizzo di probiotici e metaboliti benefici** (ad esempio, acidi grassi a catena corta; SCFA) contro infezioni e lesioni polmonari. Probiotici e metaboliti come gli SCFA possono essere assorbiti dalle cellule M e presentati ai linfociti T come antigeni attraverso le cellule dendritiche, portando alla proliferazione e attivazione delle cellule T/B. Guidate da mediatori immunitari, le cellule immunitarie vengono quindi localizzate nel sito di infezione polmonare, migliorando l'immunità antivirale e fornendo protezione ai polmoni. Le cellule linfoidi innate intestinali (ILC2 e ILC3) possono migrare ai polmoni per migliorare l'immunità antivirale attraverso la circolazione linfatica e sanguigna (freccie viola). Le IgA di superficie possono essere prodotte e trasportate dai tessuti linfoidi associati all'intestino alla superficie della mucosa polmonare, che può impedire l'adesione del virus e consolidare la barriera mucosa. Gli SCFA prodotti dalla flora intestinale possono essere trasportati ai polmoni attraverso il sangue, dove possono svolgere un ruolo antinfiammatorio e consolidare la barriera della mucosa polmonare (freccie verdi). Gli SCFA possono anche essere trasportati al midollo osseo e migliorare la sua funzione ematopoietica, promuovendo ulteriormente la proliferazione e l'attivazione delle cellule dendritiche e di altre cellule immunitarie. Nel complesso, questi fenomeni possono aumentare l'immunità antivirale dell'ospite (freccie rosse).

## Il microbioma polmonare

Nel tratto respiratorio, virus e batteri possono interagire su più livelli.

È noto che i virus respiratori, in particolare i virus influenzali, aumentano la suscettibilità alle infezioni batteriche secondarie.

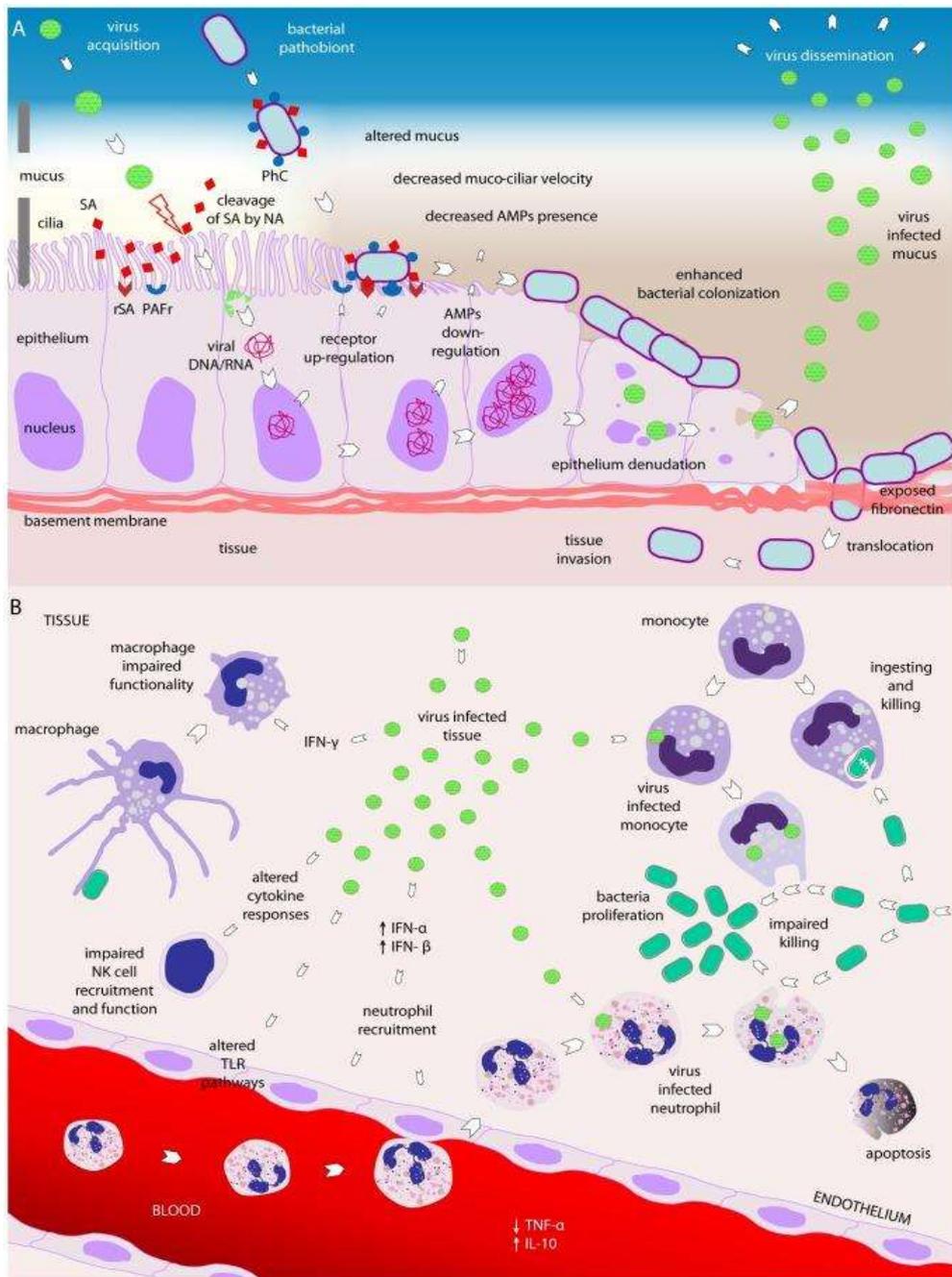
Numerosi meccanismi, comprese barriere fisiche e immunologiche compromesse, e cambiamenti nel microambiente hanno dimostrato di contribuire allo sviluppo di coinfezioni batteriche.

In particolare, la co-patogenesi delle infezioni batteriche croniche e virali acute potrebbe essere spiegata da

- un **fattore sottostante comune** che rende i pazienti più suscettibili a entrambi i tipi di patogeni, ad es. funzioni immunitarie compromesse o maggiore esposizione,

- un **aumento del rischio di contrarre un'infezione virale**, ad es. a causa della sovraregolazione dei recettori di ingresso virale,
- una **risposta alterata ai virus** in pazienti con esposizione cronica a batteri patogeni, ad es. da effetti sinergici su infiammazioni o danni ai tessuti.<sup>307</sup>

Tuttavia, la questione di come la colonizzazione batterica o l'infezione batterica cronica dei polmoni influenzi la suscettibilità (e l'esito delle) infezioni virali successive è stata raramente affrontata.



<sup>307</sup> Bellinghausen C, Rohde GGU, Savelkoul PHM, Wouters EFM, Stassen FRM. Viral-bacterial interactions in the respiratory tract. *J Gen Virol.* 2016;97(12):3089-3102. doi:10.1099/jgv.0.000627 <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/jgv.0.000627>

Bosch AA, Biesbroek G, Trzcinski K, Sanders EA, Bogaert D. Viral and bacterial interactions in the upper respiratory tract. *PLoS Pathog.* 2013;9(1):e1003057. doi:10.1371/journal.ppat.1003057 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3542149/>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3542149/>

#### Interazioni virus-batteri.

**(A) Interazione virale-batterica sulla superficie epiteliale respiratoria.** Si ritiene che la presenza virale predisponga la nicchia respiratoria alla colonizzazione batterica mediante diversi meccanismi. In primo luogo, i virus possono rendere l'epitelio più suscettibile alla colonizzazione batterica alterando le superfici mucose. Le ciglia possono essere danneggiate, con conseguente diminuzione della funzione mucociliare dell'epitelio respiratorio. Inoltre, a causa del danno indotto dal virus e della perdita di integrità dello strato epiteliale, la colonizzazione batterica e la traslocazione può essere aumentata. Le cellule infettate da virus possono diminuire l'espressione dei peptidi antimicrobici, come mostrato per le  $\beta$ -defensine, influenzando così la difesa naturale dell'epitelio ospite. L'attività della neuraminidasi virale (NA) è in grado di scindere i residui di acidi sialici, dando così accesso ai recettori batterici che erano coperti da questi residui. Infine, i virus possono indurre la colonizzazione batterica e la replicazione sia direttamente che indirettamente, quest'ultima inducendo la sovraregolazione di vari recettori necessari per l'aderenza batterica, inclusi PAFr, CAECAM-1, P5F, ICAM-1 e G-protein. PAFr, recettore del fattore di attivazione delle piastrine; ICAM-1, molecola di adesione intracellulare 1; Fimbrie P5, proteina della membrana esterna Fimbrie omologhe P5; CAECAM-1, molecola di adesione carcinoembrionale-1; PhC, fosforilcolina; SA, acidi sialici; rSA, recettore per gli acidi sialici; NA, neuraminidasi; mRNA, RNA messaggero, AMP, peptidi antimicrobici. **(B) Interazione virale-batterica in relazione al sistema immunitario dell'ospite.** I virus possono anche indurre cambiamenti nella funzione immunitaria favorevoli all'invasione batterica: un minor numero di cellule NK possono essere reclutate nel tessuto e la loro funzionalità può essere subottimale a causa dell'infezione virale. L'IFN- $\alpha$  e l'IFN- $\beta$  indotti da virus possono compromettere il reclutamento e la funzionalità dei neutrofili e successivamente indurre l'apoptosi dei neutrofili reclutati per combattere l'invasore virale. Inoltre, IFN- $\gamma$  sembra influenzare negativamente l'attività dei macrofagi. I monociti infettati da virus sembrano meno efficaci nell'ingestione e nell'uccisione dei batteri, predisponendoli alla proliferazione batterica e all'invasione. L'infezione virale sembra compromettere le vie TLR, indurre la produzione della citochina antinfiammatoria IL-10 e diminuire la concentrazione della citochina proinfiammatoria TNF- $\alpha$ , influenzando generalmente le risposte immunitarie adeguate alle infezioni batteriche. Le frecce nere indicano un'attività o funzionalità aumentata ( $\uparrow$ ) o ridotta ( $\downarrow$ ) di una citochina. IFN, interferone; TNF, fattore di necrosi tumorale; TLR, pedaggio come recettore; IL, interleuchina; Cellula NK, cellula natural killer.

Ci sono nuove prove che l'infezione persistente (o colonizzazione) del tratto respiratorio inferiore (LRT) con potenziali batteri patogeni, come osservato in malattie come la broncopneumopatia cronica ostruttiva o la fibrosi cistica, modula le successive infezioni virali aumentando i recettori di ingresso virale e orientando la risposta all'infiammazione.

Inoltre, studi recenti suggeriscono che la composizione del microbioma polmonare può modulare le risposte alle infezioni virali.<sup>308</sup>

Un'infiammazione eccessiva a seguito di un'infezione virale contribuisce in modo significativo alla patologia delle vie aeree, quindi un microbioma che induce la tolleranza potrebbe aiutare a limitare il danno ai tessuti.

La colonizzazione del tratto respiratorio superiore con batteri commensali ha dimostrato di ridurre drasticamente il danno polmonare acuto indotto dall'influenza e la mortalità nei topi reclutando un sottogruppo di monociti CCR2<sup>+</sup> CD11b<sup>+</sup> nei polmoni e inducendo il fenotipo dei macrofagi M2.<sup>309</sup>

<sup>308</sup> Khatiwada S, Subedi A.

Lung microbiome and coronavirus disease 2019 (COVID-19): Possible link and implications.

Hum Microb J. 2020;17:100073. doi:10.1016/j.humic.2020.100073

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7405772/>

Zhang H, Ai JW, Yang W, et al.

Metatranscriptomic Characterization of COVID-19 Identified A Host Transcriptional Classifier Associated With Immune Signaling

[published online ahead of print, 2020 May 28]. Clin Infect Dis. 2020;ciaa663. doi:10.1093/cid/ciaa663

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7314197/>

Neu U, Mainou BA.

Virus interactions with bacteria: Partners in the infectious dance.

PLoS Pathog. 2020;16(2):e1008234. Published 2020 Feb 11. doi:10.1371/journal.ppat.1008234

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7012391/>

de Steenhuijsen Piters WA, Sanders EA, Bogaert D.

The role of the local microbial ecosystem in respiratory health and disease.

Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2015;370(1675):20140294. doi:10.1098/rstb.2014.0294

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4528492/>

Belojevic G, Prasher D.

Music of microbiota against SARS CoV-2.

Noise Health. 2019;21(100):97. doi:10.4103/nah.NAH\_45\_20

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32655062/>

Durmuş Tekir S, Cakir T, Ulgen KÖ.

Infection Strategies of Bacterial and Viral Pathogens through Pathogen-Human Protein-Protein Interactions.

Front Microbiol. 2012;3:46. Published 2012 Feb 14. doi:10.3389/fmicb.2012.00046

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3278985/>

<sup>309</sup> Wang J, Li F, Sun R, et al.

Inoltre, è stato dimostrato che è necessario anche un microbioma intestinale integro per l'induzione di una risposta adattativa contro il virus dell'influenza nei topi <sup>310</sup>.

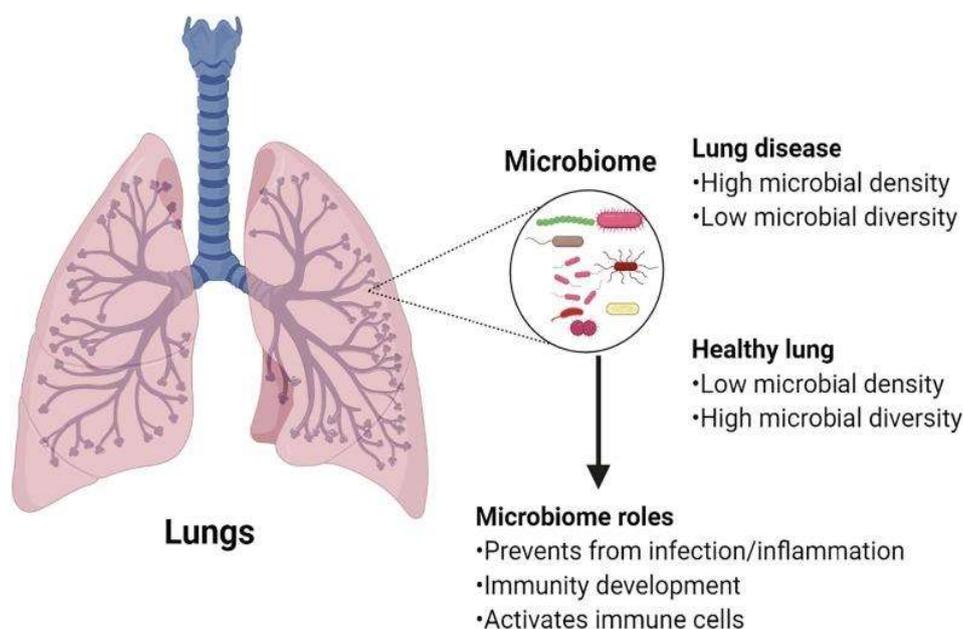
A conferma di questo, si è visto che i topi trattati con antibiotici prima dell'infezione da virus influenzale svilupparono una risposta anticorpale e dei linfociti T inferiore, compromettendo così l'eliminazione del virus.

Ad oggi, solo due studi hanno analizzato il microbioma polmonare di pazienti COVID-19 <sup>311</sup>.

In uno degli studi, è stato studiato il fluido di lavaggio broncoalveolare da pazienti COVID-19 (n = 8), pazienti con polmonite acquisita in comunità (n = 25) e controlli sani (n = 20) ed è stata osservata una differenza significativa nella composizione del microbiota.

Sia i pazienti COVID-19 che quelli con polmonite acquisita in comunità presentavano un arricchimento di batteri patogeni e commensali, indicando un grado di disbiosi microbica in entrambi gli stati di malattia.

Nell'altro studio, le biopsie polmonari post-mortem di 20 pazienti COVID-19 deceduti sono state utilizzate per studiare il microbioma polmonare. I generi batterici più comuni erano Acinetobacter, Chryseobacterium, Burkholderia, Brevundimonas, Sphingobium e Enterobacteriaceae. I generi fungini più comuni erano Cutaneotrichosporon, seguito da Issatchenkia, Wallemia, Cladosporium, Alternaria, Dipodascus, Mortierella, Aspergillus, Naganishia, Diutina e Candida. Pertanto, nei pazienti COVID-19 di questo studio è stata osservata una combinazione di infezioni batteriche e fungine.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7405772/>  
Microbioma polmonare in polmoni sani e malati e suo ruolo.

Bacterial colonization dampens influenza-mediated acute lung injury via induction of M2 alveolar macrophages.  
Nat Commun. 2013;4:2106. doi:10.1038/ncomms3106  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3715851/>

<sup>310</sup> Ichinohe T, Pang IK, Kumamoto Y, et al.  
Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108(13):5354-5359. doi:10.1073/pnas.1019378108  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3069176/>

<sup>311</sup> Fan J, Li X, Gao Y, et al.  
The lung tissue microbiota features of 20 deceased patients with COVID-19.  
J Infect. 2020;81(3):e64-e67. doi:10.1016/j.jinf.2020.06.047  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7306202/>

Shen Z, Xiao Y, Kang L, et al.  
Genomic Diversity of Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2 in Patients With Coronavirus Disease 2019.  
Clin Infect Dis. 2020;71(15):713-720. doi:10.1093/cid/ciaa203  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7108196/>

**DR.SSA LORETTA BOLGAN**

*Dottore in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche  
Dottorato in Scienze Farmaceutiche  
Consulente scientifico  
loretta.bolgan@gmail.com  
Dolo (VE)*

*Loretta Bolgan*