LILT
LEGA ITALIANA PER LA LOTTA CONTRO I TUMORI
prevenire è vivere
SEZIONE DI PRATO
Via Giuseppe Catani, 26/3
Tel. 0574-572798

"GLI INFLAMMASOMI"

Roberto Benelli

Estratto da:
Stili di vita, Infiammazione cronica
e Patologie correlate

Ed. 2019

GLI INFLAMMASOMI

La ***reazione infiammatoria*** si attiva per azione di agenti nocivi di varia natura ed in presenza di dismetabolismi grazie ad una serie di sensori a cui è stato dato il nome complessivo di **inflammasomi**. Essi sono stati scoperti nel 2002 dallo studioso *Jürg Tschopp* e Coll. nel Dipartimento di Biochimica all'Università di Losanna.

Gli inflammasomi sono complessi multiproteici intracellulari che si assemblano in risposta a patterns molecolari associati ad agenti patogeni **denominati PAMPs** (*Pathogen Associated Molecular Patterns*), ***o a un danno cellulare, o tissutale di varia natura*** **denominato DAMPs** (*Danger Associated Molecular Patterns)* ***in grado di indurre la reazione infiammatoria***. I processi attivati dagli inflammasomi hanno grande importanza non solo come risposta antimicrobica, ma anche nel regolare vie metaboliche e reazioni immunitarie.

Gli inflammasomi originano come immuno-risposta a segnali esogeni o endogeni

Inflammasomi si formano nel compartimento citosolico di cellule immunitarie e infiammatorie come immunorisposta a segnali esogeni o endogeni. Tali complessi prendono origine in presenza di una condizione di disordine causato da agenti biologici, fisici, chimici, metabolici (ad esempio: deposizione di cristalli di acido urico nella gotta, di colesterolo nell'arteriosclerosi, di acidi grassi liberi e lipidi nell'obesità, della proteina beta-amiloide nel m. di Alzheimer), di elevati livelli di specie reattive dell'ossigeno (ROS), per riduzione della concentrazione citosolica di ioni potassio ed altri fattori.

Gli inflammasomi attivano la risposta infiammatoria

Gli inflammasomi sono in grado di integrare una moltitudine di segnali e convergerli in risposte pro-infiammatorie. Questi complessi multiproteici inducono l'attivazione della ***caspasi-1 infiammatoria*** che, a sua volta, attiva le citochine ***interleuchina-1 beta*** (*IL-1 beta*) e ***interleuchina-18*** (*IL-18*) che danno luogo ad una risposta infiammatoria sistemica. Inoltre l'attivazione di caspasi-1 è in grado di indurre una forma di morte cellulare infiammatoria denominata ***piroptosi***.

L'inflammasoma NLRP3

Sono stati fino ad oggi identificati numerosi inflammasomi, tuttavia quello attualmente più caratterizzato è l'inflammasoma intracellulare **NLRP3** (*Nod-Like Receptor Protein 3*). Esso è attivato in risposta a numerosi segnali e gioca un ruolo importante in malattie infiammatorie, patologie autoimmuni, affezioni metaboliche (sindrome metabolica, obesità, diabete, gotta), cardiovascolari, malattie neurodegenerative (m. di Parkinson, m. di Alzheimer), nella sclerosi multipla, ma anche in malattie psichiatriche (*Alcocer-Gomez et al. Inflammasomes in clinical practice (...). Ed. Springer, 2018).*

NLRP3 appartiene alla famiglia dei recettori PRRs (*Pattern Recognition Receptors*) dell'immunità innata che sono in grado di rilevare i segnali provenienti da *invaders* intracellulari. PRRs sono espressi in numerose cellule immunitarie (macrofagi tissutali, cellule dendritiche, cellule epiteliali, neutrofili, cellule dell'immunità adattativa). I TLRs (*Toll-like receptors*) fanno parte dei recettori PRRs che sono espressi sulla superficie della membrana cellulare. Questi recettori possono essere attivati da profili molecolari associati a patogeni (PAMPs) e da segnali nocivi, in presenza di malattie infiammatorie non batteriche: in tal caso sono conosciuti come DAMPs. PAMPs e DAMPs possono superare la membrana citoplasmatica e stimolare direttamente i recettori delle cellule del sistema immunitario innato. Tra questi sensori sono inclusi i NLRs (*NOD-like receptors*) che possiedono un dominio PYD (*Pyrin Domain*), un attivatore delle caspasi ed un dominio CARD (*Caspase Activation and Recruitment Domain*).

NLRP3 è dunque un NLR primariamente espresso nel citosol di cellule dell'immunità innata (monociti circolanti, macrofagi tissutali, cellule dendritiche, neutrofili) e di cellule infiammatorie infiammatorie.

Da recenti acquisizioni risulta che la disfunzione dei mitocondri genera ROS (*Reactive Oxygen Species* = radicali liberi dell'ossigeno) che attivano l'inflammasoma NLRP3. Sembra necessario anche un decremento dei livelli di potassio citoplasmatico. NLRP3 attiva la proteasi infiammatoria caspasi-1 e le citochine pro-infiammatorie IL-1beta e IL-18. Secondo recenti studi anche il fattore di trascrizione NF-kB presenta un ruolo regolatorio nell'attivazione dell'inflammasoma e può contribuire all'iniziazione e allo sviluppo di malattie infiammatorie quali l'artrite reumatoide, la IBD (*Inflammatory Bowel Disease)*, la sclerosi multipla, altre (*Liu et al. NF-kB signaling in inflammation. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2017*). È stato osservato che la restrizione calorica e l' esercizio

INFLAMMASOMA

*L'inflammasoma **NLRP3** è un complesso multiproteico composto da un sensore proteico intracellulare **NLR** (Nod-Like Receptor), dal precursore proteico **procaspasi-1** e l'adattatore molecolare **ASC** "Adaptor apoptosis associated Speck-like protein containing a Caspase Recruitment Domain (CARD)".*

NLRP3 regola l'attivazione di caspasi-1 e induce una risposta infiammatoria sistemica mediante le potenti citochine pro-infiammatorie IL-1 beta e IL-18, in risposta a PAMPs e DAMPs. Il processo si realizza per incremento delle ROS da disfunzione dei mitocondri, riduzione delle concentrazioni di potassio (K) intracellulare per efflusso all'esterno della cellula, rilascio a livello citoplasmatico di catepsine lisosomiali (catepsina B) e attivazione del fattore di trascrizione NF-kB. L' attivazione di caspasi-1 è in grado di determinare la morte cellulare infiammatoria, nota come piroptosi. Essa può manifestarsi in presenza di stimoli infiammatori molto forti che determinano la formazione di pori sulla membrana cellulare e la morte cellulare per lisi osmotica come accade nelle infezioni da patogeni intracellulari.

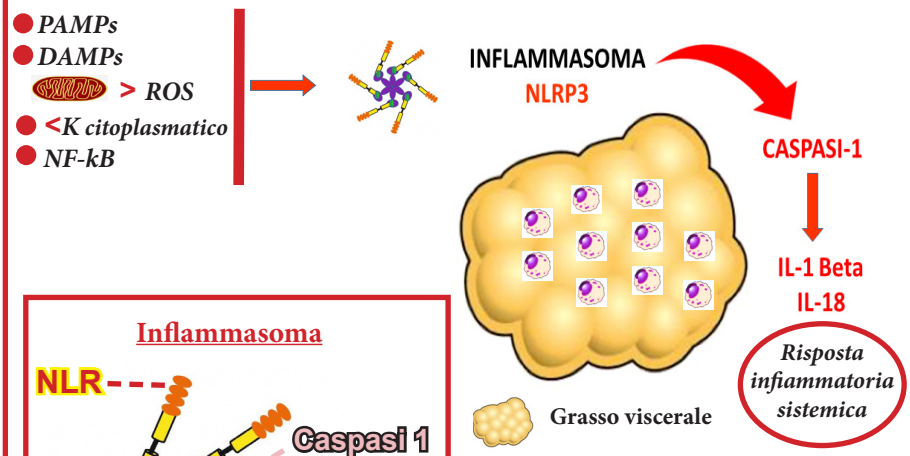
fisico in soggetti obesi diabetici sono in grado di ridurre l' espressione NLRP3 nel tessuto adiposo (*Tschopp J. Mitochondria: Sovereign of inflammation ? Eur J Immunol, 2011*). Da uno studio sperimentale di Lee et al. su topi obesi risulta come la corsa riduca l'attivazione di NLRP3 e favorisca la produzione di NO con risultati favorevoli nelle disfunzioni vascolari (*Lee et al. Physical activity protects NLRP3 inflammasome-associated coronary vascular dysfunction in obese mice. Physiol Reports, 2018*). Anche composti naturali quali il curcumin (Curcuma longa), l'Epigallo-Catechina-Gallato (EGCG del Tè verde), il resveratrolo, il sulforafano (vegetali cruciferi), la quercetina, la mangiferina (Mango), l'oridonina (Rabdosia rubescens) ed altri inibiscono NLRP3 (*Tozser e Benko. Natural compounds as regulators of NLRP3 (...). Hindawi Publishing Corporation - Mediators of inflammation, 2016*). Anche il Coenzima Q10 (CoQ10) ed il beta-idrossibutirrato presentano azione inibitrice. Dagenais et al. (*The inflammasome: in memory of Dr. Jurg Tschopp. Cell Death and Differentiation, 2012*) riportano che il farmaco antidiabetico glibenclamide e probabilmente la metformina inibiscono l'inflammasoma NLRP3.

L'inflammasoma metabolico e nella patologia oncologica

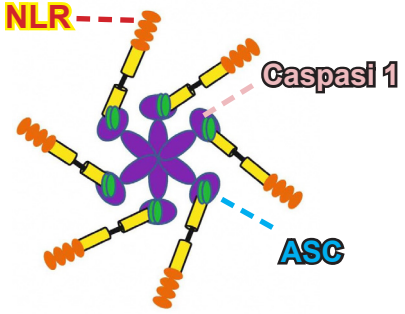
Inflammasomi possono essere attivati da una dieta ricca di acidi grassi saturi e da elevati livelli di glucosio. In presenza di malattie metaboliche l'accumulo di prodotti del metabolismo *(*ad es. acidi grassi liberi e lipidi nell'obesità, cristalli di urati nella gotta, etc.*)* attiva l'inflammasoma NLRP3 nei macrofagi e determina un quadro di **inflammasoma metabolico**. Nell'obesità addominale il tessuto adiposo diviene ipossico soprattutto negli adipociti distanti dalle strutture vascolari. L'infiltrazione del grasso viscerale da parte dei macrofagi porta all'attivazione dell'inflammasoma NLRP3 ed alla produzione di citochine pro-infiammatorie e allo sviluppo di uno stato infiammatorio cronico di basso grado. Esso promuove un microambiente che favorisce l'insulinoresistenza e l'esordio di patologie ad esso correlate incluso il cancro al colon-retto (*Ahechu et al. NLRP3 inflammasome: a possible link between obesity- associated low-grade chronic inflammation and colorectal cancer development. Frontiers in immunology, 2018*). L' obesità è associata anche ad un incremento del rischio di cancro al seno ed alla cattiva prognosi della neoplasia. Kolb et al. hanno rilevato che l'obesità è associata all'attivazione dell'inflammasoma NLRC4 e alla produzione di IL-1beta responsabile della progressione del tumore per l'aumento di espressione di VEGFA (*Vascular Endothelial Growth Factor Adipocyte-mediated*) e dell'angiogenesi (*Kolb et al. Obesity-associated NLRC4 infllammasome activation drives breast cancer progression. Nature Communication, 2016*).

Nei tumori l'inflammasoma ha un comportamento ambivalente: **può contribuire alla patogenesi, allo sviluppo ed alla progressione neoplastica o anche sopprimere la crescita tumorale attraverso il fenomeno della piroptosi e della morte di cellule pre-maligne.** Il diverso comportamento

Attivazione dell'Inflammasoma NLRP3



Inflammasoma



da: **Cordero e Alcocer-Gomez, 2018.**

PAMPs e DAMPs

Patterns molecolari associati a patogeni (PAMPs) o ad un danno cellulare o tissutale (DAMPs).

INFLAMMASOMA METABOLICO

In presenza di malattie metaboliche l'accumulo di prodotti del metabolismo (ad es. acidi grassi liberi e lipidi nell'obesità, cristalli di urati nella gotta, etc.) determina l'attivazione di NLRP3 nei macrofagi. Nell'obesità addominale NLRP3, una volta attivato nelle cellule dell'immunità innata, contribuisce allo sviluppo di uno stato infiammatorio cronico di basso grado che promuove un microambiente favorevole all'insorgenza di patologie ad esso correlate e allo sviluppo tumorale (Cordero e Alcocer-Gómez. Inflammasomes: clinical and therapeutic implications (...). Ed. Springer, 2018).

può in parte essere spiegato con la eterogenicità delle cellule tumorali e con il fatto che differenti inflammasomi hanno ruoli diversi. Ad esempio l'inflammasoma NLRP3 esercita la sua funzione primaria nelle cellule mieloidi mentre NLRC4 nelle cellule epiteliali. Se consideriamo il cancro alla prostata (CaP), lo stress ossidativo, l'attivazione del fattore di trascrizione NF-kB e di altri segnali legati alla infiammazione, contribuiscono all'insorgenza della neoplasia ed all' ormonoindipendenza della stessa. L'ipossia tissutale ha un ruolo nell' attivazione degli inflammasomi NLRP3 e AIM2 che entrano in gioco nello sviluppo del CaP ma anche nella sua progressione e metastatizzazione ad opera dell'IL-1beta (*He et al. The contrasting roles of inflammasomes in cancer. Am J Cancer, 2018*). Quest'ultima risulta elevata in cellule di CaP AR-negative ed è in grado di promuovere l'angiogenesi, l'invasività tumorale e le metastasi

(*Staal e Beyaert. Inflammation and NF-kB signaling in prostate cancer. Cells, 2018*). **L'inflammasoma può contribuire alla formazione e al mantenimento del microambiente tumorale** (nicchia ecologica infiammatoria che circonda le cellule neoplastiche).

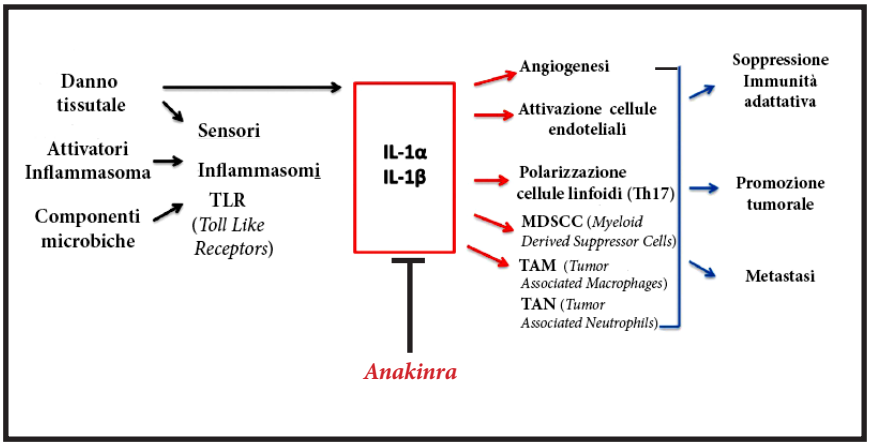
L' aumentata espressione dell'inflammasoma NLRP3 nei macrofagi tumore associati (*TAMs*) del microambiente tumorale si correla con l'aggressività della neoplasia e le metastasi (*Ahechu et al. NLRP3 inflammasome: a possible link between obesity associated low grade chronic inflammation and colorectal cancer development. Frontiers in Immunology, 2018*).

Guo et al. hanno dimostrato che l'attivazione dell'inflammasoma e la produzione di IL-1 beta nei macrofagi tumore associati (TAM) promuovono la progressione tumorale in modelli cellulari animali e umani (*Guo et al. Targeting inflammasome/IL-1 pathways for cancer immunotherapy. Scientific Reports, 2016*). Al contrario il blocco del recettore IL-1R con un composto antagonista inibisce la crescita e le metastasi. Secondo l'Autore il blocco inflammasoma/IL-1 beta nel microambiente tumorale potrebbe rappresentare un approccio innovativo per il trattamento del cancro.

Il composto ***Anakinra***, inibitore di IL-1 beta e IL-1 alfa, approvato nel 2002 per il trattamento dell'artrite reumatoide e di altre malattie infiammatorie, è stato testato in aggiunta alle terapie antitumorali specifiche per ridurre l'infiammazione in tumori maligni metastatici (cancro del colon-retto, cancro della mammella HER2-negativo, carcinoma della prostata, carcinoma del pancreas, altri) ottenendo un miglioramento clinico e, talora, della sopravvivenza dei pazienti trattati (*Dinarello C.A. An interleukin-1*

IL-1 nell'infiammazione correlata al cancro

(Meccanismi con i quali la citochina infiammatoria IL-1 promuove la carcinogenesi, la progressione tumorale e le metastasi)



da: ***Mantovani et al. IL-1 and IL-1 regulatory pathways in cancer progression and therapy. Immunol Rev,, 2018.***

signature in breast cancer treated with IL-1R blockade (...). Cancer Res., 2018; Wu et al. IL-1R antagonist controls transcriptional signature of inflammation in patients with metastatic breast cancer. Cancer Res, 2018). Il blocco del sistema IL-1 ha dimostrato effetti favorevoli in molti trials clinici specialmente quando i nuovi farmaci inibitori di IL-1 vengono aggiunti ad altri chemioterapici. Risultati positivi con antagonisti di IL-1 beta, quali il **Canakinumab**, sono stati dimostrati anche nel trattamento di malattie autoimmuni e autoinfiammatorie (*Litmanovich et al. The role of interleukin-1 in the patgogenesis of cancer (...). Oncol Ther, 2018).*

Le prospettive future

Il peculiare interesse per lo studio degli inflammasomi nella pratica clinica è legato al loro coinvolgimento nella difesa dell'organismo contro agenti patogeni ma anche ad una loro specifica responsabilità in numerosi quadri patologici alla cui base è presente l'infiammazione cronica.

L'inflammasoma NLRP3 è in grado di attivare le citochine pro-infiammatorie IL-1 beta, IL-18 e promuovere effetti metabolici, infiammatori, ematologici, immunitari e tumorali. Sono attualmente allo studio metodiche diagnostiche e trattamenti basati su specifici inibitori di NLRP3 che possono essere utilizzati in differenti condizioni patologiche ed anche nei tumori. Il loro ruolo in questo ambito è tuttavia molto complesso e ancora in via di definizione.

È possibile che un trattamento con agonisti e inibitori di NLRP3 possa rappresentare una valida opzione terapeutica in malattie croniche e autoinfiammatorie ma anche in alcune neoplasie. Solo studi approfonditi potranno dare una risposta definitiva in un prossimo futuro.

Hanno collaborato alla pubblicazione: Elena Cecchi, Costanza Fatighenti e Benedetta Marchesini (LILT Sezione di Prato)

LILT

LEGA ITALIANA PER LA LOTTA CONTRO I TUMORI

prevenire è vivere

SEZIONE DI PRATO

Via Giuseppe Catani, 26/3
Tel. 0574-572798