

5. Maggio

## Dal genoma di Gabriela preziose informazioni per il lupus e per COVID-19

*Tutto ciò che l'esperienza si degna di insegnarci,  
ce lo insegna attraverso la sorpresa.*  
Charles Sanders Peirce

I **recettori toll-like (TLR)** svolgono un ruolo importante nel riconoscimento di particelle virali e nell'attivazione del sistema immunitario innato. La loro attivazione porta alla secrezione di **citochine pro-infiammatorie**, come **l'interleuchina-1 (IL-1), IL-6** e il **fattore di necrosi tumorale- $\alpha$** , **l'interferone di tipo 1**.

Sono considerati i "regolatori chiave" del *sistema immunitario innato*.

Diversi **TLR**, (TLR2, TLR3, TLR4, TLR6, TLR7, TLR8, e TLR9) sono coinvolti nell'infezione da **COVID-19**. ( **Khanmohammadi S, 2021**)

Il **TLR endosomiale**, nelle versioni **TLR3, TLR7, TLR8 e TLR4** associato alla membrana, ha un ruolo decisivo nello scatenare la "**tempesta citochinica**".

In particolare **TLR7/8** riconosce l'ssRNA SARS-COV-2 e quando si replica in **dsRNA**, guida la **segnalazione infiammatoria** mediata da NF- $\kappa$ B, MAPK.

Tale segnalazione porta a una significativa trascrizione di **geni pro-infiammatori**, con il rilascio di molecole infiammatorie nella circolazione sistemica, causando uno "**squilibrio di sistema**" che porta ad un aumento dei mediatori pro-infiammatori nel sangue, comprese le *citochine* come l'interleuchina **(IL)-2, IL-4, IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-8, interferone (IFN)- $\gamma$** , **fattore di necrosi tumorale (TNF)- $\alpha$** .

**IL-6 e IL-1 $\beta$**  sono i fattori trainanti principali capaci di portare la tempesta citochinica nella circolazione sistemica, causando così insufficienze multiple d'organo che possono portare alla morte dell'individuo. ( Manik M 2021)

Nella **pandemia di COVID-19** i **maschi** sono **2,84 volte** più spesso ricoverati in terapia intensiva con una mortalità di **1,39 volte** superiore. Alcuni studi suggeriscono che la dose genica del **Toll-Like Receptor (TLR)7** potrebbe contribuire alla gravità essendo uno dei recettori cruciali per il riconoscimento del pattern per SARS-CoV-2 ssRNA e perché l'effetto della dose genica è causato dalla fuga dall'inattivazione del  **cromosoma X (XCI)**.

Le **cellule immunitarie femminili** con escape **TLR7 XCI** hanno un'espressione **TLR7 biallelica** e pertanto producono più **interferone di tipo 1 (IFN)** dopo la stimolazione mediata da **TLR7**. (Spiering AE 2021)

**Nel COVID-19, il TLR7** nelle cellule dendritiche plasmacitoidi è uno dei recettori di riconoscimento del pattern responsabile della **produzione di IFN ritardata** è stata associata all'immunopatogenesi e alla mortalità.

Il team del *Centre for Personalised Immunology, Department of Immunology and Infectious Disease University, Canberra*, coordinato da **Carola Vinuesa** ha pubblicato su *Nature* pochi giorni fa il report "**TLR7 gain-of-function genetic variation causes human lupus**" in cui si dimostra che il gene **TLR7** quando è quando è iperattivo, scatena il sistema immunitario sugli organi e sui tessuti del corpo inducendo un **Lupus diffuso**

Sebbene **TLR7** non sia l'unico gene implicato nel **lupus**, è probabile che sia un **hub centrale**, la via di segnalazione centrale principale.

Nel 2016, il team Vinuesa, si è imbattuto in una bambina spagnola di 7 anni di nome **Gabriela** che presentava i **LES**, insoliti nei bambini di questa età.

Il sequenziamento del **genoma di Gabriela** ha rivelato un *cambiamento a base singola* nel gene per **TLR7**, che codifica per **toll-like 7** la proteina che, come abbiamo visto, è preposta al rilevamento dei patogeni presente sulla superficie di più tipi di cellule immunitarie, comprese le cellule B produttrici di anticorpi.

Il dato interessante è che una mutazione **TLR7** non era mai stata implicata nel **lupus** prima, ma solo successivamente i ricercatori hanno trovato molti altri pazienti affetti da **lupus** con mutazioni simili.

Un ulteriore elemento di riflessione è che i topi modificati geneticamente per portare la mutazione **TLR7** di **Gabriela** hanno sviluppato sintomi tipici del **lupus** come piastrine basse e danno renale consistente

Il compito della proteina **TLR7** è individuare i virus a RNA. Quando il recettore viene attivato, le cellule che lo trasportano producono interferoni che impediscono al virus di replicarsi in altre cellule infette; **TLR7** induce i linfociti B di produrre anticorpi contro il virus. Ma la mutazione **TLR7** di **Gabriela** rende il recettore che codifica molto più sensibile

Gli studi sui topi geneticamente modificati hanno mostrato che la loro proteina **TLR7** viene attivata semplicemente interagendo con la **guanossina** peraltro presente nel DNA e nell'RNA di cellule umane sane.

La conseguente **sovrapproduzione di interferone** porta a un attacco immunitario alle cellule normali. Ma un effetto ancora più importante è che la proteina mutante **TLR7** promuove la sopravvivenza dei *linfociti B* che riconoscono le proteine cellulari normali, portando alla produzione di **anticorpi autoreattivi** contro quelle proteine che danneggiano i tessuti umani. Normalmente questi **linfociti** definiti "**B traditori**" vengono eliminati dal sistema immunitario.

I risultati del "team Vinuesa" confermano definitivamente che il percorso **TLR7 è spesso iperattivato nelle persone con lupus**, anche se non sono presenti mutazioni nel gene. Ne scaturisce che utilizzare farmaci che prendono di mira il recettore o i segnali a valle, possa essere una strategia terapeutica ragionevole".

Il reumatologo **Amr Sawalha dell'Università di Pittsburgh** suggerisce di utilizzare **anifrolumab** un farmaco bloccante l'interferone approvato lo scorso anno usato per trattare il lupus con un discreto successo

Le informazioni disponibili su **TLR7** aiutano anche a spiegare perché la maggior parte delle persone con **lupus** siano **donne**: il gene si trova sul **cromosoma X** in una sezione in cui, a differenza della maggior parte dei geni, sono spesso espresse entrambe le copie di un gene.

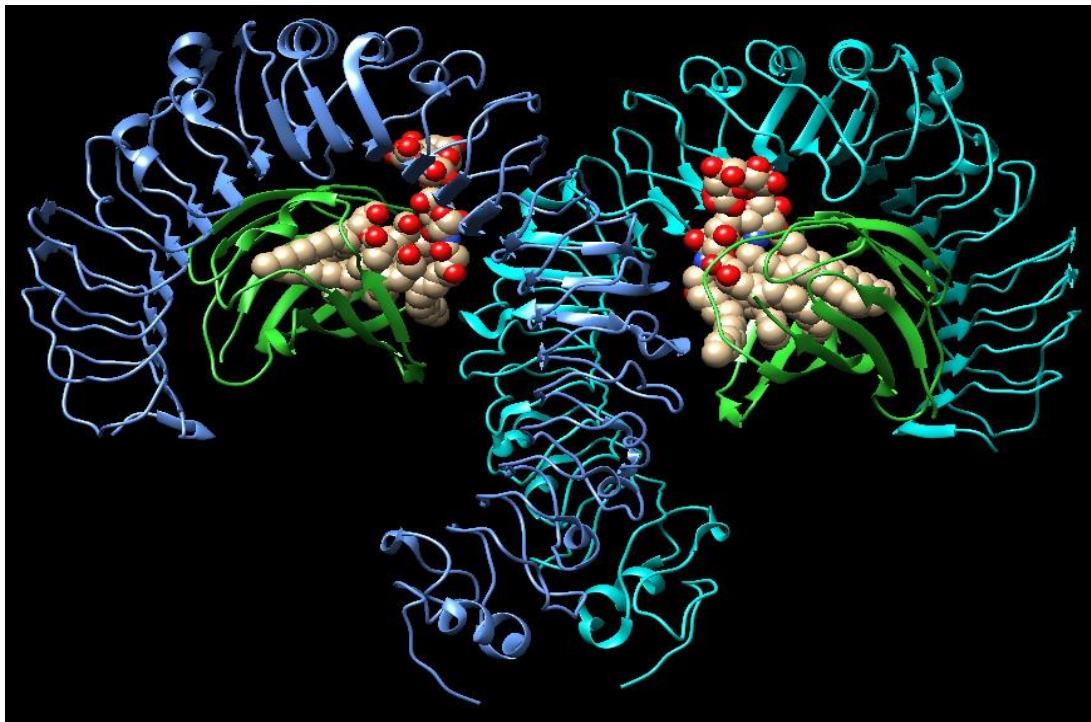
Gli **uomini**, con la loro coppia di cromosomi X e Y, ne hanno solo una copia, quindi producono meno del recettore immunitario in generale, anche se portano la mutazione **TLR7**.

**Gabriela**, ora adolescente, assume un **cocktail di immunosoppressori** per controllare la sua malattia; i farmaci hanno avuto purtroppo l'effetto collaterale di rallentare la sua crescita. Ha dichiarato in un comunicato stampa che *questa nuova ricerca porti a trattamenti migliori per così tanti guerrieri lupus che soffrono di questa malattia*".

Almeno 200.000 persone negli Stati Uniti hanno il **lupus eritematoso sistemico (LES)**, la forma più comune della malattia autoimmune. I pazienti possono sviluppare eruzioni cutanee, dolori

articolari, affaticamento, coaguli di sangue, insufficienza renale, malattie cardiache e problemi psichiatrici. Si pensa che il lupus coinvolga sia la genetica sia i fattori scatenanti ambientali. I pazienti di solito ricevono farmaci immunosoppressori, ma questi possono renderli vulnerabili alle infezioni

Ad oggi non esiste una cura per il lupus, ma i ricercatori sono ora più vicini a una spiegazione genetica per la condizione sconcertante, grazie al genoma di **Gabriela** portatrice di una rara forma ereditaria della malattia.



Struttura di unToll-like receptor

#### Riferimenti

-Khanmohammadi S et al **Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19.** J Med Virol. 2021 May;93(5):2735-2739.

-Manik M et al. **Role of toll-like receptors in modulation of cytokine storm signaling in SARS-CoV-2-induced COVID-19.** J Med Virol. 2021 Oct 21:10.1002/jmv.27405.

-Spiering AE et al. **Why Females Do Better: The X Chromosomal TLR7 Gene-Dose Effect in COVID-19.** Front Immunol. 2021 Nov 11;12:756262.

#### Un anno fa... Baedeker/Replay del 5 Maggio 2021

*COVI-VAC, Parte Seconda: la deottimizzazione*

La sfida più grande per costruire un vaccino vivo attenuato in vitro è garantire il controllo della sua stabilità genetica. La causa principale degli insuccessi è che nel tempo questi virus riacquistano la virulenza originaria e questo è dovuto sostanzialmente alle inefficacia delle mutazioni indotte per ottenere la stabilità. Il cedimento di queste mutazioni riattiva la sequenza genetica e con essa la sua attività repressiva o attivatrice. L'approccio della Codagenix è incentrato sulla creazione di un algoritmo, che chiamerò codagenix, che in silico introduce centinaia di mutazioni silenziose nel genoma virale in modo tale da utilizzare le coppie di codoni normalmente rappresentate nelle cellule umane. Tutti i virus utilizzano i

decodificatori ribosomiali della cellula ospite (ribosomi) per tradurre il proprio genoma e sintetizzare le sue proteine.

Nella costruzione in silico codagenix agisce a livello del punto di attacco del genoma virale al ribosoma e ricodifica (deottimizza) il bias della coppia di codoni bias del codone dei geni virali, inserendo sequenze che vengono lette lentamente dal ribosoma della cellula ospite. Questi geni deottimizzati codificano le stesse esatte sequenze proteiche del tipo selvatico, ma lo fanno in modo subottimale. La deottimizzazione comporta però anche una drastica riduzione della patogenicità e contemporaneamente induce una potente risposta immunitaria grazie alla presentazione di tutti gli antigeni perfettamente abbinati del virus selvaggio, producendo così un potente vaccino.

La deottimizzazione della coppia di codoni di ampi segmenti di genomi virali genera virus altamente attenuati, intrinsecamente stabili che non repertano nel tipo selvatico pur mantenendo l'identità della sequenza di amminoacidi al 100% del virus genitore. Il livello di attenuazione del virus può essere personalizzato su una scala mobile, simile al "pedale del freno" di un'auto o al "volume" di una radio. Una maggiore deottimizzazione si traduce in una maggiore attenuazione, una ridotta deottimizzazione si traduce in una minore attenuazione. L'attenuazione virale può essere progettata per qualsiasi set point tra non vitale e wild-type. Il genoma risultante può quindi essere sintetizzato a partire da zero e trasfettato in cellule umane e testato.

**In quanto tempo si può costruire o riprogrammare un virus sintetico ?**

**(Per continuare vai [alla versione integrale](#))**