

### 13. Maggio

## I coronavirus nascono nelle profondità degli oceani?

Il mare incanta, il mare uccide, commuove, spaventa, fa anche ridere,  
alle volte, sparisce, ogni tanto, si traveste da lago, oppure costruisce tempeste,  
divora navi, regala ricchezze, non dà risposte, è saggio, è dolce, è potente, è imprevedibile.  
Ma soprattutto: il mare chiama.  
(Alessandro Baricco)

I virus infettano e influenzano tutti i domini della vita, svolgendo ruoli come "motori" per l'evoluzione, la diversità e il ciclo geochimico globale. Poiché i virus si evolvono e dipendono dai loro host per la replicazione, sono indispensabili per comprendere le origini della vita. I virus a RNA sono noti per essere agenti di malattie negli esseri umani e piante e animali.

Tuttavia, a causa dell'attenzione allo studio dei virus a RNA nelle patologie, mancano ricerche sulla loro abbondanza e diversità nell'ambiente. Questa scarsità di dati ha messo in discussione gli studi evolutivi finalizzati a determinare l'origine dei virus a RNA.

L'esatta origine del Sars-cov-2 è ancora sconosciuta e nessuna ipotesi tra quelle proposte è stata scartata.

Le diverse ipotesi formulate nei primi studi propendevano per una origine zoonotica (come la SARS e la MERS). La maggioranza degli scienziati ritenevano che la malattia potesse aver avuto origine dal *Bungarus multicinctus*, un serpente altamente velenoso commerciato nel mercato del pesce di Wuhan.

Poiché la maggior parte del primo gruppo di soggetti infetti da sars-cov-2 lavorava in quel mercato, si è ipotizzato che vi fosse giunta (da dove?) una versione primordiale del virus, che da lì si sarebbe successivamente propagato nella provincia e nelle aree limitrofe.

Il 22 gennaio 2020 il **Journal of Medical Virology** pubblicava un rapporto con analisi genomica annessa che identificava nei serpenti nell'area di Wuhan "il più probabile serbatoio tra gli animali selvatici" per il virus. Inoltre uno studio filogenetico basato su genomi pubblicati, suggeriva che la trasmissione potesse essere avvenuta per il tramite di un singolo animale infetto.

Tale ipotesi è poi stata abbandonata ed è tutt'ora ignota la specie che potrebbe aver trasmesso il patogeno all'essere umano.

Una diversa ipotesi rispetto a quella del virus naturale si basa sul fatto che tre ricercatori dell'**Istituto di virologia** di Wuhan, peraltro non distante dal mercato, si erano ammalati già nel novembre 2019 e avevano richiesto e ricevuto assistenza sanitaria.

Secondo **Daniel Lucey**, della **Georgetown University**, le prime infezioni sarebbero occorse nel novembre 2019 o prima, fuori dal mercato del pesce, essendoci uno studio pubblicato che mostra come 13 dei primi 41 pazienti diagnosticati non avevano alcunché a che fare con tale luogo.

A parte il loro ruolo nelle malattie infettive umane, sappiamo relativamente poco dei virus a RNA nel resto del mondo. **Ahmed Zayed** del **Department of Microbiology, della Columbus Ohio State University** coordina un gruppo di ricercatori franco-canadesi che hanno realizzato una scoperta spettacolare.

Hanno di fatto trovato l'anello mancante nell'evoluzione del virus a RNA e hanno scoperto nuovi

*phyla* sono sequenze nucleotidiche che colmano le lacune precedentemente mancanti, consentendo la costruzione di un albero filogenetico più robusto e confermando le ipotesi sull'evoluzione dei virus a RNA.

Questi *phyla* che dominano negli oceani potrebbero infettare i mitocondri delle nostre cellule attraverso una **RNA polimerasi (RdRp)** diretta dall'RNA per la replicazione, che viene considerata come un marker alla base di profonde relazioni evolutive.

Oltre ai dati della sequenza primaria, le informazioni sulle strutture tridimensionali della **RdRp**, i **cluster** basati sulla rete, altri **domini genomici** e le caratteristiche **dell'intero genoma** aiutano a rimodellare i contorni della storia evolutiva dei virus a RNA.

Mentre i virus a **DNA** sono noti per essere i principali protagonisti dell'ecosistema abbondanti, diversificati, i virus a **RNA** non sono studiati a sufficienza al di fuori dei contesti della malattia che determinano.

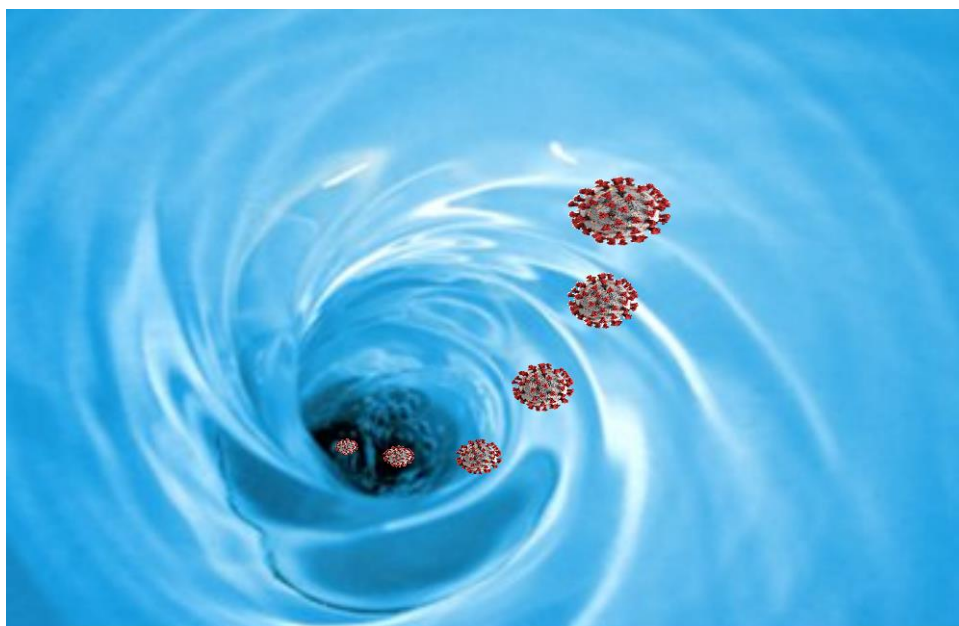
Nell' studio della **Columbus** sono state analizzate  $\approx 28$  *terabase* di sequenze di **RNA** dell'oceano globale per espandere i cataloghi dei virus dell'**RNA** della Terra e la loro tassonomia, studiarne le origini evolutive e valutare la loro biogeografia marina da polo a polo.

Utilizzando nuovi approcci per ottimizzare la scoperta e la classificazione, sono stati identificati i virus a **RNA** che richiedono revisioni sostanziali della tassonomia (raddoppio dei *phyla* e aggiunta di > 50% di nuove classi) e per il loro inquadramento evolutivo

La determinazione dell'abbondanza di rango di "specie" ha rivelato che i virus del nuovo *phyla* "**Taraviricota**" , un anello mancante nella prima evoluzione del virus a **RNA**, e "**Arctiviricota**" sono diffusi e dominanti negli oceani. Questi studi forniscono conoscenze di base fondamentali per integrare i virus a RNA nei modelli ecologici ed epidemiologici ed in particolare connettono in maniera inquietante al mercato del pesce di Whuan

#### Riferimenti

Zayed AA, et al **Cryptic and abundant marine viruses at the evolutionary origins of Earth's RNA virome.** Science. 2022 Apr 8;376(6589):156-162.



## **Un anno fa... Baedeker/Replay del 13Maggio 2021**

*Dall'ago al linfonodo: i percorsi delle nanoparticelle antigeniche*

### **I vaccini con nanoparticelle**

Una strategia particolarmente efficace per migliorare le risposte umorali è attraverso la formulazione di antigeni in una struttura particellare multivalente, che imita la struttura di un virus. I vaccini con nanoparticelle presentano una serie di vantaggi teorici per la stimolazione immunitaria rispetto agli immunogeni solubili, tra cui un maggiore traffico linfatico, una maggiore cattura nei linfonodi da parte delle cellule presentanti l'antigene (APC) e una migliore attivazione delle cellule B antigene-specifiche attraverso la reticolazione del recettore (Moyer TJ, 2016). Praticamente la formazione di antigeni particolati può essere ottenuta fondendo immunogeni a una proteina che subisce l'autoassemblaggio con altre subunità per formare una nanoparticella, o tramite collegamento chimico a vescicole lipidiche sintetiche, particelle polimeriche o altri materiali inerti. Le nanoparticelle di vaccino sono tipicamente progettate con diametri di ~ 100 nm o inferiori, poiché le particelle in questo intervallo di dimensioni mostrano un drenaggio efficace dai siti di iniezione nei vasi linfatici per un traffico efficace verso il drenaggio dei linfonodi.

### **Un drenaggio linfatico "fast"**

I vaccini vengono generalmente somministrati per via parenterale. Dopo l'iniezione, gli antigeni del particolato con dimensioni maggiori di ~ 5 nm sono troppo grandi per entrare nel sistema vascolare sanguigno in modo efficiente e vengono invece convocati nei vasi linfatici. Gli antigeni solubili e le particelle di diametro inferiore a ~ 100 nm vengono efficacemente trasferiti attraverso la linfa ai linfonodi drenanti. Al raggiungimento del nodo drenante, piccoli antigeni solubili (di dimensioni inferiori a ~ 70 kDa) possono essere trasportati nelle aree dei linfociti T o nei follicoli dei LN attraverso i condotti del collagene o attraverso gli spazi vuoti nel pavimento del seno sottocapsulare (Pape KA 2007). L'ingresso nei condotti è mediato da portali nelle cellule endoteliali linfatiche ricoperti da un complesso di filtraggio dimensionale formato dalla proteina associata alla vescicola plasmalemma. Sebbene si pensasse che le nanoparticelle fossero troppo grandi per passare in modo efficiente il filtro PLVP, dati recenti hanno dimostrato che sia le particelle di virus vaccinia che zika possono accedere ai condotti e penetrare in profondità nei LN. (Rantakari P 2015)

### **Il filtro PLVAP**

PLVAP è una proteina endoteliale prototipica dei vasi sanguigni, viene sintetizzata nelle cellule endoteliali linfatiche di rivestimento del seno che coprono i condotti distali. Meccanicamente, ha una funzione di filtraggio.

### **La cooperazione macrofagi cellule dendritiche**

per la cattura antigenica. In alternativa, gli antigeni del particolato vengono catturati dai macrofagi e dalle cellule dendritiche che rivestono il seno sottocapsulare (SCS). I macrofagi SCS esprimono una serie di recettori che consentono la cattura dell'antigene, inclusi i recettori del complemento, i recettori Fc e il CD169, e non interiorizzano e degradano rapidamente gli antigeni del particolato catturato. Le particelle catturate dai macrofagi del seno vengono trasferite sulle loro superfici cellulari o tramite transitosi alle cellule B follicolari in migrazione appena sotto il pavimento capsulare. Le cellule dendritiche che catturano l'antigene nei seni corticali o midollari possono presentare l'antigene localmente o migrare nel parenchima per avviare il priming delle cellule T e B. Oltre al drenaggio linfatico diretto, le particelle possono anche essere catturate nel tessuto periferico da monociti e cellule dendritiche, che possono trasportare attivamente l'antigene nel parenchima LN (Itano AA, 2003).

### **Possono entrare in azione meccanismi alternativi**

Oltre alla cattura da parte degli APC, molti altri meccanismi possono influire sull'ingresso dell'antigene nei LN. Le cellule endoteliali linfatiche esprimono recettori scavenger e hanno dimostrato di catturare particelle virali. Gli antigeni del particolato sono anche suscettibili a una rapida proteolisi nella linfa e / o nel SCS e i componenti proteici degli antigeni del particolato possono raggiungere rapidamente le cellule B in profondità nei follicoli.

### **L'attivazione dei percorsi**

Quale dei percorsi sopra descritti viene attivato dipende dalla precisa composizione e dimensione dell'antigene / particella ed è influenzato dalla scelta dell'adiuvante del vaccino. Tuttavia, è probabile che più percorsi di traffico avvengano simultaneamente in parallelo per un particolare immunogeno vaccinale. Una volta che gli antigeni sono passati nel parenchima LN, possono essere trasferiti a siti diversi con implicazioni distinte per la risposta immunitaria che ne deriva. Per l'immunità umorale, è fondamentale la localizzazione dell'antigene nei follicoli e nei centri germinali (GC), dove le cellule B innescate dall'antigene sono soggette a proliferazione e ipermutazione somatica. Le cellule dendritiche follicolari (FDC) svolgono un ruolo importante nei GC, presentando antigeni immobilizzati ai linfociti B per periodi prolungati (Kranich J 2016). Si ritiene principalmente che le FDC presentino l'antigene sulle loro superfici dendritiche tramite Fc e i recettori del complemento (CR1 e CR2), e i topi carenti di CR1 / 2 mostrano risposte anticorpali sostanzialmente alterate alla vaccinazione. Le nanoparticelle e gli immunocomplessi possono essere trasportati alle FDC in modo dipendente dal complemento. L'opsonizzazione del complemento (C) avviene tramite una delle 3 vie: la via classica che coinvolge IgM o IgG legate alla particella, la via della lectina che coinvolge la lectina legante il mannosio (MBL) che riconosce gli zuccheri sulla superficie della particella, o tramite deposizione spontanea del complemento sulla particella attraverso il percorso alternativo. I macrofagi SCS che catturano le particelle C-opsonizzate trasferiscono l'antigene a cellule B non antigene-specifiche che migrano vicino ai seni linfatici, che successivamente rilasciano questi antigeni alle FDC in modo CR1 / 2-dipendente (Cyster JG 2010).

### **Esistono percorsi alternativi**

Oltre al traffico mediato dal complemento, sono stati descritti altri percorsi per il trasporto degli antigeni del particolato agli FDC. È stato dimostrato che le DC midollari catturano le particelle virali dell'influenza attraverso il recettore della lectina SIGN-R1 e le trasportano verso le FDC sebbene non sia chiaro se queste DC trasportino l'antigene fino alle FDC o se il trasferimento alle cellule B avvenga in alcuni punti intermedi. Recentemente, è stato identificato un percorso per il trasferimento diretto di particelle virali avvolte alle FDC, per cui la proteina legante la fosfatidil serina MFG-E8 agisce come un adattatore che lega le membrane virali alle integrine sui macrofagi SCS, che possono quindi trasferire direttamente le particelle virali alle FDC adiacenti. Pertanto, esistono numerosi meccanismi di sovrapposizione per trasportare in modo efficiente gli antigeni del particolato alla rete FDC. (Park C 2019). La criticità delle dimensioni delle particelle. La dimensione delle particelle è un secondo parametro chiave. Recenti studi sistematici che utilizzano nanoparticelle d'oro coniugate in superficie con gli antigeni modello hanno mostrato che l'accesso ai follicoli è fortemente influenzato dalla dimensione delle particelle.

### **Nanoparticelle....**

**(per continuare vai al testo originale)**