

25.Luglio 2022
da Punta Molino.Ischia

L'incredibile potenziale diagnostico terapeutico degli esosomi

La novità non è originalità né modernità.
Robert Bresson

Alla ricerca di nuove strategie di trattamento contro COVID-19, gli esosomi hanno attirato l'attenzione di scienziati e aziende farmaceutiche di tutto il mondo. Gli esosomi sono piccole vescicole extracellulari, secrete da tutti i tipi di cellule, e considerate come mediatori chiave della comunicazione intercellulare e della segnalazione paracrina delle cellule staminali.

Gli esosomi sono considerati i più promettenti agenti per il trattamento, la prevenzione, la diagnosi e la patogenesi di COVID-19.

Numerosi studi e sperimentazioni cliniche in corso hanno esaminato l'azione antinfiammatoria, immunomodulante, ed effetti riparativi di esosomi derivati da cellule *staminali mesenchimali/stromali* per danno polmonare acuto correlato a COVID-19.

Altri studi hanno riportato che gli esosomi svolgono un ruolo chiave nella terapia al plasma convalescente per COVID-19 e che potrebbero essere utili per il trattamento della *sindrome infiammatoria multisistemica simile a Kawasaki COVID-19* e come *nanocarrier di somministrazione di farmaci* per la terapia antivirale. Sfruttando alcuni aspetti vantaggiosi della biologia degli esosomi, come la loro origine endogena, la capacità di attraversare le barriere biologiche, l'elevata stabilità in circolazione e la bassa tossicità e immunogenicità, diverse aziende hanno testato *vaccini a base di esosomi* contro SARS-CoV-2.

Poiché trasportano carichi che imitano lo stato delle cellule madri, gli esosomi *possono essere isolati da una varietà di fonti, incluso il plasma*, e impiegati come *biomarcatori di COVID-19*. Infine, ci sono prove crescenti a sostegno del ruolo degli esosomi *nell'infezione, nella diffusione, nella riattivazione e nella reinfezione* da COVID-19.

Le informazioni che apprenderemo utilizzando gli esosomi per affrontare problematiche legate a COVID-19 aiuteranno a determinarne l'efficacia e l'applicabilità *in altre condizioni cliniche*.

Tra i vari gruppi di ricerca vi segnalo il team di **Augusto Zani** un punto di riferimento per seguire translazionalità degli esosomi nella pratica clinica



The Augusto Zani Lab.

The Role of Exosomes in the Treatment, Prevention, Diagnosis, and Pathogenesis of COVID-19.
Eur J Pediatr Surg. 2021 Aug;31(4):326-334.

La fattibilità è resa sempre più concreta dall'attività di ricerca di qualità di alcune aziende come la AMS Biotechnology (AMSBIO) il cui portale vi consiglio di visitare

AMSBIO è un fornitore leader di esosomi ad alta purezza che utilizzano metodi di isolamento, tra cui ultracentrifugazione differenziale e gradiente tradizionale, immunoaffinità e cromatografia a esclusione dimensionale, nonché precipitazione/centrifugazione a bassa velocità.

Per i laboratori che richiedono l'isolamento e il sequenziamento dell'isolamento del microRNA esosomiale (miRNA), AMSBIO offre un servizio per estrarre l'RNA dagli esosomi e sottoporlo al sequenziamento dell'RNA utilizzando una piattaforma Illumina.

Oltre a eseguire analisi di base sui dati grezzi, può eseguire lo screening di miRNA specifici AMSBIO inoltre offre anche l'analisi delle proteine di superficie esosomiali utilizzando il **MACSPlex Exosome Kit**, nonché un servizio di alta qualità che fornisce un isolamento affidabile e riproducibile degli esosomi da quasi tutti i biofluidi che vanno dal plasma e dai mezzi di coltura tissutale al liquido cerebrospinale.

Utilizzando questo servizio, gli esosomi target vengono isolati mediante ultracentrifugazione prima della quantificazione e della valutazione della qualità utilizzando uno spettrofotometro NanoDrop. In particolare AMSBIO fornisce un'ampia gamma di saggi funzionali dell'esosoma:

Proliferazione cellulare indotta da esosomi

Tipi di cellule rispondenti: cheratinociti umani o fibroblasti umani

Confronto con un massimo di 5 induttori noti

Include mezzi di controllo sierici e non sierici

Cell Titer Blue Assay per la proliferazione cellulare

Produzione di collagene indotta dall'esosoma

Tipi di cellule rispondenti: cheratinociti umani o fibroblasti umani

Confronto con TGF- β 1, un noto induttore

Include mezzi di controllo sierici e non sierici

Testato utilizzando ELISA per il peptide 1 C pro-collagene

Costo totale: Dipende dal numero di campioni, dalle titolazioni richieste e dai tipi cellulari testati

Inibizione indotta dall'esosoma delle citochine infiammatorie

Tipi di cellule rispondenti: cheratinociti umani o fibroblasti umani

Confronto con batteri liofilizzati uccisi dal calore, un noto induttore

Include mezzi di controllo sierici e non sierici

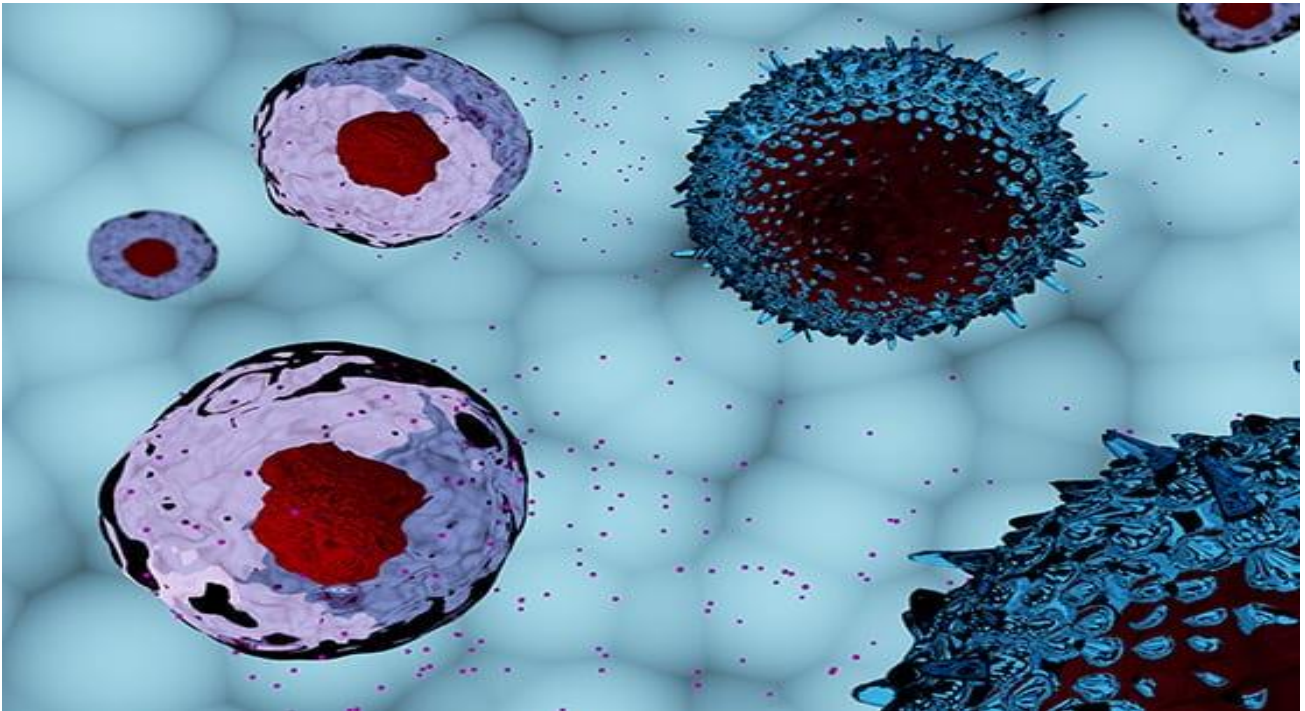
Testato utilizzando RT-qPCR per IL-6, IL-8 e MCP-1

Costo totale: Dipende dal numero di campioni, dalle titolazioni richieste e dai tipi cellulari testati

Guarigione delle ferite in vitro (scratch test)

Il test di scratch standard verrà eseguito utilizzando cellule monostrate in ciascun pozzetto, con microfotografie eseguite a intervalli di 12 ore su un periodo di 72 ore

Questa mia segnalazione è indirizzata alle strutture cliniche ospedaliere che potrebbero integrare la loro attività di ricerca attraverso i servizi offerti da AMSBIO. Sono disponibile a formalizzare una richiesta di collaborazione attraverso l'ideazione di un protocollo sperimentale (gi<anfrancotajana@gmail.com)



Un anno fa... Baedeker/Replay del 25 luglio 2021

Quello che penso di aver capito e cosa sarebbe opportuno fare: lo scenario (parte prima)

Non sopporto le persone che fanno finta di non capire. La trovo una mancanza di rispetto verso quelli come me che non capiscono davvero. Dopo sette mesi di riflessioni in cui ho cercato di capire prima di essere capito ho provato a trasformare le informazioni in conoscenza e la conoscenza in buon senso. Compito arduo perché coloro che capiscono solo ciò che può essere spiegato in realtà capiscono molto poco. Nei prossimi giorni vorrei provare a raccontare quello che penso di aver capito di questa pandemia e cosa sarebbe opportuno fare. È innegabile che SARS-2 per un ricercatore possiede una sequenza nucleotidica intrigante e misteriosa difficile da interpretare che ricorda la prima partita a scacchi. Quando inizi a capire come si muovono i pezzi, hai già perso. Adesso, almeno per me, **è arrivato il momento di affermare che il virus responsabile della pandemia COVID-19 non sta scomparendo, ad oggi non può essere annientato**, poiché sta già crescendo in più di una dozzina di specie animali diverse.

Per gli umani, **l'immunità di gregge globale, promossa come soluzione messianica, è di fatto irraggiungibile**. La maggior parte delle Nazioni non hanno abbastanza vaccini, e anche nelle poche "fortunate" che hanno accaparrato un'ampia scorta, ancora troppe persone si rifiutano di farsi vaccinare. Di conseguenza, il mondo non raggiungerà il punto in cui un numero sufficiente di persone sarà immune e fermare così la diffusione del virus prima dell'emergere di sempre nuove varianti rapidamente trasmissibili, resistenti ai vaccini e in grado di eludere gli attuali test diagnostici. **Queste supervarianti potrebbero riportare il mondo al punto di partenza**. Potremmo ritrovarci di nuovo nel 2019. Negli anni a venire piuttosto che estinguersi, Sars-2 probabilmente farà ping-pong avanti e indietro in tutto il mondo. **Gli annunci trionfanti della fine pandemia di ieri (Bruno Vespa!)** la luce in fondo al tunnel assomigliano a tristi ritirate. Le nazioni che hanno tenuto a bada la pandemia attraverso rigidi controlli alle frontiere ed eccellenti test, tracciamento e isolamento, ma che non sono stati in grado di completare la campagna vaccinale stanno capitolando una ad una con la comparsa delle diverse minacciose varianti.

Vincere in una pandemia non riguarda solo avere disponibilità di denaro e risorse; si tratta anche di possedere idee e strategie adeguate. Nel 1854, in un momento in cui la teoria dei germi doveva ancora prendere piede, il medico John Snow fermò un'epidemia di colera a Londra, rintracciandone l'origine in un pozzo infetto; dopo aver convinto i leader della comunità a rimuovere la maniglia dalla pompa del pozzo, l'epidemia si concluse nel giro di pochi giorni. Negli anni '70, il vaiolo era dilagante in Africa e in India. L'epidemiologo William Foege, che lavorava in un ospedale in Nigeria, ha riconosciuto che la piccola

quantità di vaccino che gli era stata assegnata non era sufficiente per vaccinare tutti. Quindi ha aperto la strada a un nuovo modo di usare i vaccini, concentrandosi non sui volontari o sulle persone ben collegate, ma sulle persone più a rischio di contrarre la malattia. Entro la fine del decennio, grazie a questa strategia all'inizio chiamata "sorveglianza e contenimento" e poi "vaccinazione ad anello" il vaiolo fu debellato.

È una versione del ventunesimo secolo di questa strategia, insieme a una vaccinazione di massa più rapida ed efficace (Non ago, assorbimento intestinale) oggi potrebbe costituire il requiem per il COVID-19. Per questa pandemia, l'epidemiologia dispone anche un ricco arsenale di strumenti per riportare il mondo a uno stato di relativa normalità, per permetterci di convivere con il SARS-CoV-2 così come abbiamo imparato ad affrontare altre malattie, come l'influenza e il morbillo. **La chiave sta nel trattare i vaccini come risorse trasferibili che possono essere rapidamente dispiegate dove sono più necessarie: nei punti caldi dove i tassi di infezione sono alti e le scorte di vaccini basse.** Gli Stati Uniti, pieni di vaccini, sono ben posizionati per guidare questo sforzo, utilizzando una versione modernizzata della strategia impiegata per controllare il vaiolo. Nel frattempo, i governi dovrebbero impiegare le nuove tecnologie per migliorare l'identificazione e il contenimento dei focolai. Ciò significa adottare sistemi di notifica dell'esposizione per avvisare le persone della loro possibile infezione. E inoltre significa migliorare le capacità di sequenziare i genomi virali, in modo che i virologi possano determinare le varianti e quei vaccini che potrebbero funzionare meglio contro ciascuno di essi. Tutto questo deve avvenire il più rapidamente possibile. Più lentamente i paesi vaccinano le persone più a rischio di diffusione della malattia, più varianti emergeranno.

Anche il sistema internazionale di risposta alle pandemie deve essere rimodulato. Poiché l'attuale crisi ha messo a nudo che questo è pericolosamente sottofinanziato, lento e vulnerabile alle interferenze politiche. In un momento di crescente nazionalismo, **i paesi devono trovare un modo per lavorare insieme per riformare le istituzioni sanitarie pubbliche globali che saranno responsabili di questa ancora lunga lotta contro il COVID-19.** Questi organismi devono essere protetti e responsabilizzati in modo che possano lavorare più velocemente di quanto non abbiano fatto fino ad oggi .

All'inizio del 2020, molti leader hanno negato che quella che era iniziata come un'epidemia regionale a Wuhan, in Cina, potesse diffondersi in lungo e in largo. Con il passare dei mesi, i governi hanno immaginato che il virus potesse essere contenuto con i controlli alle frontiere e che la sua diffusione sarebbe miracolosamente rallentata con il caldo. Credevano che i controlli della temperatura potessero identificare tutti coloro che ospitavano il virus, che i farmaci esistenti potevano essere riutilizzati per mitigare la malattia e che l'infezione naturale avrebbe determinato un'immunità duratura, tutte ipotesi che si sono rivelate sbagliate. Con l'aumento del numero dei morti, molti leader sono rimasti in uno stato di negazione. Ignorando la comunità scientifica, non sono riusciti a incoraggiare l'uso della maschera protettiva e il distanziamento sociale, anche se le prove aumentavano. Il COVID-19 ha colpito in un momento geopolitico infausto.

Un'era di crescente nazionalismo e populismo ha reso frustrantemente difficile organizzare una risposta collaborativa a una pandemia globale. Jair Bolsonaro del Brasile, Xi Jinping della Cina, Narendra Modi dell'India, Vladimir Putin della Russia, Recep Tayyip Erdogan della Turchia, Boris Johnson del Regno Unito e Donald Trump degli Stati Uniti: **tutti questi leader hanno mostrato una combinazione di campanilismo e insicurezza politica, che li ha portati a minimizzare la crisi, ignorare la scienza e rifiutare la cooperazione internazionale.** I due paesi in lizza per la leadership globale sono i maggiori colpevoli di aver permesso ad una nuova malattia di diventare una pandemia paralizzante: Cina e Stati Uniti. Anche accantonando la questione se il virus sia passato agli esseri umani a causa di un incidente di laboratorio o di una ricaduta sugli animali, Pechino è stata meno che schietta nel condividere informazioni sulla portata del problema nei suoi primi giorni. E anche se potrebbe non essere mai chiaro cosa sapessero i decisori cinesi quando, era comunque irresponsabile da parte loro consentire viaggi internazionali dentro e fuori un'area epidemica durante un periodo di intensi viaggi di vacanza, una decisione che forse ha creato un evento super-diffusore.

Gli Stati Uniti, da parte loro, hanno ignorato i primi avvertimenti di decine di Cassandre epidemiologiche e negato la gravità della crisi emergente. L'amministrazione Trump ha trattato il COVID-19 come una

minaccia astratta invece del pericolo chiaro e presente che era e non è riuscita a organizzare una risposta nazionale coordinata. Il governo degli Stati Uniti ha vietato alcuni ma non tutti i viaggi dalla Cina, ha aspettato troppo a lungo per controllare i viaggi dall'Europa, ha rifiutato i kit di test diagnostici sviluppati all'estero e ha pasticciato nello sviluppo dei propri kit di test. Non è riuscito a procurarsi e distribuire i dispositivi di protezione individuale necessari per salvaguardare i lavoratori in prima linea e la popolazione in generale, lasciando gli Stati a competere tra loro per forniture critiche. I politici hanno fatto della mascherina una questione di identità politica.

Il risultato di tutto il caos, il ritardo, e la stupidità è stata una diffusione in gran parte incontrollata e un aumento del numero di morti. Gli Stati Uniti sono un paese ricco e istruito che ospita le principali istituzioni scientifiche del mondo e poco più del 4% della popolazione mondiale. Eppure, nel primo anno di questa pandemia, ha avuto un sorprendente 25% dei casi di COVID-19 nel mondo e il 20% dei decessi per la malattia. Quella che molti speravano fosse una crisi di breve durata si è dimostrata una lotta complessa e complicata a contro un virus resiliente. Alcuni governi hanno preso sul serio la minaccia. All'inizio della pandemia, il miglior predittore del successo di un paese contro questo coronavirus era l'esperienza recente con un focolaio causato da un precedente coronavirus, SARS o MERS. Quando è apparso il COVID-19, Taiwan, che era stata duramente colpita dalla SARS nel 2003, ha implementato rapidamente i controlli, ha chiuso i suoi confini ai residenti di Wuhan e ha attivato un centro di comando per coordinare la sua risposta. Fortunato ad avere un epidemiologo al timone come vicepresidente, il governo taiwanese ha agito in modo trasparente. Ha lanciato un programma completo di test, tracciamento e isolamento e ha incoraggiato il distanziamento sociale e l'uso di maschere.

Al 1° maggio 2021, Taiwan aveva riportato solo 12 decessi per COVID19. Anche il Vietnam aveva imparato la lezione dalla SARS. Negli anni successivi a quell'epidemia, ha costruito una solida infrastruttura di sanità pubblica, tra cui un centro operativo di emergenza e un sistema di sorveglianza nazionale per facilitare la condivisione dei dati e la ricerca dei casi. Quando l'attuale pandemia ha colpito, il governo era pronto a implementare un programma di test di massa, tracciamento dei contatti, quarantena e chiusura delle attività. Ad aprile 2020, il Vietnam aveva distribuito un'app mobile a oltre la metà della sua popolazione che notificava automaticamente agli utenti se erano stati vicini a qualcuno con un caso confermato di COVID19. Nonostante abbia una popolazione densa di 96 milioni, il paese non ha riportato nuovi decessi da settembre 2020 a maggio 2021. All'inizio di maggio, aveva contato un totale di soli 35 decessi.

Al contrario, la risposta internazionale al COVID-19 è stata sorprendentemente inetta, soprattutto rispetto alle precedenti campagne per contenere le epidemie o debellare le malattie. Con il vaiolo e la poliomielite, ad esempio, i governi e le organizzazioni internazionali hanno lavorato insieme per sviluppare e finanziare strategie coese, attorno alle quali sono state organizzate squadre di risposta in tutto il mondo. Non così per il COVID-19. La politica ha minato la salute pubblica in una crisi globale in una misura che nessuno aveva creduto possibile. Il presidente degli Stati Uniti ha messo a tacere i fidati leader della sanità pubblica dei Centri statunitensi per il controllo e la prevenzione delle malattie (CDC), e ha ritirato gli Stati Uniti dall'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) proprio quando era necessaria la massima collaborazione.

In tempi bui è difficile ritirarsi nell'ombra (Stanisław Jerzy Lec).

Lo sviluppo dei vaccini è stato **uno dei pochi punti luminosi** in questa pandemia, ma di questo ne parleremo domani (continua)

