

27. Dicembre

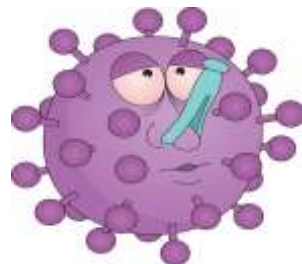
Alla ricerca del senso dell'immaginazione smarrito

Dimenticato l'alfabeto dell'olfatto che ne faceva altrettanti vocaboli, d'un lessico prezioso, i profumi resteranno senza parola, inarticolati, illeggibili.

Italo Calvino

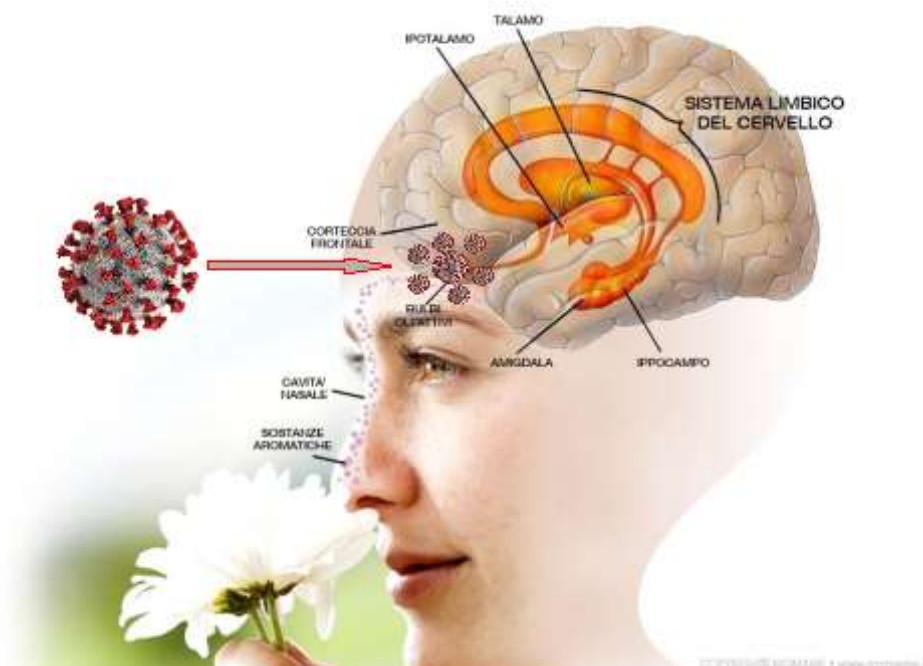
Sotto il sole giaguaro, 1986

L'olfatto è una vista strana. Evoca paesaggi sentimentali attraverso il disegno improvviso del subconscio. Per **Jean-Jacques Rousseau** è *le sens de l'imagination*



L'olfatto, più degli altri sensi, partecipa dell'atmosfera al contempo fisica e morale di un luogo o di una situazione. Con buona pace per Freud e Galimberti (vedi allegato) L'anosmia è una mancanza piuttosto sgradevole, che sottrae all'esistenza parte del suo piacere, costringendo a vivere in un mondo insipido e inodore, privo dell'aroma delle vivande, del sapore dei vini o dei cibi un mondo dove bevande e alimenti hanno tutti lo stesso, indifferente sapore.

L'anosmia, la perdita dell'olfatto, si verifica nella maggior parte degli individui con malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) ma può persistere dopo il recupero .



Si pensa che la sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2 (SARS-CoV-2) causi anosmia colpendo l'epitelio olfattivo, l'organo periferico dell'olfatto che riveste la fessura olfattiva della cavità nasale. L'epitelio olfattivo ospita i neuroni sensoriali olfattivi primari responsabili della rilevazione degli odori, uno strato cellulare di supporto della barriera composto da **cellule sustentacolari** e una popolazione di **cellule staminali basali o progenitrici** che rinnovano continuamente l'epitelio olfattivo differenziandosi in **neuroni sensoriali olfattivi** che rilevano gli odori volatili tramite i **recettori olfattivi** localizzati nelle **ciglia neuronali**.

Il team del



ha dimostrato che **i cambiamenti transitori dell'espressione genica** nei neuroni sensoriali olfattivi, e le alterazioni nelle caratteristiche dello strato di muco che circonda le ciglia e l'infiammazione di fondo causano **anosmia acuta** nei modelli animali di infezione da SARS-CoV-2

Zazhytska M et al [Non-cell-autonomous disruption of nuclear architecture as a potential cause of COVID-19-induced anosmia. Cell. 2022 Mar 17;185\(6\):1052-1064.e12.](#)

Il 23andMe COVID-19 Team:

Lavorando su modelli animali e sui tessuti autoptici umani ha dimostrato che **le cellule sustentacolari** piuttosto che i neuroni sono infettate dal virus e rappresentano **un sito primario di infezione**.

Inoltre i **polimorfismi locus UGT2A1/UGT2A2**, il cui prodotto genico è espresso nelle **cellule sustentacolari**, sono associati a un rischio elevato di perdita acuta dell'olfatto o del gusto correlata a COVID-19

Shelton JF et al. [The UGT2A1/UGT2A2 locus is associated with COVID-19-related loss of smell or taste. Nat Genet. 2022 Feb;54\(2\):121-124.](#)

James Schwob del *Department of Developmental, Molecular, and Chemical Biology della Tufts University School of Medicine*



ritiene che, nella maggior parte dei pazienti con perdita dell'olfatto associata a COVID-19, dopo la clearance virale i normali processi riparativi epiteliali ricostituiscano la popolazione di *cellule sustentacolari* (ed eventuali neuroni incidentalmente danneggiati), ripristinando progressivamente la funzione.

Schwob JE et al. Stem and progenitor cells of the mammalian olfactory epithelium: Taking poietic license. J Comp Neurol. 2017 Mar 1;525(4):1034-1054.

Tuttavia, ad oggi, non è chiaro cosa impedisca il recupero nel sottogruppo di individui con COVID-19 che hanno una perdita duratura della funzione olfattiva. Esistono diverse possibilità che non si escludono a vicenda, incluso un grave danno epiteliale iniziale che diminuisce o elimina i pool di cellule staminali basali che normalmente ricostituiscono il neuroepitelio.

Altre possibilità includono l'infiltrazione dell'epitelio olfattivo da parte di popolazioni di cellule immunitarie tali che la neuroinfiammazione o i fenomeni autoimmuni perturbano la normale funzione olfattiva e l'omeostasi attraverso alterazioni nell'espressione genica o altri mezzi, o meccanismi centrali che causano squilibri nei bulbi olfattivi del cervello o della corteccia olfattiva.

In diversi report l'esame del tessuto autoptico umano derivato da pazienti deceduti per sequele acute di COVID-19 evidenzia un'infezione persistente delle *cellule sustentacolari*,

Le **cellule di supporto**, note anche come cellule sustentacolari, sono attaccate alla lamina basale ma i loro corpi cellulari si trovano più apicalmente nell'epitelio. Hanno una forma colonnare e la loro regione apicale è ricoperta di microvilli. Queste cellule forniscono supporto e isolamento agli OSN, in modo simile alle cellule gliali. Le cellule di supporto esprimono il citocromo P450 e altri enzimi coinvolti nel metabolismo dei composti xenobiotici, suggerendo un ruolo nella disintossicazione delle sostanze tossiche inalate a cui è esposto l'OE, e svolgono anche un ruolo fagocitico, per rimuovere gli OSN morti

Poiché questi risultati suggeriscono meccanismi rilevanti per la perdita acuta dell'olfatto correlata a COVID-19, soltanto il sequenziamento dell'RNA a cellula singola (scRNA-seq) potrebbe essere dirimente

Per rispondere a questa domanda Il team di **Bradley John Goldstein** del *Department of Head and Neck Surgery & Communication Sciences, Duke University School of Medicine, Durham,*



ha analizzato campioni epiteliali olfattivi raccolti da **24 biopsie**, inclusi **nove pazienti** con perdita dell'olfatto a lungo termine (PASC) oggettivamente quantificata dopo COVID-19 attraverso test olfattivi oggettivi.

E' statato utilizzao un pannelli reazioni immunoistochimiche specifiche e la **scRNA-seq** per identificare alterazioni cellulari e trascrizionali associate a disfunzione olfattiva correlata a PASC. I

controlli includevano biopsie dell'epitelio olfattivo normosmico appena ottenute, campioni di muco e i nostri set di dati *scRNA-seq* di controllo pubblicati per un totale di 44 campioni di pazienti

Questo approccio ha rivelato un diffuso infiltrato di *cellule T* che esprimono *interferone-γ* e uno spostamento nella composizione della popolazione di cellule mieloidi, incluso l'arricchimento di *CD207 +cellule dendritiche* e *deplezione dei macrofagi M2 antinfiammatori*.

Nonostante *l'assenza di RNA o proteina SARS-CoV-2 rilevabile*, l'espressione genica nelle cellule di supporto della barriera dell'epitelio olfattivo, il *compartimento delle cellule sustentacolari*, sembrava riflettere una risposta alla segnalazione infiammatoria in corso, che era accompagnata da una riduzione del numero di neuroni sensoriali olfattivi rispetto alle cellule sustentacolari epiteliali olfattive.

Questi risultati indicano che *l'infiammazione mediata dalle cellule T* persiste nell'epitelio olfattivo molto tempo dopo che SARS-CoV-2 l'eliminazione del virus e suggerisce un meccanismo alla base della perdita dell'olfatto post-COVID-19 a lungo termine.

In sintesi

Il *sequenziamento dell'RNA a singola cellula* e l'immunoistochimica rispetto ai controlli, le biopsie di individui iposmici hanno mostrato meno neuroni sensoriali olfattivi e popolazioni di cellule immunitarie alterate, comprese le cellule T che producono interferone-gamma, l'arricchimento delle cellule dendritiche CD207 e l'esaurimento dei macrofagi M2. Questi risultati suggeriscono che le popolazioni di cellule immunitarie alterate negli epitelii olfattivi contribuiscono alla perdita dell'olfatto a lungo termine dopo COVID-19.

Nel dettaglio:

I risultati che confrontano i dati *scRNA-seq* tra biopsie dell'epitelio olfattivo guidate endoscopicamente da pazienti iposmici PASC e individui normosmici di controllo ipotizzano un modello in cui le interazioni alterate tra le cellule immunitarie e l'epitelio olfattivo guidano i cambiamenti funzionali *nelle cellule sustentacolari* e nei *neuroni sensoriali olfattivi*.

I risultati sono coerenti con i cambiamenti osservati nei neuroni sensoriali olfattivi, inclusa una relativa riduzione del numero di cellule, in particolare i *neuroni OMP + maturi*, potrebbero spiegare la disfunzione sensoriale inclusa l'iposmia o la parosmia.

L'assenza di marcati cambiamenti trascrittomici dei neuroni sensoriali olfattivi che abbiamo osservato nel contesto dell'iposmia correlata al PASC suggerisce alcune differenze rispetto ai risultati nei campioni autoptici di casi acuti di COVID-19

Si ritiene anche che i segnali non autonomi locali in modo acuto guidino i cambiamenti *dell'espressione genica neuronale* nel contesto di una grave infiammazione. Nell'epitelio olfattivo iposmico

L'osservazione di un'infiltrazione persistente di *cellule T* nell'epitelio olfattivo umano mesi dopo l'infezione da SARS-CoV-2 suggerisce che *i pazienti COVID-19 con iposmia PASC possono avere una risposta immunologica selettiva* a una precedente infezione che differisce dalle risposte immunologiche generate acutamente.

Si definisce così un modello provvisorio in cui un asse disregolato tra cellule immunitarie, cellule basali orizzontali, cellule sustentacolari e neuroni sensoriali olfattivi si pone nell'epitelio olfattivo iposmico PASC, con una conseguente disfunzione sensoriale.

Resta da determinare come e perché ciò avvenga in un sottogruppo di pazienti.

L'analisi dei macrofagi di pazienti con COVID-19 ha dimostrato che l'infezione acuta da SARS-CoV-2 guida una riprogrammazione proinfiammatoria che si ritiene induca alterazioni a lungo termine nella funzione di altre cellule immunitarie

I dati del **team Goldstein** sono anche rilevanti per diverse ipotesi meccanicistiche alternative su come l'infezione da SARS-CoV-2 potrebbe causare perdita olfattiva a lungo termine. Una possibilità suggerita dal lavoro sui modelli animali è che un grave danno cellulare diffuso iniziale potrebbe sopraffare la capacità delle cellule staminali basali di ricostituire l'epitelio olfattivo.

In particolare, i **meccanismi centrali** possono contribuire alla perdita dell'olfatto correlata al PASC, giustificando ulteriori studi. Tuttavia, ci sono poche prove per l'infezione da SARS-CoV-2 dei neuroni negli esseri umani e almeno alcuni dei **cambiamenti di imaging segnalati nel bulbo o nella corteccia olfattiva** potrebbe riflettere un input periferico ridotto a causa del danno dell'epitelio olfattivo o della diffusione di intermedi infiammatori attraverso la piastra cribriforme.

Considerazioni

La pandemia ha evidenziato il bisogno insoddisfatto di nuovi trattamenti efficaci per la perdita olfattiva. Le intuizioni meccanicistiche fornite dai dati attualmente disponibili suggeriscono potenziali nuove strategie terapeutiche.

Ad esempio, il blocco selettivo delle cellule immunitarie proinfiammatorie locali o l'inibizione diretta di specifici nodi di segnalazione può interferire con un ciclo che interrompe l'omeostasi o la riparazione dell'epitelio olfattivo.

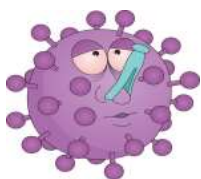
La posizione dell'epitelio olfattivo, che riveste la fessura olfattiva nel naso, è suscettibile di somministrazione topica localizzata di farmaci, che può fornire un mezzo per evitare effetti sistemici o fuori bersaglio di nuovi agenti terapeutici.

Ulteriori studi che testano le terapie in modelli animali e nell'uomo e un follow-up più lungo dei pazienti con disfunzione olfattiva PASC forniranno approfondimenti in corso sull'eziologia e la gestione della disfunzione sensoriale olfattiva.

*Finlay JB et al. [Persistent post-COVID-19 smell loss is associated with immune cell infiltration and altered gene expression in olfactory epithelium](#). *Sci Transl Med.* 2022 Dec 21;14(676):eadd0484.*

Allegato 1

A proposito di Anosmia



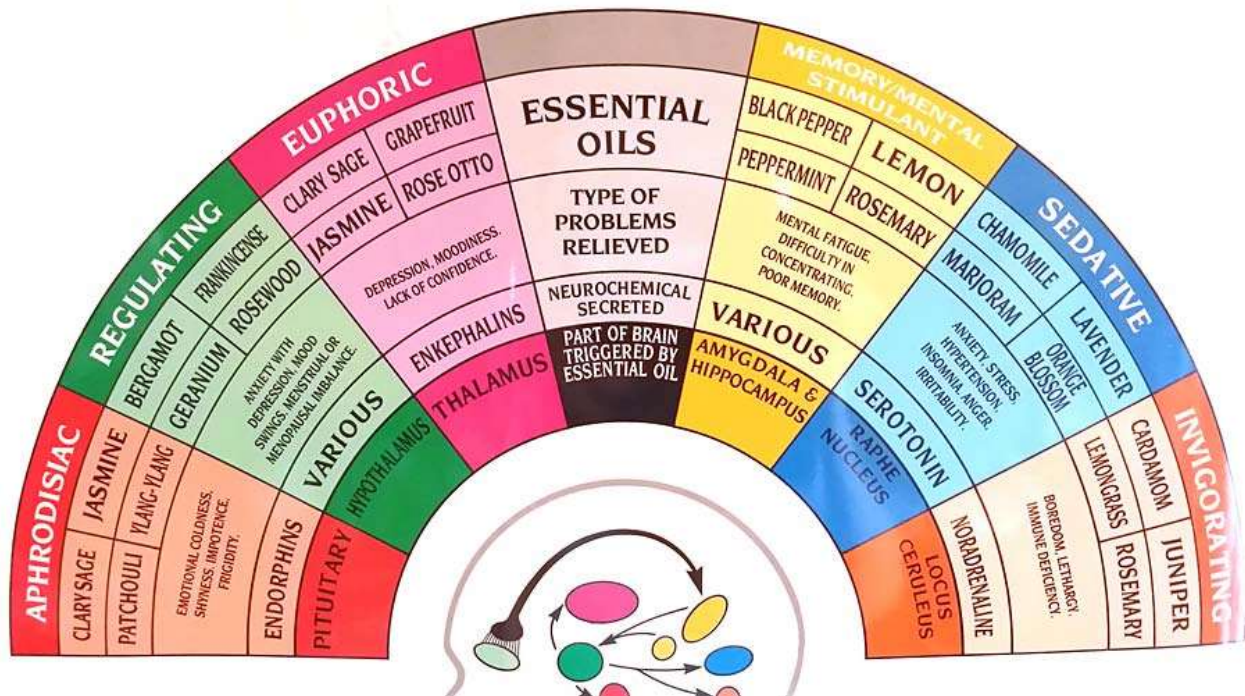
La diminuzione degli stimoli olfattivi sembra la conseguenza dell'alzarsi degli uomini da terra, dell'assunzione dell'andatura eretta, che rese visibili e bisognosi di difesa i genitali fino ad allora nascosti e provocò così il senso del pudore. All'inizio del fatale processo di incivilimento ci sarebbe

dunque l'ergersi dell'uomo da terra. La catena degli eventi, dopo esser passata attraverso la svalutazione degli stimoli olfattivi e l'isolamento del periodo mestruale, procedette di qui fino ad attribuire preponderanza agli stimoli visivi, alla visibilità dei genitali e, oltre, fino alla continuità dell'eccitamento sessuale, alla fondazione della famiglia e in tal modo fino alla soglia della civiltà umana.

Sigmund Freud, Il disagio della civiltà, 1929

Perché è così difficile darsi una misura nell'assunzione del cibo? Perché gusto e olfatto sono i sensi più arcaici che mettono in moto le zone più primitive del nostro cervello, quelle su cui i nostri ragionamenti, i nostri propositi, la nostra buona volontà hanno una scarsissima incidenza. Per questo la gola, più che un vizio capitale, è un richiamo alla nostra animalità, il retaggio della nostra antica condizione.

Umberto Galimberti, I vizi capitali e i nuovi vizi, 2003



Gli effetti ed i centri coinvolti nella Anosmia

Un anno fa... Baedeker/Replay del 27. Dicembre

L'interazione Orf9b-TOM70: una possibile strategia terapeutica anti-Omicron

Facciamo il punto: La diffusione esplosiva delle (VOC) SARS-CoV-2 e di Omicron in particolare ci dicono che il virus ha completato con successo un suo programma di adattamento attraverso un controllo radicale e minuzioso della nostra immunità innata. Una possibile spiegazione è nelle mutazioni a carico delle regioni non-spike che codificano per N, Orf9b e Orf6, antagonisti immunitari innati capaci di neutralizzare i nostri meccanismi di difesa che risultano così enormemente depotenziati. Utilizzando in maniera combinata proteomica, fosfoproteomica, l'RNAseq e diversi saggi di replicazione virale si è potuto dimostrare che gli isolati della variante Alpha (B.1.1.7) sopprimono in modo più efficace le risposte immunitarie innate nelle cellule epiteliali delle vie aeree, rispetto agli isolati della prima ondata dimostrando così che Alpha ha notevolmente aumentato l'RNA subgenomico e i livelli proteici di N, Orf9b e Orf6. In particolare l'espressione di Orf9b da sola ha soppresso la risposta immunitaria innata attraverso l'interazione con

TOM70, una proteina mitocondriale necessaria per l'attivazione di MAVS l' adattatore di rilevamento dell'RNA virale. Inoltre, l'attività di Orf9b e la sua associazione con TOM70 è regolata dalla fosforilazione. E' estremamente probabile che la neutralizzazione della soppressione immunitaria innata più efficace, mediata dalle proteine antagoniste virali, aumenti la probabilità di trasmissione di varianti alpha di successo e possa amplificare la replicazione in vivo e la durata dell'infezione. Le mutazioni al di fuori di Spike nell'adattamento di SARS-CoV-2 all'uomo è sottolineata dall'osservazione che esistono mutazioni simili nelle regioni regolatorie Delta e Omicron N/Orf9b. Interazioni Orf9b e TOM Il team dello Shanghai Center for Systems Biomedicine, Key Laboratory of Systems Biomedicine Shanghai Jiao Tong University ha localizzato Orf9b sulla membrana dei mitocondri da dove sopprime le risposte dell'interferone di tipo I (IFN-I) attraverso l'associazione con TOM70 la cui sovraespressione TOM70 potrebbe in gran parte neutralizzare questa inibizione (Liang et al 2020) Daniel Stetson della Howard Hughes Medical Institute della Yale University ha dimostrato come l'induzione di IFN-I sia un evento centrale della difesa immunitaria contro l'infezione virale. I recettori che attivano la produzione di IFN di tipo I coordinano la risposta immunitaria contro i patogeni intracellulari, inclusi virus, probabilmente batteri citosolici ed inoltre li rilevano e riconoscono i virus a RNA attraverso le vie di segnalazione RIG-I e MDA5 avviando così la risposta immunitaria adattativa.(Stetson D et al 2006). Inoltre i sensori citosolici intrinseci alla cellula potrebbero anche avere diverse funzioni oltre all'attivazione degli interferoni di tipo I, inclusa l'induzione dell'apoptosi e la modulazione dei ligandi che segnalano le cellule infette per l'eliminazione da parte delle cellule NK e dei CTL. Dopo l'esposizione a virus a RNA, viene avviata una risposta antivirale intracellulare mediante l'attivazione dei recettori RIG-I like. In particolare, quando RIG-I/MDA5 rileva l'RNA virale, attivano un complesso di segnalazione sulla membrana mitocondriale esterna, comprese le proteine adattatrici MAVS/TRAF3/TRAF6/TOM70, che alla fine porta alla produzione di IFN- β e all'induzione di un antivirale dell'ospite. (Liu XY 2010) Pertanto è possibile che SARS-CoV-2 Orf9b possa svolgere un ruolo critico nelle interazioni coronavirus-ospite, in particolare attraverso una soppressione delle risposte IFN-I attraverso l'associazione con TOM70 secondo due possibili spiegazioni: Innanzitutto, poiché HSP90 interagisce fisicamente con TOM70 e svolge un ruolo critico nella risposta dell'attivazione dell'IFN-I mediata da TOM70, Orf9b può competere con HSP90 per il legame a TOM70. In secondo luogo, TOM70 può essere essenziale per il metabolismo energetico mitocondriale. In particolare, i pazienti con funzione anormale del TOM70 soffrono di acidosi lattica. Interagendo con TOM70, Orf9b può indurre la produzione di acido lattico, che ha dimostrato di inibire le risposte IFN-I. (Zhang W 2019) Considerando il ruolo critico dell'IFN-I nella risposta antivirale umana, il ripristino della produzione di IFN-I nei pazienti con COVID-19 potrebbe rivelarsi una strategia terapeutica La strategia è una qualsiasi forma del pensiero che ha per obiettivo la modifica della realtà. (Luca Desiata) Riferimenti -Liang HW et al SARS-CoV-2 Orf9b suppresses type I interferon responses by targeting TOM70. Cell Mol Immunol. 2020 Sep;17(9):998-1000. -Stetson DB et al. Type I interferons in host defense. Immunity. 2006 Sep;25(3):373-81. -Liu XY et al. Tom70 mediates activation of interferon regulatory factor 3 on mitochondria. Cell Res. 2010 Sep;20(9):994-1011. -Zhang W et al. , Lactate Is a Natural Suppressor of RLR Signaling by Targeting MAVS. Cell. 2019 Jun 27;178(1):176-189.e15. # Finestra: Interferon ed immunità adattativa I nostri tessuti possiedono la straordinaria capacità di inibire la replicazione virale , di impedirne la diffusione ad altre cellule e di "reclutare" le popolazioni cellulari preposte alla risposta immunitaria istruendole su come intervenire contro i virus. Questa capacità, che rappresenta una delle componenti immunità adattativa innata tessutale, è regolata da specifiche glicoproteine della famiglia delle citochine identificate nel 1957 da Isaacs e Lindenmann definite interferoni (IFN). Dell'arsenale interferoni sono quattro quelli da valutare attentamente : alfa, beta, lambda e gamma capaci appunto di interferire direttamente sui meccanismi che i virus utilizzano per la loro riproduzione o indirettamente potenziando la risposta immunitaria attraverso l'azione dei macrofagi e degli NK . La sintesi degli interferoni viene innescata dai recettori PRR esposti sulla superficie cellulare Una sorta di "bio-radar " specializzati nella individuazione e nel riconoscimento di patogeni e di virus in particolare . Una volta intercettati e segnalata la loro presenza all'interno della cellula viene attivata una sequenza di "segnali" che innescano la sintesi degli interferoni alfa e beta. Questi vengono trascritti dagli IRF specifici fattori di trascrizione e tradotti da IF2. In particolare l' interferon alfa attiva una batteria di geni IGS (gene stimolati dagli interferoni) capaci di bloccare l'internalizzazione virale in atto e di inibire la replicazione di quelli già penetrati attraverso la produzione di PKR (Protein kinase-R) che fosforila l' IF2, un fattore di traduzione disattivandolo. In questo modo viene bloccata la replicazione virale e attivata la degradazione di quelli già

replicati. In relazione alla carica virale gli interferoni possono diffondere in gran parte delle cellule dello stesso tessuto in cui il virus non è ancora penetrato allertando una serie di geni che mettono fuori uso le macchine molecolari che il virus potrebbe utilizzare per replicarsi. Contemporaneamente l'interferon beta viene rilasciato nei linfonodi regionali e in circolo dove attiva le popolazioni cellulari della risposta immunitaria che iniziano la produzione di anticorpi specifici. La febbre e la spossatezza muscolare, segni prodromici di una affezione virale, sono in parte dovuti proprio alla sintesi iniziale di interferoni ci informano indirettamente che i virus sono all'interno delle nostre cellule e che stanno iniziando a riprodursi e che le nostre cellule sono pronte a neutralizzarli. La presenza dei virus è clinicamente accertata attraverso test molecolari "tamponi" e la sua attività attraverso test sierologici specifici (Gordon D 2020). Questo complesso sistema di sorveglianza e protezione cellulare può essere sabotato con una sorprendente rapidità dai coronavirus e dal sars-cov2 in particolare (Vabret N 2020). -Vabret N et al. Immunology of COVID-19: current state of the science. Immunity (2020). -Gordon DE et al. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug prepurposing. Nature (2020). Le ricadute cliniche e terapeutiche di questa "finestra" sono riportate in 5.Novembre Possedere autoanticorpi anti interferon aumenta la vulnerabilità a COVID-19. L'ennesima "trascuratezza diagnostica" di questa pandemia