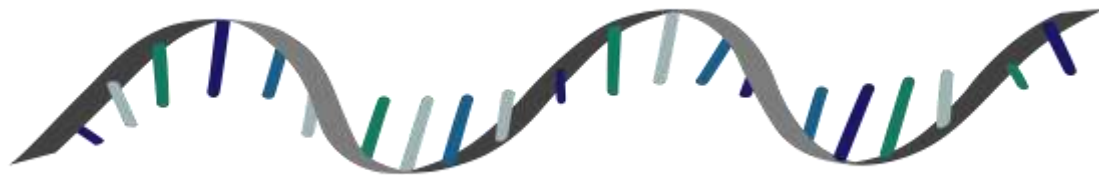


5. Gennaio

RNA: il "burattinaio" che dirige l'evoluzione del virus e neutralizza l'immunità dell'ospite

Non si può manovrare una marionetta con un solo spago.

Frank Herbert



Premessa

Il *dogma centrale* della biologia molecolare descrive il flusso di informazioni genetiche dal DNA alle proteine attraverso un **intermedio RNA** per molti anni considerato semplicemente come un **messaggero** che trasmette informazioni tra DNA e proteine.

I recenti progressi nella **tecnologia di sequenziamento** di nuova generazione, nella bioinformatica e nella biologia **dell'RNA non codificante (microRNA)** e della **interferenza dell'RNA (RNAi)** hanno evidenziato i molti ruoli importanti dell'RNA praticamente in ogni processo biologico.

Con l'avvento di tecnologie di sequenziamento profondo a prezzi accessibili, il rilevamento di varianti a bassa frequenza all'interno di popolazioni virali geneticamente diverse può ora essere ottenuto con profondità ed efficienza senza precedenti. I dati ad alta risoluzione forniti dalle tecnologie di sequenziamento di nuova generazione sono attualmente riconosciuti come il gold standard nella stima della diversità virale. Nell'analisi dei virus in rapida mutazione, i set di dati longitudinali di sequenziamento profondo dei genomi virali durante i singoli episodi di infezione, nonché a livello epidemiologico durante le epidemie, ora consentono analisi più sofisticate come le stime statistiche dell'impatto di modelli di mutazione complessi sull'evoluzione delle popolazioni virali sia all'interno che tra gli ospiti

Leung P et al. Understanding the complex evolution of rapidly mutating viruses with deep sequencing: Beyond the analysis of viral diversity. Virus Res. 2017 Jul 15;239:43-54.

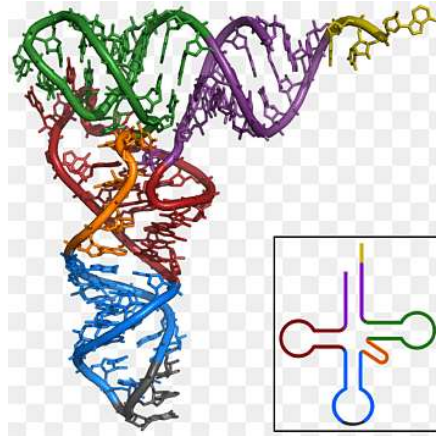
I microRNA sono brevi RNA non codificanti che svolgono un ruolo cruciale nella regolazione dell'espressione genica durante i processi cellulari. È noto che i miRNA codificati dall'ospite modulano la difesa antivirale durante l'infezione virale. Nell'ultimo decennio, è stato dimostrato che più virus a DNA e RNA producono miRNA noti come miRNA virali (v-miRNA) in modo da eludere la risposta immunitaria dell'ospite.

Mishra R et al. The Interplay Between Viral-Derived miRNAs and Host Immunity During Infection. Front Immunol. 2020 Jan 23;10:3079. doi: 10.3389/fimmu.2019.03079. PMID: 32038626; PMCID: PMC6989438.

L'interferenza dell'RNA (RNAi) è un antico processo mediante il quale gli RNA non codificanti regolano l'espressione genica in un modo sequenza-specifico. I componenti principali dell'RNAi sono piccoli RNA regolatori, lunghi circa 21-30 nucleotidi, inclusi piccoli RNA interferenti (siRNA) e microRNA (miRNA). Gli ultimi due decenni hanno visto notevoli progressi nella nostra comprensione dei meccanismi molecolari alla base della biogenesi di siRNA e miRNA. I recenti progressi hanno anche rivelato i ruoli regolatori cruciali svolti dai piccoli RNA in processi così diversi come lo sviluppo, l'omeostasi, l'immunità innata e

l'oncogenesi. Prove sempre più numerose indicano che l'RNAi inizialmente si è evoluto come meccanismo di difesa dell'ospite contro virus e trasposoni. La capacità del piccolo macchinario di biogenesi dell'RNA dell'ospite di riconoscere gli intermedi virali di replicazione dell'RNA a doppio filamento e le trascrizioni dei trasposoni è fondamentale per questo processo, così come il targeting degli RNA guidato dal piccolo RNA tramite l'accoppiamento di basi complementari. Collettivamente, queste proprietà conferiscono specificità e precisione senza pari al silenziamento genico mediato da RNAi come efficace meccanismo antivirale.

Zhou et al. RNA-based mechanisms regulating host-virus interactions. Immunol Rev. 2013 May;253(1):97-111. doi: 10.1111/imr.12053. PMID: 23550641; PMCID: PMC3695692.



Molti processi biologici cellulari e virali dipendono fortemente da specifiche strutture e/o **sequenze di RNA**, e tale dipendenza ha un impatto sull'evoluzione sia degli ospiti che dei virus.

Le difese antivirali del **sistema immunitario innato**, geneticamente meno flessibile della risposta adattativa, consentono una gamma molto ampia di riconoscimento e neutralizzazione da cui per i virus è *teoricamente* difficile sfuggire.

Per contrastare il **sistema immunitario innato**, i virus hanno sviluppato strategie per bloccarne l'attivazione, grazie ai loro tassi di mutazione estremamente elevati rispetto a quelli delle cellule eucariotiche (le polimerasi del **virus RNA** possiedono tassi di errore da 10^{-4} a 10^{-6} per ogni singola base

Sanjuan R, Domingo-Calap P. Mechanisms of viral mutation. Cell Mol Life Sci. (2016) 73:4433–48.

Di fatto si determina una *“corsa agli armamenti”* che spinge il sistema immunitario a sviluppare contromisure per riconoscere ed eliminare il virus, quelli che sopravvivono e si riproducono con successo sono quelli che si sono evoluti e che rubriciamo complessivamente come **varianti**.

Quando si analizzano le **pressioni evolutive** sia sul virus che sull'ospite, la ricerca si è spesso concentrata sulle **sequenze proteiche** necessarie a ciascuno.

L'esplosione di dati sulle funzioni dell'**RNA**, tuttavia, ci porta a considerare invece il ruolo dell'**RNA** stesso nel guidare *l'evoluzione dei virus* e dell'**immunità umana**.

L'**RNA** è una molecola multifunzionale. Dirige l'attività dei **ribosomi** interagendo con gli **RNA ribosomiali** nella sintesi proteica, ma regola anche l'attività cellulare interagendo direttamente con proteine o acidi nucleici e catalizzando numerose e complesse reazioni biochimiche (ribozimi).

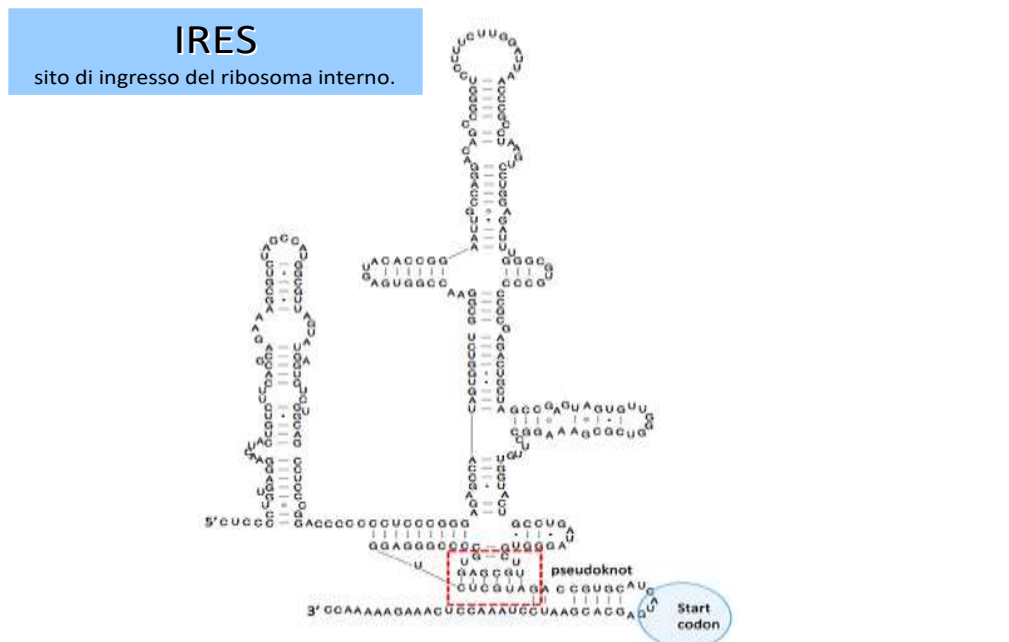
In effetti, *l'RNA* è coinvolto in quasi tutti i processi cellulari, inclusa la difesa immunitaria e svolge un ruolo centrale nello sviluppo dell'infezione virale.

Il segreto della multifunzionalità dell'*RNA* deriva dalla sua capacità di ripiegarsi in complesse strutture tridimensionali che possono cambiare la conformazione finale per effettuare diverse funzioni come legare altre molecole di RNA o proteine.

Batey RT, Rambo RP, Doudna JA. Tertiary motifs in RNA structure and folding. Angew Chem Int Ed Engl. (1999) 38:2326–43.

Queste *variazioni tridimensionali* possono essere stabilizzate da interazioni o strutture non canoniche (pseudonodi) che si verificano tra i nucleotidi di una coppia di basi della regione ad anello intramolecolare con nucleotidi complementari.

Ad esempio la figura mostra come all'interno dell'elemento strutturale complesso noto come **IRES**



mutazioni **a singolo nucleotide** possono alterare la struttura tridimensionale dell'RNA, con corrispondenti effetti **deleterii o positivi** sulla sua struttura delle proteine

Le strutture *dell'RNA* sono così allo stesso tempo **substrati e driver** dell'evoluzione virale. Ad esempio, una mutazione casuale può conferire una *nuova funzione benefica* (utile) a una data struttura proteica che verrà successivamente viene poi selettivamente favorita dall'evoluzione.

È noto che i virus sono estremamente parsimoniosi con i loro genomi per massimizzare la velocità di replicazione, utilizzando strategie come **frame di lettura sovrapposti** e **mRNA policistronici**. Allo stesso modo, spesso contengono strutture di RNA funzionali all'interno di regioni codificanti e non codificanti.

Ad esempio, i primi 500 nucleotidi del genoma dell'HIV-1 sono densamente ricchi di domini strutturati che controllano le fasi chiave del ciclo di replicazione, tra cui trascrizione, traduzione,

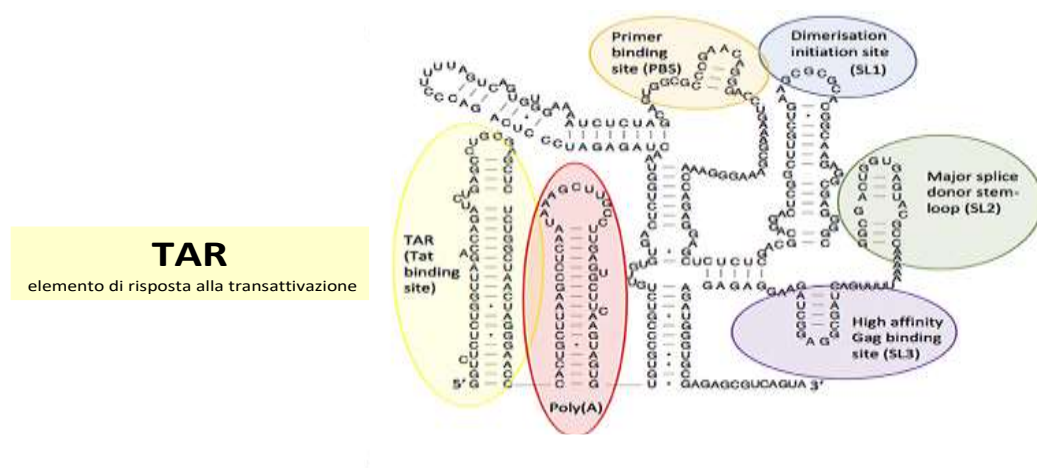
esportazione, impacchettamento e trascrizione inversa e interruttori strutturali che aiutano la loro regolamentazione

Le strutture di RNA che facilitano il **frameshifting** (regolatori di splicing) consentono ai virus di codificare più proteine da un singolo RNA aumentando così la sua virulenza

Il frameshifting ribosomiale, noto anche come frameshifting traslazionale o ricodifica traslazionale è un fenomeno biologico che si verifica durante la traduzione che si traduce nella produzione di più proteine uniche da un singolo mRNA. Il processo può essere programmato dalla sequenza nucleotidica dell'mRNA ed è talvolta influenzato dalla struttura secondaria tridimensionale dell'mRNA. [2] È stato descritto principalmente in virus (soprattutto retrovirus), retrotrasposoni ed elementi di inserzione batterica, e anche in alcuni geni cellulari.

Le strutture dell'RNA virale possono avere un impatto diretto o indiretto **sull'immunità cellulare**.

Nell'HIV-1, l'elemento di risposta alla **transattivazione TAR**, che regola la trascrizione dell'RNA genomico e l'espressione genica) svolge un ruolo centrale nel determinare il livello di virus rilevato dal sistema immunitario, meccanismo che nella forma più estrema porta alla completa evasione della risposta immunitaria attraverso la latenza



Le **strutture frameshift o regolatori di splicing** gestiscono qualitativamente e quantitativamente le quantità di proteine prodotte dai virus, e quindi quelle che vengono viste dal sistema immunitario *Naphtine S et al Protein-directed ribosomal frameshifting temporally regulates gene expression. Nat Commun. (2017) 8:15582.*

Il **sistema immunitario** rileva l'RNA virale utilizzando diversi meccanismi, incluso il riconoscimento dell'RNA virale a singolo filamento da parte dei **recettori Toll-like**. Il sistema di riconoscimento dell'RNA cellulare a doppio filamento non solo porta alla produzione di interferone, ma è stato **recentemente dimostrato** che sovraregola il **ligando NKG2D**, avvisando così le **cellule NK** della presenza di virus e consentendo la distruzione della cellula infetta

Esteso G et al. Innate immune recognition of double-stranded RNA triggers increased expression of NKG2D ligands after virus infection. J Biol Chem. (2017) 292:20472–80.

I virus hanno sviluppato strategie per mascherare il riconoscimento dei loro RNA, come il **5' cap-snatching**, ma la loro necessità di mantenere determinate strutture critiche di RNA significa che lottano per evitare del tutto il riconoscimento.

Dias A, et al. The cap-snatching endonuclease of influenza virus polymerase resides in the PA subunit. Nature (2009) 458:914–8.

Le strutture dell'**RNA virale** hanno anche influenzato l'evoluzione del sistema **immunitario innato**. Tuttavia, si sono evolute anche proteine antivirali più specifiche.

Le **proteine APOBEC3** prendono di mira i genomi retrovirali e sono incorporate nelle particelle virali. Queste **citidina deaminasi** derivate dalle cellule ospiti si legano all'RNA virale e lo mutano durante il processo di trascrizione inversa, portando a virus non funzionali.

Sheehy AM et al Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. Nature (2002) 418:646–50.

È stato riportato che le regioni del genoma sottoposte a una forte selezione purificatrice presentano una sottorappresentazione delle sequenze target di **APOBEC3**, una firma di una forte pressione per limitare l'insorgenza di mutazioni in alcune regioni del genoma

Geller R et al The external domains of the HIV-1 envelope are a mutational cold spot. Nat Commun. (2015) 6:8571.

Anche i retrovirus hanno sviluppato strategie dirette per contrastare queste proteine, spesso codificando proteine che si legano direttamente a esse. È interessante notare che gli **APOBEC3** hanno recentemente dimostrato di legarsi agli stessi motivi nel genoma dell'RNA virale della proteina strutturale NC virale coinvolta nell'imballaggio del genoma.

Ciò suggerisce che potrebbe essersi sviluppata una relazione competitiva tra la cellula ospite e i fattori virali, per il legame alle stesse strutture di RNA virale

York A et al The RNA binding specificity of human APOBEC3 proteins resembles that of HIV-1 nucleocapsid. PLoS Pathog. (2016) 12:e1005833. doi: 10.1371/journal.ppat.1005833

Con tempi di generazione estremamente brevi e un'elevata mutabilità, molti virus possono evolversi rapidamente e adattarsi agli ambienti in evoluzione. Questa capacità è generalmente vantaggiosa per i virus in quanto consente loro di eludere le risposte immunitarie dell'ospite, evolvere nuovi comportamenti e sfruttare nicchie ecologiche. Tuttavia, la selezione naturale genera tipicamente adattamento in risposta alle pressioni selettive immediate che un virus subisce nel suo attuale ospite.

Katrina Lythgoe del Dipartimento di Zoologia dell'università di Oxford



ritiene che alcuni virus, in particolare quelli caratterizzati da lunghe durate di infezione e replicazione in corso, possono essere suscettibili di **un'evoluzione miope** (cambiamento adattivo all'interno di un ospite, che limita la capacità del virus di trasmettersi a nuovi ospiti) per cui l'adattamento di un virus al suo attuale ospite sarà dannoso per la sua successiva trasmissione all'interno della popolazione ospite.

L'evoluzione virale miope può avere un impatto negativo sulla trasmissione virale tra gli ospiti. Ipotizza che i virus vulnerabili all'evoluzione miope possano esibire strategie che ne minimizzino gli effetti.

In questa situazione si realizzano bassi tassi di evoluzione all'interno dell'ospite, o l'istituzione di una linea germinale di virus che evita **un'evoluzione miope**.

Questi concetti potrebbero spiegare sul modo in cui alcuni virus sono stati in grado di stabilire e mantenere pandemie globali.

In caso di infezione di un nuovo ospite, i genomi di molti virus subiscono una rapida evoluzione adattativa, che può provocare la fuga dalle risposte immunitarie dell'ospite insieme ad aumenti dei tassi di crescita virale.

Sebbene questi cambiamenti genetici rendano i virus concorrenti superiori all'interno del loro attuale ospite, non favoriscono necessariamente una migliore trasmissione tra gli host.

Pertanto una logica conseguenza di questo processo è **l'evoluzione miope** per cui l'adattamento a livello all'interno dell'ospite avviene a scapito della diffusione del virus attraverso la popolazione ospite.

Lythgoe KA et al Short-Sighted Virus Evolution and a Germline Hypothesis for Chronic Viral Infections. Trends Microbiol. 2017 May;25(5):336-348.

Un anno fa... Baedeker/Replay del 4 gennaio 2022

L'epilogo di una tragicommedia chiamata NO-VAX

La tragicommedia è un'opera drammatica che fonde il tragico e il comico, come la parola stessa la definisce, è un genere teatrale che si affermò nei secoli XVI-XVII venendo incontro al gusto e al pubblico delle corti dell'epoca. Uno dei più importanti autori teatrali di tragicommedie Pierre Corneille con le parole su riportate spiega egregiamente come una tragicommedia barocca nasca dall'unione di più generi "classici". Personalmente reputo il movimento Anti-vax una tragicommedia dei nostri tempi con un prologo infodemico che ha generato una commedia imperfetta in cui convivono oscuri complotti e nobili principi di libertà e democrazia, il tutto terminato nella progressiva tragedia di alcuni suoi protagonisti passati dalle piazze ai sempre a più dimessi met-up per finire come i dieci piccoli indiani di Agata Christie intubati nelle rianimazioni e in gran parte a morire. Eppure i presupposti di questa tragicommedia c'erano tutti. Prima della esordio della campagna vaccinale dicembre 2020 (vedi Sinossi numero 5) dopo aver letto il lavoro "No-vax: New generation. The online competition between pro- and anti-vaccination views". Nature. 2020;582(7811):230- 233. (Johnson NF et al.2020), prevedevo la possibile nascita di un importante movimento no-vax nei confronti di futuri vaccini anti covid.

La sfiducia nelle competenze scientifiche alimentata in maniera irresponsabile dai media e dai social sta preparando la nascita di un gruppo di possibili non vax nei confronti di un futuro/prossimo vaccino anti Covid . L' Institute for Data, Democracy and Politics, della George Washington University, ha costruito una mappa formata da 3 miliardi di "internauti facebookiani" per sondare la loro opinione su pandemia e un possibile vaccino. Sta emergendo un paesaggio multiforme di una complessità senza precedenti che coinvolge quasi 100 milioni di individui suddivisibili in cluster altamente dinamici e interconnessi attraverso città, paesi, continenti e lingue. Attualmente sia i "rimedi casalinghi" che le "menzogne" sono ampiamente condivisi su Internet, così come i "consigli degli esperti" anche se si fa fatica a comprendere come la sfiducia

possa evolversi a livello di "sistema". Nella principale rete online del pianeta, sebbene di dimensioni complessive inferiori, i cluster anti-vaccinazione sono fortemente intrecciati con cluster degli indecisi, mentre i cluster pro-vaccinazione sono più periferici. Questo quadro teorico riproduce e prevede una crescita esplosiva nelle visioni anti-vaccinazione e ipotizza che queste saranno dominanti tra un decennio. (Johnson NF 2020).

Oggi, mentre guardo questa pandemia attraverso i social media, sono preoccupato. Chiaramente c'è una piccola, multiforme minoranza di persone che sono critiche, purtroppo in modo irrazionale, nei confronti della vaccinazione. Si sbagliano. Ma, quello che mi preoccupa di più è vedere nello spettro una maggioranza di vaccinati difendere la scienza ed etichettare come "antivax" qualsiasi "disinformazione pericolosa". Si tratta di quelli che definisco gli "iper-vax" che, hanno poca o nulla conoscenza sui reali contenuti dei problemi stessi che difendono a spada tratta. Sono tuttavia convinti di essere nel giusto e "moralmente" corretti, contribuendo a epurare dal mondo il pericoloso pensiero anti-vax. Ironia della sorte, finiscono per essere inconsapevolmente pericolosi come gli anti-vax perché stanno ulteriormente polarizzando un dibattito già di per se polarizzato e, peggio ancora, sono semplicemente ignoranti sui principi scientifici che difendono alimentando in maniera inconsapevole un odioso tribalismo sociale. Mentre continuiamo a interrogarci su domande senza risposta il tribalismo pandemico si esaspera sempre di più. Se vogliamo uscirne fuori da questa empasse dobbiamo smettere di etichettare come anti-vax chi fa domande lecite e sensate sui vaccini. Invece, dobbiamo accogliere il nuovo domande e invitare discussioni aperte e continue alla luce di informazioni affidabili e scientificamente condivise. In caso contrario, rischiamo una sterile e pericolosa polemica. Contemporaneamente dobbiamo isolare e neutralizzare nell'ambito degli "anti-vax" i "no-vax" chiusi a qualsiasi dialogo ed ancorati a poche informazioni scientifiche. A questa maggioranza, che va progressivamente ad auto estinguersi travolta dalle varianti e perché sprovvisti di un minimo di protezione indotta dai vaccini va dato il nostro conforto. Ritengo vergognoso e crudele strumentalizzare la loro morte esponendo i loro corpi intubati ed agonizzanti ad una gogna mediatica.

Mi viene voglia di invocare la pietas di Fëdor Dostoevskij la legge principale, forse l'unica vera legge dell'esistenza, la più preziose facoltà dell'anima umana. Quando l'uomo impietosendosi delle sofferenze di un essere vivente, dimentica se stesso e si immedesima nella situazione degli sventurati. Con questo sentimento si sottrae al suo isolamento ed acquista la possibilità di congiungere la sua esistenza a quella degli altri esseri.

Jules Michelet dai banchi della Sorbona ricordava che il giorno in cui la pietà diventa derisione comincia l'età della barbarie. Nei confronti della morte di un non-vax dobbiamo provare una pietà vera che non nasca dal disprezzo o da quell'atteggiamento apparentemente compassionevole nei confronti della creatura più debole che sottilmente nasconde in sé un'arroganza o l'intimo compiacimento di non essere in quello stesso stato miserabile. I media devono smettere di strumentalizzare e ridicolizzare le quotidiane morti dei non vax ma considerarli come isole che gridano bugie in un mare di incomprensione (Covidanno22). Tuttavia i "no-vax irriducibili" sono un pericolo non solo per se stessi ma per la comunità in cui vivono. Tra le innumerevoli teorie demenziali della cospirazione affermano che il 5G, che viene utilizzato nelle reti di telefonia mobile, è in qualche modo responsabile del coronavirus. Questa "teoria" è emersa per la prima volta tramite i post di Facebook più o meno nello stesso periodo in cui venivano i registrati i primi casi negli Stati Uniti, afferma che il 5G, attraverso non precisate "frequenze dello spettro elettromagnetico" (?) può sopprimere il sistema immunitario, rendendo così le persone più suscettibili a contrarre il virus. Il sistema immunitario può essere indebolito da ogni sorta di cosa: essere stanco un giorno o non seguire una buona dieta, o dopo una giornata deprimente, o dopo aver ascoltato l'ennesima giravolta politica di Matteo Salvini. Le onde radio del 5G dei telefoni cellulari si trovano all'estremità delle basse frequenze dello spettro elettromagnetico. Meno potenti della luce visibile, non sono abbastanza forti da danneggiare le cellule, a differenza delle radiazioni all'estremità della frequenza più alta dello spettro che include i raggi del sole e i raggi X medici. C'erano molte storie scientificamente ridicole sul 5G in circolazione prima dell'epidemia di coronavirus che i complottisti hanno utilizzato per la loro propaganda demenziale. Uno studio approfondito della ICNIRP International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection ha confutato queste affermazioni, affermando che non vi sono prove che le reti mobili causino il cancro o altre malattie e tanto

meno uno spillover e/o una diffusione pandemica. Una risoluzione analoga è stata rilasciata dall'OMS. A questa drammaticità si contrappone una notizia che più che ad una grande tragicommedia mi fa pensa piuttosto alle "comiche finale" cioè agli spettacolini nati al tempo degli avanspettacoli in cui terminato il programma principale venivano offerti al pubblico dei brevi "sketch " comici. In conseguenza dell'effetto covid- 5g in molti paesi Olanda in primis è esplosa la vendita di braccialetti Magnetix Smiley Kids, maschera per dormire Energy Armor, pendente Quantum e tanti altri accessori capaci di emettere ioni negativi capaci di neutralizzare l'ipotetico l'effetto pandemico del 5G. Le persone che indossano gioielli e maschere per dormire per "protegersi" dalla tecnologia wireless 5G potrebbero inavvertitamente danneggiare la loro salute. Questa è la conclusione dell'Autorità olandese per la sicurezza nucleare e la protezione dalle radiazioni, che ha emesso un avviso su 10 prodotti di consumo che emettono continuamente radiazioni ionizzanti. .

Il testo dell'annuncio ...

(per continuare vai all'originale)



3 minuti di relax