

06. Perché l'utilizzo degli interferoni potrebbe essere un'arma a "doppio taglio"

-Hadjadj J et al. *Impaired type I interferon activity and exacerbated inflammatory responses in severe Covid-19 patients.* bioRxiv (2020). -Blanco-Melo D et al. *Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19.* Cell (2020).

-Vabret N et al. *Immunology of COVID-19: current state of the science.* Immunity (2020). DOI: 10.1016/j.immuni.2020.05.002

-Gordon DE et al. *A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing.* Nature (2020). DOI: 10.1038/s41586-020-2286-9

-Ziegler C et al. *SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues.* Cell (2020).

-Lei J et al. *CT Imaging of the 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) Pneumonia.* Radiology (2020).

-Kindler E et al. *SARS-CoV and IFN: Too Little, Too Late.* Cell Host and Microbe (2016).

-Channappanavar R et al. *Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice.* Cell Host and Microbe (2020).

-Hung I et al. *Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir-ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial.*

Osservazioni propedeutiche. 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 (Blanco-Melo D, Vabret N 2020).

La notizia: Jerome Hadjadj e l'equipe di Frédéric Rieux Laucat, dell'Hopital Necker di Parigi, ha monitorato la risposta immunitaria nel sangue circolante dei pazienti COVID-19 dopo 8-12 giorni dall'insorgenza dei primi sintomi (Hadjadj J 2020). Utilizzando il *sequenziamento dell'RNA*, hanno potuto dimostrare che nei pazienti con "gravi" l'espressione degli "ISGgene" era inferiore rispetto ai pazienti con una infezione modesta. I livelli di *interferoni sierici* erano più bassi nei casi più gravi che in quelli lievi, ipotizzando che COVID possa determinare una riduzione significativa dei livelli della *risposta antivirale innata* e contribuire così alla progressione della malattia. (Gordon DE 2020). I bassi livelli di interferoni erano inoltre associati ad una maggiore carica virale plasmatica ed a concentrazioni più elevate di quelle citochine che hanno un ruolo centrale nella "tempesta citochinica" come *IL-6* ed il *TNF-α*. In una coorte selezionata i pazienti con marker infiammatori elevati gli *interferoni* erano talmente bassi da non poter essere dosati. Nel loro insieme, questi

dati portano a concludere che una bassa produzione di interferoni consente al COVID-19 di proliferare indisturbato ed il corollario inevitabile è che se la risposta dell'IFN a SARS-CoV-2 è troppo debole, la risposta terapeutica a questa condizione sembra semplice: dare ai pazienti più IFN. Purtroppo una serie di evidenze sperimentali ci dicono che questa strategia potrebbe non essere così scontata. Le numerose osservazioni su ACE2, (utilizzato dal recettore SARS-CoV-2 per ottenere l'ingresso nelle cellule) suggeriscono che l'intervento dell'IFN potrebbe paradossalmente amplificare la replicazione virale. Utilizzando i dati di *sequenziamento dell'RNA a cella singola*, il team di Ziegler durante la caratterizzazione di cellule umane e animali che esprimono ACE2 ha scoperto che l'mRNA di ACE2 veniva spesso co-espresso con ISG negli stessi tipi di cellule (Ziegler C 2020).Ciò ha portato, per adesso, a ipotizzare che anche l'espressione di ACE2 fosse controllata dalla segnalazione IFN. In effetti, utilizzando cellule epiteliali delle vie aeree *in vitro* si rileva una up-regulation del mRNA di ACE2 indicando che l'ACE2 stesso è un ISG. Ciò significa che il trattamento di pazienti COVID-19 con IFN potrebbe aumentare l'infezione stimolando un'espressione maggiore del recettore per il virus. I trattamenti a base di IFN possono quindi essere un'arma a doppio taglio. Sebbene prove aneddotiche suggeriscano che le terapie IFN potrebbero peggiorare la malattia SARS. (Lei J 2019), sono in molti a ritenere che una tempistica di somministrazione differente potrebbe essere non pericolosa ma addirittura efficace. Una rimodulazione della tempistica dell'utilizzo con interferoni intervento IFN può essere un fattore determinante per il suo successo. Osservazioni su modelli sperimentali (topo) hanno dimostrato che il trattamento con interferoni precoce è in grado di proteggere gli animali dall' infezione da coronavirusale (Ziegler C, Channappanavar R 2020). Inoltre, i risultati di recente studi clinici di fase II stanno dimostrando l'efficacia dell'IFN, se combinato con il farmaco antivirale *lopinavir*, nel ridurre i tempi di recupero dall'infezione SARS-CoV-2 (Channappanavar R, Hung I 2020).Il vantaggio aggiuntivo dell'inibizione virale diretta di *lopinavir* sarà sufficiente per superare gli effetti fuori bersaglio degli interferoni ?