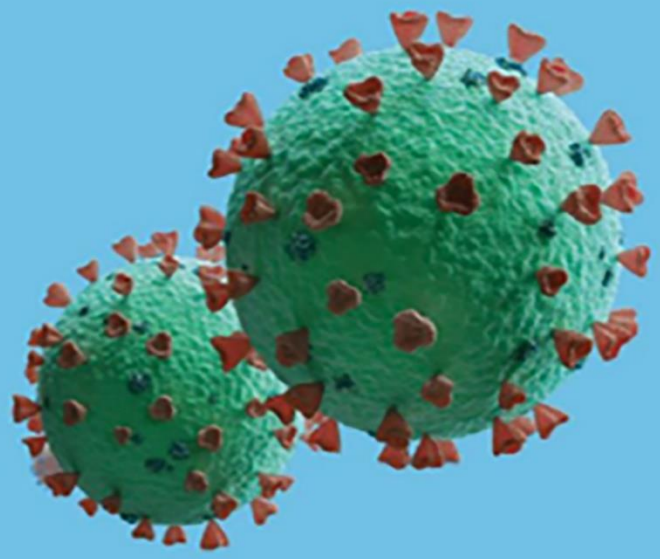
VACCINO COVID-19: LE PIATTAFORME INNOVATIVE A mRNA - PARTE II. TOSSICOLOGIA DEI VACCINI CONTENENTI LA SPIKE DEL SARS-COV-2

DR.SSA LORETTA BOLGAN

Dottore in Chimica e Technologia Farmaceutiche
Dottorato in Scienze Farmaceutiche
Consulente Scientifico
loretta.bolgan@gmail.com



FEDERAZIONE RINASCIMENTO ITALIA

rinascimentoitalia.it

Sommario

TOSSICOLOGIA DEI VACCINI CONTENENTI LA SPIKE DEL SARS-COV-2 2

MALATTIE DA PRIONI 2

Approfondimento La degradazione dell'mRNA *14*

Danni neurologici associati all'infezione da SARS-Cov-2 e alla formazione di proteine prioniche *19*

Malattia di Parkinson e prioni *27*

TOSSINE VIRALI E DANNI MICROVASCOLARI 30

Superantigeni *37*

Il sistema tossina-antitossina *39*

Le sequenze tossiche nella Spike *42*

SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA (RAS) E VACCINI COVID 45

LONG-COVID E DANNI DA VACCINO A LUNGO TERMINE 48

EPIGENETICA E CORONAVIRUS 54

RNA non codificanti come regolatori nell'epigenetica 57

Attività antivirale mediata dall'interferenza dell'RNA *63*

INTERFERENZA GENICA E SARS-Cov-2 72

MicroRNA e SARS-CoV-2 ..... *74*

miRNA ed evazione virale *81*

miRNA come marcatori del COVID-19 ..... *85*

Interferenza genica e vaccini ad acidi nucleici *86*

TOSSICOLOGIA DEI VACCINI CONTENENTI LA SPIKE DEL SARS-COV-2

Approfondimento

COVID-19 il vaccino
VACCINO COVID-19: LE PIATTAFORME VACCINALI TRADIZIONALI

In questa sezione si approfondiranno alcuni dei principali meccanismi d'induzione dei danni associati alla presenza della spike S del SARS-Cov-2 (in forma di proteina o del gene codificante).

MALATTIE DA PRIONI

Le proteine native e funzionali sono gli esecutori più importanti in una serie di processi biologici che vanno dalla sintesi di tutti i tipi di molecole biologiche, alle trasduzioni del segnale cellulare e alle reazioni biochimiche. [1]
In una cellula vivente, l'ambiente cellulare contiene molte macromolecole come proteine, polisaccaridi e lipidi che rendono l'ambiente cellulare molto affollato. [2]

Dopo essere state sintetizzate nelle cellule, e durante il ripiegamento e l'elaborazione in compartimenti specifici, le proteine non completamente ripiegate possono venire recuperate dagli chaperon molecolari o degradate nei proteasomi [3].
Se sfuggono a tali meccanismi di controllo della qualità cellulare, formeranno aggregati con conformazioni anormali. [4]

---

[1] Ma Q, Hu JY, Chen J, Liang Y.
The role of crowded physiological environments in prion and prion-like protein aggregation.
Int J Mol Sci. 2013;14(11):21339-21352. Published 2013 Oct 25. doi:10.3390/ijms141121339
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3856008/

[2] Zhou HX, Rivas G, Minton AP.
Macromolecular crowding and confinement: biochemical, biophysical, and potential physiological consequences.
Annu Rev Biophys. 2008;37:375-397. doi:10.1146/annurev.biophys.37.032807.125817
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2826134/

Pal PD, Dongre PM, Chitre AV.
"Is macromolecular crowding overlooked?"--Effects of volume exclusion on DNA-amino acids complexes and their reconstitutes.
J Fluoresc. 2014 Jul;24(4):1275-84. doi: 10.1007/s10895-014-1412-1. Epub 2014 Jun 5.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24894381/

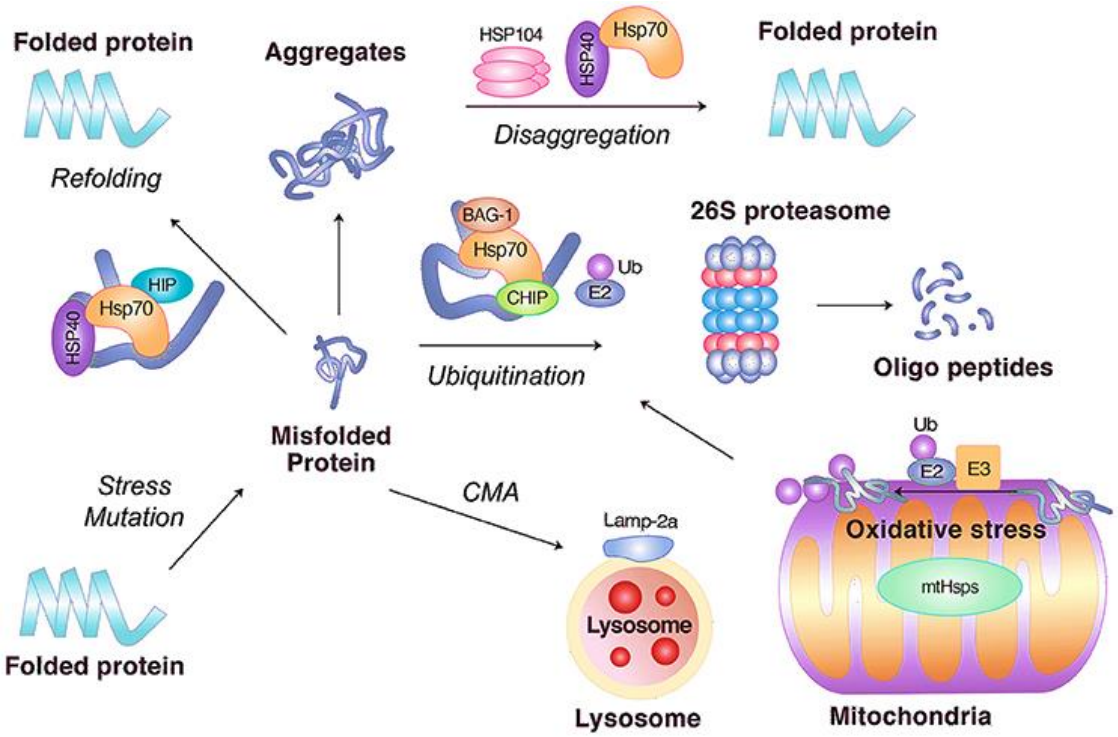
[3] Bellotti V, Chiti F.
Amyloidogenesis in its biological environment: challenging a fundamental issue in protein misfolding diseases.
Curr Opin Struct Biol. 2008 Dec;18(6):771-9. doi: 10.1016/j.sbi.2008.10.001. Epub 2008 Nov 13.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18952166/

Wickner S, Maurizi MR, Gottesman S.
Posttranslational quality control: folding, refolding, and degrading proteins.
Science. 1999 Dec 3;286(5446):1888-93. doi: 10.1126/science.286.5446.1888.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10583944/

Ciechanover A, Kwon YT.
Protein Quality Control by Molecular Chaperones in Neurodegeneration.
Front Neurosci. 2017 Apr 6;11:185. doi: 10.3389/fnins.2017.00185.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28428740/

[4] Lee SJ, Desplats P, Sigurdson C, Tsigelny I, Masliah E. Cell-to-cell transmission of non-prion protein aggregates
[published correction appears in Nat Rev Neurol. 2011 Jan;7(1):5]. Nat Rev Neurol. 2010;6(12):702-706. doi:10.1038/nrneurol.2010.145
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4996353/

Dobson CM.
Protein folding and misfolding.
Nature. 2003 Dec 18;426(6968):884-90. doi: 10.1038/nature02261.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14685248/



https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2017.00185/full

Il ruolo degli chaperoni molecolari nel PQC (Protein Quality Control). Gli chaperon molecolari, come Hsp70 in combinazione con il co-chaperone Hsp40, facilitano il ripiegamento delle proteine mal ripiegate. Se i clienti non riescono a ripiegare, gli chaperoni molecolari possono anche mediare la loro degradazione in collaborazione con percorsi proteolitici cellulari. In linea di principio, le proteine solubili misfolded sono prese di mira dall'UPS, in cui i client sono ubiquitati dalle ligasi E3 Ub seguite dalla degradazione attraverso il proteasoma 26S. Tuttavia, se i clienti sono inclini all'aggregazione o sfuggono alla sorveglianza dell'UPS, possono essere degradati dalle idrolasi lisosomiali, tramite macroautofagia o CMA. Come ultimo passaggio del PQC, gli chaperon molecolari possono disaggregare gli aggregati già formati. Sono anche mostrate proteine mal ripiegate indotte dallo stress ossidativo nei mitocondri.

Molte malattie neurodegenerative sono associate all'aggregazione di proteine specifiche e sono stati trovati depositi amiloidi di diverse proteine nel cervello dei pazienti con malattie da prioni, morbo di Alzheimer, morbo di Parkinson e sclerosi laterale amiotrofica (SLA).[5]

Le malattie neurodegenerative sono caratterizzate dal progressivo deterioramento di specifici sottoinsiemi di neuroni associati alla deposizione intra- o extracellulare di aggregati proteici insolubili.
I depositi extracellulari includono aggregati con immunoreattività per amiloide-β (Aβ) o prioni (PrPSc), mentre i depositi intracellulari includono la proteina tau e l'α-sinucleina (α-syn). [6]

Il termine "prione" è stato originariamente coniato per descrivere gli agenti infettivi proteici coinvolti nei disturbi neurologici dei mammiferi. Più recentemente, il prione è stato definito come un elemento genetico non cromosomico,

[5] Scialò C, De Cecco E, Manganotti P, Legname G.
Prion and Prion-Like Protein Strains: Deciphering the Molecular Basis of Heterogeneity in Neurodegeneration.
Viruses. 2019;11(3):261. Published 2019 Mar 14. doi:10.3390/v11030261
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6466326/

Legname G, Scialò C.
On the role of the cellular prion protein in the uptake and signaling of pathological aggregates in neurodegenerative diseases.
Prion. 2020;14(1):257-270. doi:10.1080/19336896.2020.1854034
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7757855/

Scialò C, Legname G.
The role of the cellular prion protein in the uptake and toxic signaling of pathological neurodegenerative aggregates.
Prog Mol Biol Transl Sci. 2020;175:297-323. doi: 10.1016/bs.pmbts.2020.08.008. Epub 2020 Sep 8.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32958237/

[6] Kovacs GG.
Molecular Pathological Classification of Neurodegenerative Diseases: Turning towards Precision Medicine.
Int J Mol Sci. 2016 Feb 2;17(2):189. doi: 10.3390/ijms17020189.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4783923/

a base di proteine, in grado di convertire le copie della propria variante benigna nella forma prionica, con nuovi effetti fenotipici che possono essere trasmessi attraverso il citoplasma.
In particolare, uno degli ipotetici meccanismi con cui una proteina verrebbe ereditata come elemento genetico non cromosomico, proponeva già nel 1967 che un prione fosse una forma modificata di una proteina cellulare affine, che può legarsi alla forma normale della stessa proteina (nel caso più semplice, formando un eterodimero di un prione e una copia normale della proteina) e quindi trasformare la forma normale in un'altra copia del prione [7].
Questa ipotesi è stata poi confermata dalle prove di laboratorio ed è alla base dell'attuale definizione di qualsiasi prione.[8]
Pertanto, la definizione canonica di prione prevede che un prione sia una proteina che è codificata dalla cellula ma è benigna e probabilmente utile per l'organismo, da qui la conservazione del suo gene nel genoma. [9]
Raramente, può essere trasformata in una forma prionica tossica o patogena; l'insieme completo dei fattori che causano tale trasformazione non è noto ma può includere lo stress ossidativo [10] o il legame della proteina con sostanze e metalli tossici. [11]

---

[7] Griffith JS.
Self-replication and scrapie.
Nature. 1967 Sep 2;215(5105):1043-4. doi: 10.1038/2151043a0.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4964084/

Scialò C, De Cecco E, Manganotti P, Legname G.
Prion and Prion-Like Protein Strains: Deciphering the Molecular Basis of Heterogeneity in Neurodegeneration.
Viruses. 2019;11(3):261. Published 2019 Mar 14. doi:10.3390/v11030261
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6466326/

[8] Chiesa R.
The elusive role of the prion protein and the mechanism of toxicity in prion disease.
PLoS Pathog. 2015;11(5):e1004745. Published 2015 May 7. doi:10.1371/journal.ppat.1004745
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4423772/

Allison Kraus, et al
Structure of an infectious mammalian prion
bioRxiv 2021.02.14.431014; doi: https://doi.org/10.1101/2021.02.14.431014
https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.02.14.431014v1.full.pdf
[9] Hafner Bratkovič I.
Prions, prionoid complexes and amyloids: the bad, the good and something in between.
Swiss Med Wkly. 2017 Apr 18;147:w14424. doi: 10.4414/smw.2017.14424.

[10] Singh N, Singh A, Das D, Mohan ML.
Redox control of prion and disease pathogenesis.
Antioxid Redox Signal. 2010;12(11):1271-1294. doi:10.1089/ars.2009.2628
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2864664/

Prasad KN, Bondy SC.
Oxidative and Inflammatory Events in Prion Diseases: Can They Be Therapeutic Targets?
Curr Aging Sci. 2019;11(4):216-225. doi: 10.2174/1874609812666190111100205.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6635421/

Lévy E, El Banna N, Baïlle D, Heneman-Masurel A, Truchet S, Rezaei H, Huang ME, Béringue V, Martin D, Vernis L.
Causative Links between Protein Aggregation and Oxidative Stress: A Review.
Int J Mol Sci. 2019 Aug 9;20(16):3896. doi: 10.3390/ijms20163896.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6719959/

[11] Singh N, Das D, Singh A, Mohan ML.
Prion protein and metal interaction: physiological and pathological implications.
Curr Issues Mol Biol. 2010;12(2):99-107. Epub 2009 Sep 18.
https://www.caister.com/cimb/v/v12/99.pdf

Borza LR. A
review on the cause-effect relationship between oxidative stress and toxic proteins in the pathogenesis of neurodegenerative diseases.
Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi. 2014 Jan-Mar;118(1):19-27. PMID: 24741770.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24741770/

Pritzkow S, Morales R, Lyon A, Concha-Marambio L, Urayama A, Soto C.
Efficient prion disease transmission through common environmental materials.
J Biol Chem. 2018;293(9):3363-3373. doi:10.1074/jbc.M117.810747
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5836136/

Toni M, Massimino ML, De Mario A, Angiulli E, Spisni E.
Metal Dyshomeostasis and Their Pathological Role in Prion and Prion-Like Diseases: The Basis for a Nutritional Approach.

Il prione causa la conversione di altre forme benigne della stessa proteina nella forma prionica, cioè si propaga all'interno dell'organismo ed è anche trasmissibile ad altri organismi o talvolta a specie diverse.

In origine, il termine *prione* (***pri***on) è stato coniato per riferirsi a particelle infettive proteiche (***pr***oteinaceous ***i***nfectious) che hanno dimostrato di essere in grado di causare encefalopatie spongiformi trasmissibili nei mammiferi. [12]
Il termine *prione-simile* (prion-like) invece è usato per indicare una proteina che presenta sia le somiglianze con il processo di replicazione e propagazione caratteristici dei prioni che la mancanza di infettività. [13]

Sulla base della sequenza, i prioni e i simil-prioni possono essere distinti in tre categorie:

- proteine prioniche,
- prionoidi transcellulari (proteine che dimostrano la propagazione simil-prionica tra cellule all'interno di un contesto di malattia)
- quasi-prioni (proteine che possono manifestare un comportamento simil-prionico, ma che non rientrano nelle definizioni di (1) o (2)). [14]

Le proteine prioniche identificate fino ad oggi possiedono regioni con una composizione amminoacidica "insolita".
Tali regioni, a seconda del metodo utilizzato per la loro previsione, sono chiamate "regioni con distorsioni sulla composizione" (CBR) o "regioni a bassa complessità" (LCR) . [15]
In sostanza, il termine CBR implica che tale regione è ricca o povera in particolari residui rispetto alla frequenza media di occorrenza di questi residui nel proteoma. [16]
Finora sono stati descritti due tipi di CBR per le proteine prioniche:

- sequenze ricche di glutammina (Gln) e / o asparagina (Asn); [17]
- sequenze ricche di residui idrofobici e non polari come Ile, Thr, Phe, Tyr, Leu e Val. [18]

Front Neurosci. 2017;11:3. Published 2017 Jan 19. doi:10.3389/fnins.2017.00003
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5243831/
[12] Prusiner SB.
Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie.
Science. 1982 Apr 9;216(4542):136-44. doi: 10.1126/science.6801762.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6801762/

[13] Harbi D, Harrison PM.
Classifying prion and prion-like phenomena.
Prion. 2014;8(2):161-165. doi:10.4161/pri.27960
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4189883/
[14] Harbi D,
PrionHome: a database of prions and other sequences relevant to prion phenomena.
PLoS One. 2012;7(2):e31785. doi: 10.1371/journal.pone.0031785. Epub 2012 Feb 20.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3282748/

[15] Coletta A, Pinney JW, Solís DY, Marsh J, Pettifer SR, Attwood TK.
Low-complexity regions within protein sequences have position-dependent roles.
BMC Syst Biol. 2010;4:43. Published 2010 Apr 13. doi:10.1186/1752-0509-4-43
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2873317/

[16] Harrison PM, Gerstein M.
A method to assess compositional bias in biological sequences and its application to prion-like glutamine/asparagine-rich domains in eukaryotic proteomes.
Genome Biol. 2003;4(6):R40. doi:10.1186/gb-2003-4-6-r40
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC193619/

[17] Michelitsch MD, Weissman JS.
A census of glutamine/asparagine-rich regions: implications for their conserved function and the prediction of novel prions.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97(22):11910-11915. doi:10.1073/pnas.97.22.11910
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC17268/

[18] Garbuzynskiy SO, Lobanov MY, Galzitskaya OV.
FoldAmyloid: a method of prediction of amyloidogenic regions from protein sequence.
Bioinformatics. 2010 Feb 1;26(3):326-32. doi: 10.1093/bioinformatics/btp691. Epub 2009 Dec 17.
https://academic.oup.com/bioinformatics/article/26/3/326/215657

Conchillo-Solé O, de Groot NS, Avilés FX, Vendrell J, Daura X, Ventura S.

Il termine LCR implica che una regione contiene poca diversità nella sua composizione amminoacidica.
Entro certi limiti, la bassa complessità è una conseguenza attesa di un arricchimento significativo con uno o più amminoacidi che riduce la rappresentazione di altri amminoacidi.

Le CBR / LCR influenzano la formazione dell'amiloide in due modi diversi:

- al ripiegamento iniziale della proteina mantengono la regione intrinsecamente disordinata e quindi disponibile per un cambio conformazionale,
- promuovono la formazione dell'amiloide attraverso la creazione di legami intermolecolari tra i filamenti Beta.

Il primo modo si presenta quando ci sono CBR / LCR ricchi di residui polari e carichi, che aumentano la solubilità della proteina. La composizione amminoacidica di tali regioni sembra essere più critica dell'esatta sequenza amminoacidica. [19]

La seconda modalità invece è facilitata da sequenze ripetitive, comprese quelle ricche di residui idrofobici [20], e in questo caso la posizione di ogni residuo è molto importante: lo stesso residuo può promuovere o bloccare la formazione dell'amiloide, a seconda del contesto.[21]
L'analisi delle proteine prioniche rivela che alcune di esse portano entrambi i tipi di CBR / LCR.[22]

AGGRESCAN: a server for the prediction and evaluation of "hot spots" of aggregation in polypeptides.
BMC Bioinformatics. 2007;8:65. Published 2007 Feb 27. doi:10.1186/1471-2105-8-65
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1828741/

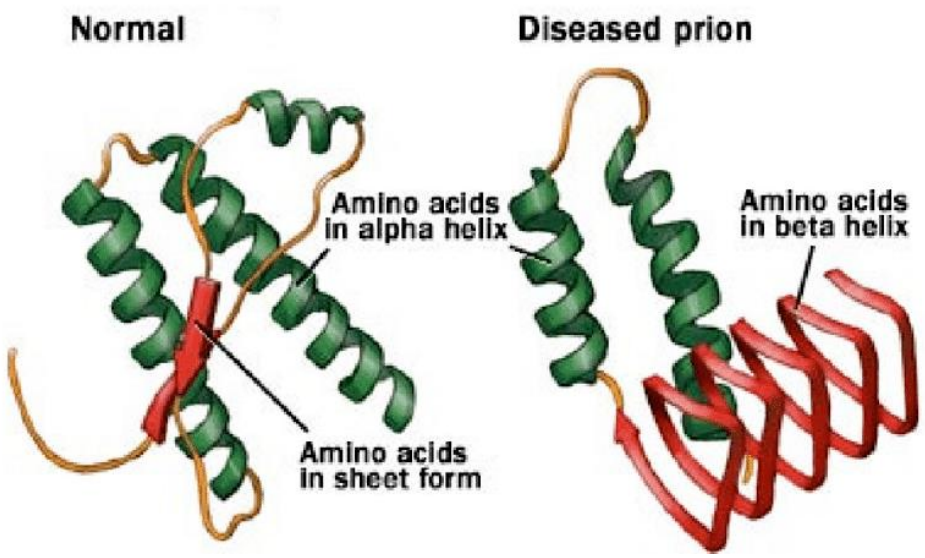
[19] Ross ED, Edskes HK, Terry MJ, Wickner RB.
Primary sequence independence for prion formation.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(36):12825-12830. doi:10.1073/pnas.0506136102
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1200301/

[20] Das S, Pal U, Das S, et al.
Sequence complexity of amyloidogenic regions in intrinsically disordered human proteins.
PLoS One. 2014;9(3):e89781. Published 2014 Mar 3. doi:10.1371/journal.pone.0089781
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3940659/

[21] Maurer-Stroh S, et al
Exploring the sequence determinants of amyloid structure using position-specific scoring matrices.
Nat Methods. 2010 Mar;7(3):237-42. doi: 10.1038/nmeth.1432. Epub 2010 Feb 14. PMID: 20154676.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20154676/

[22] Stephan JS, Fioriti L, Lamba N, Colnaghi L, Karl K, Derkatch IL, Kandel ER.
The CPEB3 Protein Is a Functional Prion that Interacts with the Actin Cytoskeleton.
Cell Rep. 2015 Jun 23;11(11):1772-85. doi: 10.1016/j.celrep.2015.04.060. Epub 2015 Jun 11.
https://www.cell.com/cell-reports/pdfExtended/S2211-1247(15)00492-1

Paudyal, Anuja & Gillock, Eric
FHSU Scholars Repository Polymorphism In The PrPC Prion Protein Gene In Pigs.
(2017). 10.13140/RG.2.2.12822.86089.
https://www.researchgate.net/publication/326330981_FHSU_Scholars_Repository_Polymorphism_In_The_PrPC_Prion_Protein_Gene_In_Pigs



Forma normale e anormale della proteina prionica.
La normale proteina prionica ha amminoacidi in alfa elica con meno del 5% di fogli beta.
La proteina prionica anormale è una proteina mal ripiegata, in cui la maggior parte delle eliche alfa viene convertita in fogli beta, risultando in oltre il 50% dei fogli beta.

https://www.researchgate.net/publication/326330981_FHSU_Scholars_Repository_Polymorphism_In_The_PrPC_Prion_Protein_Gene_In_Pigs

		Protein	Type; function
Harmful	Neurodegeneration	PrP^{Sc}	Prion; the causative agent of prion disease; prion strains and species barrier; transmissibility
		Amyloid β	Prionoid; the hallmark of Alzheimer's disease; cell-to-cell and *in vivo* spread upon inoculation documented; indications for the presence of the species barrier and strains
		Tau	Prionoid; tau deposits are the hallmark of Alzheimer's disease and other taupathies; cell-to-cell and *in vivo* spread upon inoculation documented; indications for the presence of the species barrier and strains
		α-synuclein	Prionoid; α-synuclein deposits are the hallmarks of Parkinson's disease, Lewy-body dementia, etc.; cell-to-cell and *in vivo* spread upon inoculation documented; indications for the presence of the species barrier and strains
	Systemic amyloidosis	Amyloid A	Prionoid; serum amyloid A is the hallmark of systemic amyloidosis; potential transmission through ingestion
Beneficial	Memory	CPEB	Prionoid; mediates the persistence of memory in *Aplysia*; acts as prion when heterologously expressed in yeast
		Orb2	Prionoid; mediates the maintenance of long-term courtship memory in *Drosophila*
		CPEB3	Prionoid; involved in the persistence of hippocampal-based explicit memory in mice; acts as prion when heterologously expressed in yeast
		Luminidependens	Prionoid; prion-like domain acts as prion when heterologously expressed in yeast
	Structure/storage	Curli (CsgA and CsgB)	Functional amyloid; *Escherichia coli* biofilm formation
		TasA	Functional amyloid; *Bacillus subtilis* biofilm formation
		Silkmoth chorion	Functional amyloid; eggshell formation
		Spider silk	Functional amyloid; spider silk formation
		Peptide hormones	Functional amyloid; storage of peptide hormones in high concentration in membrane-enclosed secretory granules; functional peptide monomers are released in extracellular environment
		Xvelo	Functional amyloid; forms Balbiani bodies in dormant oocytes from *Xenopus laevis*
	DNA replication control	RepA	Functional amyloid oligomer; prevents plasmid replication by handcuffing
	Catalytic	Pmel17	Binding of highly reactive melanogenic precursors and accelerated synthesis of melanin
"In between"	Non-Mendelian inheritance	Yeast prions	Prions; usually loss-of-function phenotypes, transmitted through mating, cell division or cytoduction; strains widely reported
	Signalling	MAVS	Non-amyloid helical polymer; acts as prion in yeast; crucial for defence against RNA viruses; linked to autoinflammatory syndromes
		NLRC4	Non-amyloid wheel-like structure; crucial in innate immune response against intracellular bacteria; linked to autoinflammatory syndromes
		ASC	Non-amyloid helical polymer; acts as prion in yeast; prionoid transfer among cells demonstrated; crucial in the innate immune response; linked to autoinflammatory syndromes
		RIP1/RIP3 necroptosome	Functional amyloid; drives necroptosis in virus infected cells

https://smw.ch/article/doi/smw.2017.14424
Un riepilogo di prioni, prionoidi e amiloidi funzionali esaminati. Si noti che la revisione si concentra solo sulle funzioni delle forme aggregate e alcune proteine hanno funzioni correlate alla loro forma monomerica

Prion disease	Affected species	Route of transmission
Iatrogenic CJD	Human	Accidental medical exposure to CJD-contaminated tissues or tissue products
Sporadic CJD	Human	Unknown. Theories include somatic mutation or spontaneous conversion of PrP^{C} to PrP^{Sc}
Variant CJD	Human	Ingestion of BSE-contaminated food or transfusion of blood or blood products from CJD-infected blood donor
Familial CJD	Human	Germ-line mutations of the *PRNP* gene
Gerstmann–Straussler–Scheinker syndrome	Human	Germ-line mutations of the *PRNP* gene
Kuru	Human	Ritualistic cannibalism
Fatal familial insomnia	Human	Germ-line mutations of the *PRNP* gene
Bovine spongiform encephalopathy	Cattle	Ingestion of contaminated food
Scrapie	Sheep, goats, mouflon	Acquired. Ingestion, horizontal transmission, vertical transmission unclear
Chronic wasting disease	Elk, deer, moose	Acquired. Ingestion, horizontal transmission, vertical transmission unclear
Transmissible mink encephalopathy	Mink	Acquired (ingestion) source unknown
Feline spongiform encephalopathy	Domestic and zoological cats	Ingestion of BSE-contaminated food
Exotic ungulate encephalopathy	Nyala, kudu	Ingestion of BSE-contaminated food

[tblfn1]BSE, bovine spongiform encephalopathy; CJD, Creutzfeldt–Jakob disease; *PRNP*, the gene that encodes PrP^{C}.

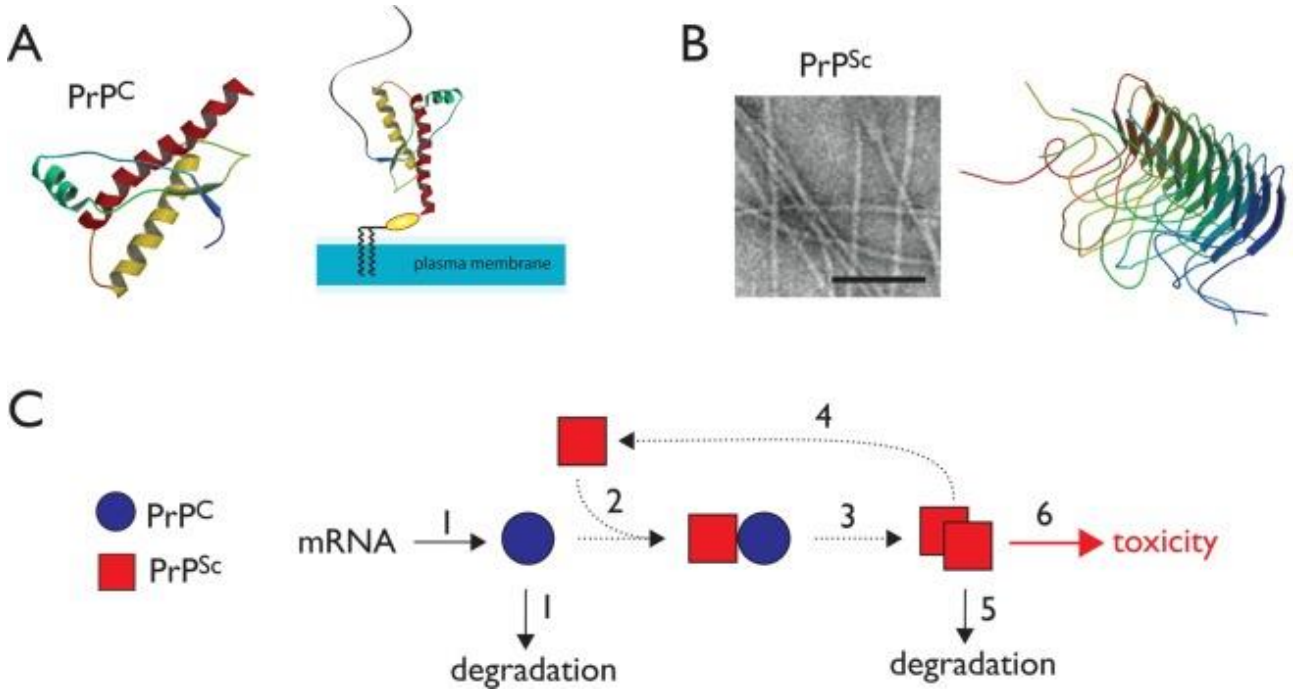
https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/jgv.0.000507

Nelle malattie da prioni, come già visto, la conversione della proteina prionica cellulare normale fisiologica (PrPC) nella conformazione patologica arricchita a foglietti-β della PrP-scrapie (PrPSc) è fondamentale per la malattia.

Secondo l'ipotesi simil-prionica, gli assemblaggi proteici mal ripiegati riscontrabili nelle malattie neurodegenerative diverse dalle patologie da prioni, agiscono come *semi di aggregazione* che possono reclutare le loro isoforme native e convertirle in molecole patologiche.
Il seme indica la più piccola quantità di una proteina mal ripiegata che, una volta rilasciata nello spazio extracellulare, è in grado di modellare e imporre la conversione patologica su molecole native e successivamente diffondersi in aree cerebrali collegate.[23]

[23] Maniecka Z, Polymenidou M.
From nucleation to widespread propagation: A prion-like concept for ALS.
Virus Res. 2015 Sep 2;207:94-105. doi: 10.1016/j.virusres.2014.12.032. Epub 2015 Feb 2.
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168170215000453?via%3Dihub

Ghaemmaghami S, Russo M, Renslo AR.
Successes and challenges in phenotype-based lead discovery for prion diseases.
J Med Chem. 2014;57(16):6919-6929. doi:10.1021/jm5001425
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4148153/

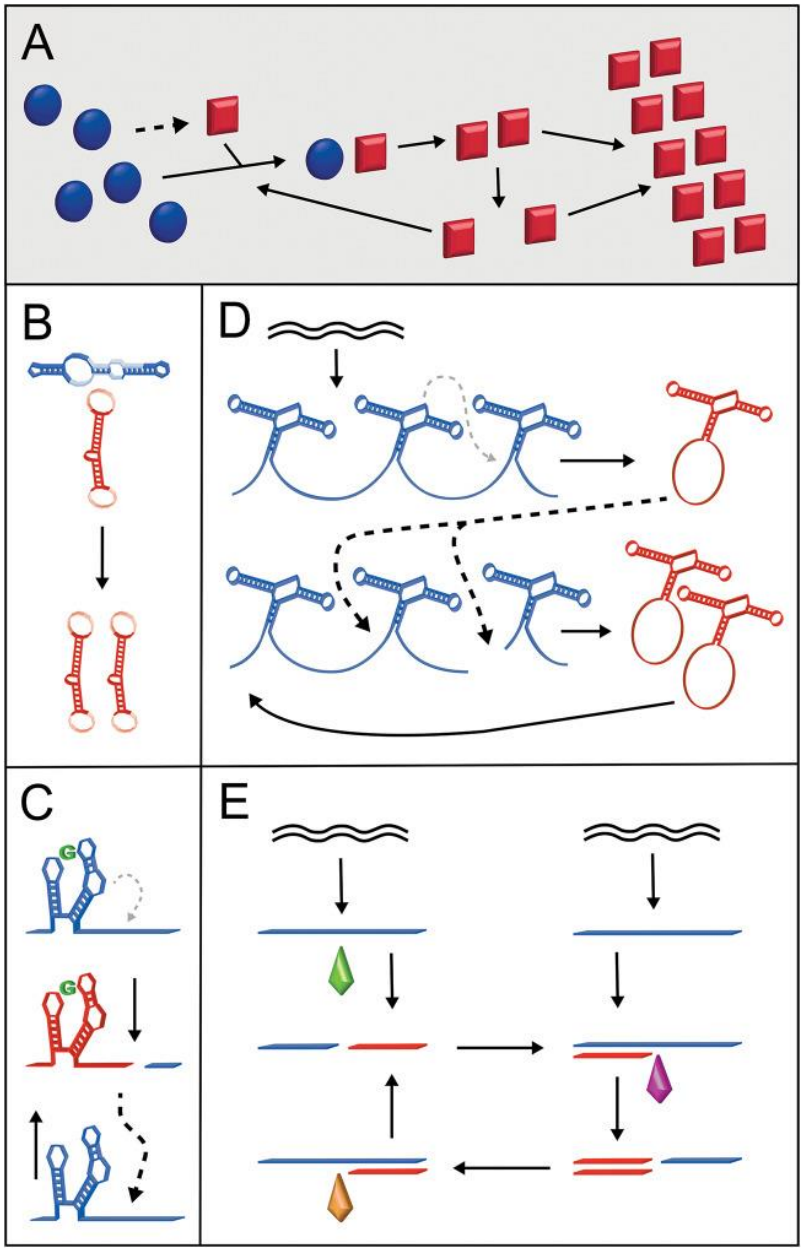


https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4148153/
Meccanismo di propagazione dei prioni e potenziali punti di intervento terapeutico.
(A) Viene mostrata la struttura NMR del dominio piegato della PrPC umana.
(B) PrPSc forma aggregati fibrillari come mostrato nella micrografia elettronica (la barra indica 1000 Å). La struttura del solenoide β del prione fungino Het-S fornisce un possibile modello della piega patogena.
(C) Un modello semplificato per la propagazione di PrPSc suggerisce diversi potenziali siti per l'intervento terapeutico.

Recentemente è stato proposto un ampliamento della definizione di prione, per includere le entità trasmissibili inducibili che subiscono conversione auto-catalitica e consistono di RNA piuttosto che di proteine.
Se visti in questo ambito, alcuni RNA presenti in natura possiedono molte delle proprietà caratteristiche dei prioni.[24]

Prioni proteici e RNA che possono comportarsi come prioni.
In tutti i pannelli, le linee e le forme blu scuro indicano le forme benigne di proteine o RNA, le linee e le forme rosse indicano le forme di prioni, le linee a freccia continue indicano la direzione della reazione e le linee a freccia spezzate indicano le scissioni auto-catalitiche (in grigio per le reazioni relativamente inefficienti e in nero per quelle più efficienti).
(A) Uno schema generale di induzione e propagazione dei prioni proteici. La forma benigna di una proteina viene convertita nella forma prionica solo raramente e spontaneamente (a sinistra), ma una volta formata, è in grado di trasformare più copie della forma benigna nella forma prionica (centro), e in molti casi per formare aggregati nella cellula (a destra).
(B) Il "prione viennese". **(C)** Un presunto derivato prionico del ribozima / riboswitch glmS. Viene mostrata la versione dipendente da GlcN6P descritta nel testo. La lettera verde G indica il ligando GlcN6P. Il ribozima ingegnerizzato richiede la presenza di un ligando per l'attività ma scinde con efficienza ridotta quando agisce in cis e con efficienza relativamente alta quando agisce in trans.
(D) Un presunto sistema derivato da viroide progettato per possedere proprietà prioniche. L'RNA viroide concatemerico a filamento positivo viene trascritto dalle copie di DNA integrate (linee ondulate nere). La regione HHR ingegnerizzata all'interno dell'RNA viroide elabora il concatemero nei viroidi di lunghezza unitaria con efficienza ridotta quando agisce in cis e con efficienza relativamente alta quando agisce in trans.
(E) Proprietà prioniche del meccanismo ping-pong della produzione di piRNA. Le copie genomiche dei cluster di piRNA e le copie di trasposoni attivi correlati all'evoluzione sono mostrate da linee ondulate nere e gli enzimi di diverse famiglie di proteine che elaborano i precursori del piRNA nei piRNA maturi sono rappresentati come pietre preziose di vari colori. Per la spiegazione vedi testo dell'articolo

[24] Mushegian AR, Elena SF.
RNAs That Behave Like Prions.
mSphere. 2020;5(4):e00520-20. Published 2020 Jul 1. doi:10.1128/mSphere.00520-20
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7333576/



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7333576/

E' stato infatti dimostrato che gli acidi nucleici catalizzano la conversione della proteina prionica alfa-elicoidale in oligomeri e amiloidi proteici beta-strutturati simili all'isoforma infettiva della proteina.
Allo stesso tempo, la proteina prionica, in maniera simile alle proteine che regolano i geni, si piega, si srotola e condensa l'acido nucleico.[25]

[25] Louka A, Zacco E, Temussi PA, Tartaglia GG, Pastore A.
RNA as the stone guest of protein aggregation.
Nucleic Acids Res. 2020;48(21):11880-11889. doi:10.1093/nar/gkaa822
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7708036/

Gomes MP, Vieira TC, Cordeiro Y, Silva JL.
The role of RNA in mammalian prion protein conversion.
Wiley Interdiscip Rev RNA. 2012 May-Jun;3(3):415-28. doi: 10.1002/wrna.118. Epub 2011 Nov 17.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22095764/

Kovachev PS, et al
RNA modulates aggregation of the recombinant mammalian prion protein by direct interaction.
Sci Rep. 2019 Aug 27;9(1):12406. doi: 10.1038/s41598-019-48883-x.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6712051/

Gomes MP, Vieira TC, Cordeiro Y, Silva JL.

Questi risultati sono coerenti con l'ipotesi che i polianioni endogeni (come acidi nucleici e glicosaminoglicani) siano in grado di accelerare la progressione della malattia da prioni agendo come cofattori che mediano l'interazione tra le molecole PrP (Cellulare) e PrP (Scrapie). [26]

Diversi studi hanno infatti rilevato la presenza di piccoli oligonucleotidi di DNA ed RNA poliadenilato in preparazioni di prioni di scrapie e proteine simil-prioniche altamente purificate.[27]
Diversi tipi di granuli contenenti complessi RNA-proteine, come i *corpi di processamento* (corpi P), i *granuli di stress* o i *granuli di trasporto* delle ribonucleoproteine offrono un possibile modello per la nucleazione degli aggregati e quindi l'inizio della malattia.
In condizioni fisiologiche, tali complessi proteina-RNA si formano transitoriamente in modo strettamente regolato.[28]

The role of RNA in mammalian prion protein conversion.
Wiley Interdiscip Rev RNA. 2012 May-Jun;3(3):415-28. doi: 10.1002/wrna.118. Epub 2011 Nov 17.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22095764/

Nandi PK.
Conformational changes of prion protein and nucleic acid arising from their interaction and relation of the altered structures in causing prion disease.
Mini Rev Med Chem. 2008 Jul;8(8):784-9. doi: 10.2174/138955708784912201.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18673134/

Grossman A, Zeiler B, Sapirstein V.
Prion protein interactions with nucleic acid: possible models for prion disease and prion function.
Neurochem Res. 2003 Jun;28(6):955-63. doi: 10.1023/a:1023215207981.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12718450/

26 Silva JL, Vieira TC, Gomes MP, Rangel LP, Scapin SM, Cordeiro Y.
Experimental approaches to the interaction of the prion protein with nucleic acids and glycosaminoglycans: Modulators of the pathogenic conversion.
Methods. 2011 Mar;53(3):306-17. doi: 10.1016/j.ymeth.2010.12.002. Epub 2010 Dec 8.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21145399/

Silva JL, Cordeiro Y.
The "Jekyll and Hyde" Actions of Nucleic Acids on the Prion-like Aggregation of Proteins.
J Biol Chem. 2016;291(30):15482-15490. doi:10.1074/jbc.R116.733428
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4957035/

[27] Meli M, Gasset M, Colombo G.
Are Amyloid Fibrils RNA-Traps? A Molecular Dynamics Perspective.
Front Mol Biosci. 2018;5:53. Published 2018 Jun 11. doi:10.3389/fmolb.2018.00053
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6004406/

Simoneau S, et al.
Synthetic scrapie infectivity: interaction between recombinant PrP and scrapie brain-derived RNA.
Virulence. 2015;6(2):132-44. doi: 10.4161/21505594.2014.989795. Epub 2015 Jan 13.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4601501/

Maniecka Z, Polymenidou M.
From nucleation to widespread propagation: A prion-like concept for ALS.
Virus Res. 2015 Sep 2;207:94-105. doi: 10.1016/j.virusres.2014.12.032. Epub 2015 Feb 2.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25656065/

[28] Balagopal V, Parker R.
Polysomes, P bodies and stress granules: states and fates of eukaryotic mRNAs.
Curr Opin Cell Biol. 2009 Jun;21(3):403-8. doi: 10.1016/j.ceb.2009.03.005. Epub 2009 Apr 23.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2740377/

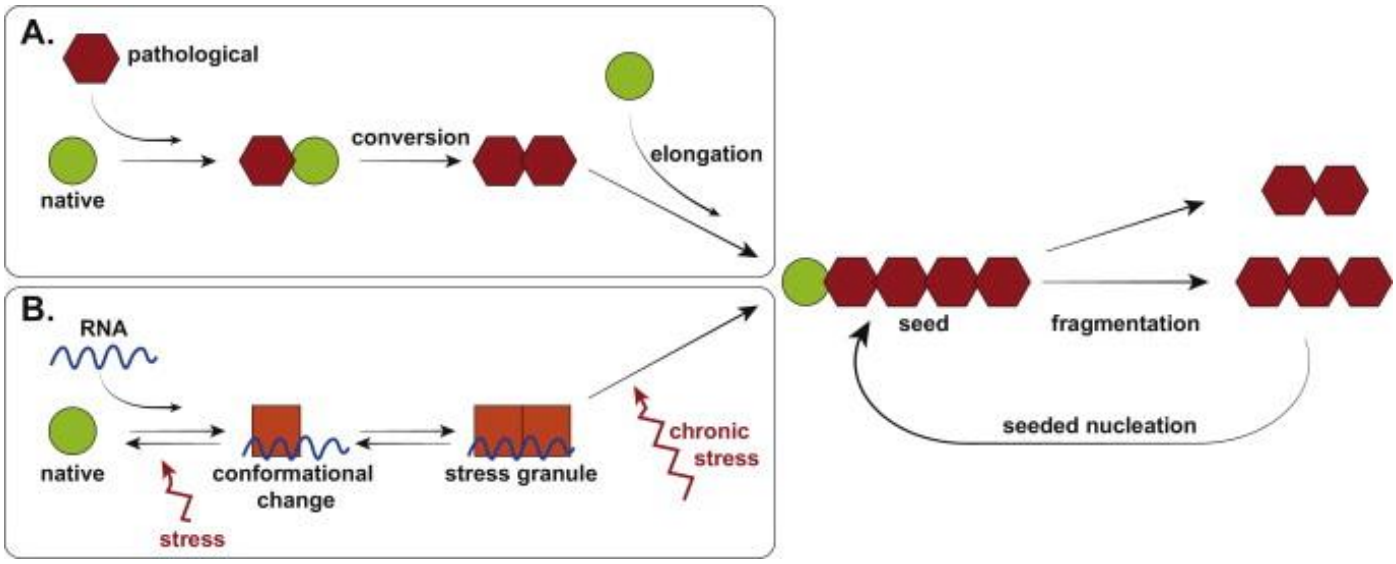
Decker CJ, Parker R.
P-bodies and stress granules: possible roles in the control of translation and mRNA degradation.
Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Sep 1;4(9):a012286. doi: 10.1101/cshperspect.a012286.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3428773/

Wolozin B, Ivanov P.
Stress granules and neurodegeneration.
Nat Rev Neurosci. 2019;20(11):649-666. doi:10.1038/s41583-019-0222-5
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6986315/

Buchan JR, Parker R.
Eukaryotic stress granules: the ins and outs of translation.
Mol Cell. 2009;36(6):932-941. doi:10.1016/j.molcel.2009.11.020
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2813218/

Tuttavia, in condizioni patologiche o a causa di uno stato di stress cronico, questi granuli possono agire come precursori delle inclusioni o pre-inclusioni patologiche, che possono trasformarsi in aggregati densi irreversibili in grado di agire come semi di aggregazione (Fig. B seguente).

Tale attività di supporto dell'RNA è stata identificata attraverso l'aggregazione in vitro della proteina prionica dei mammiferi [29], in quanto la generazione di prioni infettivi con proteina prionica cellulare purificata è stata ottenuta solo mediante l'aggiunta di RNA e fosfolipidi [30].
È anche concepibile che, a seconda del tipo di RNA associato all'interno dei granuli nucleanti, possano sorgere varie strutture proteiche mal ripiegate, che potrebbero portare a diversi sottotipi di aggregati.
Inoltre, i granuli preformati potrebbero svolgere un ulteriore ruolo tossico sequestrando alcune proteine ed RNA che sono importanti per la vitalità cellulare.[31]



https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168170215000453?via%3Dihub
Meccanismi di propagazione prionici.
(A) Nella visione classica dell'amplificazione simil-prionica della conformazione patologica della proteina, la proteina mal ripiegata interagisce con la sua controparte nativa e la converte in una molecola patologica. Questo aggregato aberrante si allunga per reclutamento e conversione di ulteriori proteine native, che producono un seme di aggregazione altamente ordinato. Quest'ultimo alla fine si frammenta, dando luogo a più semi, che inducono cicli successivi di nucleazione seminata e amplificano l'aggregazione proteica patologica e il fenotipo della malattia.
(B) Per le proteine leganti l'RNA con domini simil-prionici, come TDP-43 e FUS, la nucleazione degli aggregati può essere iniziata all'interno dei granuli di stress, che sono complessi proteina-RNA altamente dinamici e strettamente regolati che si formano in condizioni di stress cellulare. La formazione di granuli di stress coinvolge il legame dell'RNA e il cambiamento conformazionale e si traduce in un aumento della concentrazione di proteine locali. Nella malattia, potenzialmente come conseguenza di condizioni di stress cellulare cronico ancora non caratterizzate, le proteine leganti l'RNA altamente concentrate nei granuli di stress possono trasformarsi in pre-inclusioni e infine convertirsi in aggregati proteici irreversibili.

E' interessante ricordare che numerosi studi recenti dimostrano che le proteine amiloidi * sono anche coinvolte dal punto di vista funzionale in una varietà di processi biologici, dalla formazione di biofilm da parte dei batteri alla memoria a lungo termine negli animali.

---

[29] Deleault NR, Lucassen RW, Supattapone S.
RNA molecules stimulate prion protein conversion.
Nature. 2003 Oct 16;425(6959):717-20. doi: 10.1038/nature01979. PMID: 14562104.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14562104/

[30] Wang F, Wang X, Yuan CG, Ma J.
Generating a prion with bacterially expressed recombinant prion protein.
Science. 2010 Feb 26;327(5969):1132-5. doi: 10.1126/science.1183748. Epub 2010 Jan 28.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2893558/

[31] Maniecka Z, Polymenidou M.
From nucleation to widespread propagation: A prion-like concept for ALS.
Virus Res. 2015 Sep 2;207:94-105. doi: 10.1016/j.virusres.2014.12.032. Epub 2015 Feb 2.
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168170215000453?via%3Dihub

* *Gli amiloidi sono aggregati proteici fibrosi altamente ordinati e insolubili, noti principalmente a causa dell'associazione con una varietà di malattie umane e animali incurabili (chiamate amiloidosi), tra cui la malattia di Alzheimer (AD), la malattia di Parkinson (PD), il diabete di tipo 2 (T2D) e malattie da prioni.*
Oltre agli amiloidi patogeni, sono stati identificati amiloidi definiti funzionali, che partecipano in un'ampia gamma di funzioni fisiologiche in vari organismi, dai batteri agli eucarioti superiori come vertebrati, piante ed esseri umani.[32]
Recentemente è stato dimostrato che le proteine simil-prioniche si comportano come fattori epigenetici e sono un sistema in grado di rilevare e adattare la risposta cellulare in condizioni di stress.
Tali risposte vengono mantenute attraverso le conformazioni auto-modellanti dei prioni e trasmesse alla progenie della cellula che ha stabilito il tratto prionico.

In alternativa, i *mnemons* [33] sono proteine simil-prioniche il cui cambio conformazionale codifica per ricordi di eventi passati, ma non si propaga alle cellule figlie (quindi sono un sistema di "memoria" cellulare).
La reversibilità dei fenotipi codificati consente alle cellule di rimuovere tratti che non sono più adattativi sotto stress e gli chaperon svolgono un ruolo fondamentale in tutte le fasi delle funzioni delle proteine prioniche.
Le proteine che formano gli aggregati amiloidi sono altamente sovrarappresentate tra i fattori cellulari coinvolti in tutte le fasi del ciclo di vita dell'mRNA: dalla trascrizione e traduzione, alla conservazione e degradazione.[34]

Approfondimento La degradazione dell'mRNA

Il controllo della traduzione e della degradazione dell'mRNA è importante nella regolazione dell'espressione genica degli eucarioti.
In generale, la traduzione e le fasi del percorso principale del decadimento dell'mRNA sono in competizione tra loro. Gli mRNA che non sono coinvolti nella traduzione possono aggregarsi in granuli citoplasmatici di mRNP (ribonucleoproteine) denominati corpi di elaborazione (corpi P) e granuli di stress, i quali sono correlati ai granuli di RNA neuronali e della linea germinale che svolgono un ruolo importante nella localizzazione e nel controllo degli mRNA nei neuroni e negli embrioni.[35]

---

[32] Fowler DM, Koulov AV, Balch WE, Kelly JW.
Functional amyloid--from bacteria to humans.
Trends Biochem Sci. 2007 May;32(5):217-24. doi: 10.1016/j.tibs.2007.03.003. Epub 2007 Apr 6.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17412596/

Greenwald J, Riek R.
Biology of amyloid: structure, function, and regulation.
Structure. 2010 Oct 13;18(10):1244-60. doi: 10.1016/j.str.2010.08.009.
https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0969-2126%2810%2900308-4

Otzen D, Riek R.
Functional Amyloids.
Cold Spring Harb Perspect Biol. 2019 Dec 2;11(12):a033860. doi: 10.1101/cshperspect.a033860.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31088827/

Li L, McGinnis JP, Si K. Translational Control by Prion-like Proteins.
Trends Cell Biol. 2018;28(6):494-505. doi:10.1016/j.tcb.2018.02.002
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5962375/

March ZM, King OD, Shorter J.
Prion-like domains as epigenetic regulators, scaffolds for subcellular organization, and drivers of neurodegenerative disease.
Brain Res. 2016;1647:9-18. doi:10.1016/j.brainres.2016.02.037
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5003744/

[33] Caudron F, Barral Y.
Mnemons: encoding memory by protein super-assembly.
Microb Cell. 2014 Feb 25;1(3):100-102. doi: 10.15698/mic2014.01.134.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5349228/

[34] Nizhnikov AA, Antonets KS, Bondarev SA, Inge-Vechtomov SG, Derkatch IL.
Prions, amyloids, and RNA: Pieces of a puzzle.
Prion. 2016;10(3):182-206. doi:10.1080/19336896.2016.1181253
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4981203/

[35] Decker CJ, Parker R.

Esistono tre classi principali di enzimi di degradazione dell'RNA intracellulare (ribonucleasi o RNasi): le endonucleasi che tagliano l'RNA internamente, le esonucleasi 5' che idrolizzano l'RNA dall'estremità 5' ed esonucleasi 3' che degradano l'RNA dall'estremità 3'.

La maggior parte dei genomi codifica per diverse RNasi, spesso con attività sovrapposte, rendendo la ridondanza una caratteristica generale dei sistemi di degradazione dell'RNA.
Con alcune importanti eccezioni, la mutazione di un singolo enzima di degradazione dell'RNA non si traduce generalmente in un blocco completo alla degradazione dell'RNA né negli eucarioti né nei batteri. Ciò indica che più enzimi sono in grado di riconoscere gli stessi RNA target. Questa ridondanza presumibilmente migliora l'efficienza complessiva e la robustezza dei percorsi di degradazione.[36]

Una possibile spiegazione per l'estrema rapidità della degradazione dell'RNA è che gli RNA, che si accumulano in assenza di degradazione attiva, potrebbero interrompere la replicazione del DNA e altre attività più direttamente formando ibridi RNA-DNA.[37]
Inoltre, si prevede che l'accumulo di specie di RNA causi il sequestro delle proteine leganti l'RNA.
In alcuni casi, l'abbondanza di proteine specifiche può diventare limitante. Ad esempio, una cellula di lievito in rapida crescita sintetizza circa 2000 ribosomi al minuto, un numero vicino all'abbondanza stimata di diversi fattori di sintesi dei ribosomi .[38] Pertanto, un ritardo di appena 1 minuto nel riciclaggio di questi fattori porta al loro effettivo esaurimento.
Inoltre, l'abbondanza relativa di diversi fattori di legame dell'RNA può avere un impatto sostanziale, ad esempio nella selezione di siti alternativi di splicing del pre-mRNA, e alterazioni nei livelli relativi delle proteine leganti l'RNA costitutive possono portare a modelli di splicing tessuto-specifici. [39]

P-bodies and stress granules: possible roles in the control of translation and mRNA degradation.
Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012;4(9):a012286. Published 2012 Sep 1. doi:10.1101/cshperspect.a012286
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3428773/

Balagopal V, Parker R. Polysomes,
P bodies and stress granules: states and fates of eukaryotic mRNAs.
Curr Opin Cell Biol. 2009;21(3):403-408. doi:10.1016/j.ceb.2009.03.005
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2740377/

Kiebler MA, Bassell GJ.
Neuronal RNA granules: movers and makers.
Neuron. 2006 Sep 21;51(6):685-90. doi: 10.1016/j.neuron.2006.08.021.
https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0896-6273%2806%2900643-X

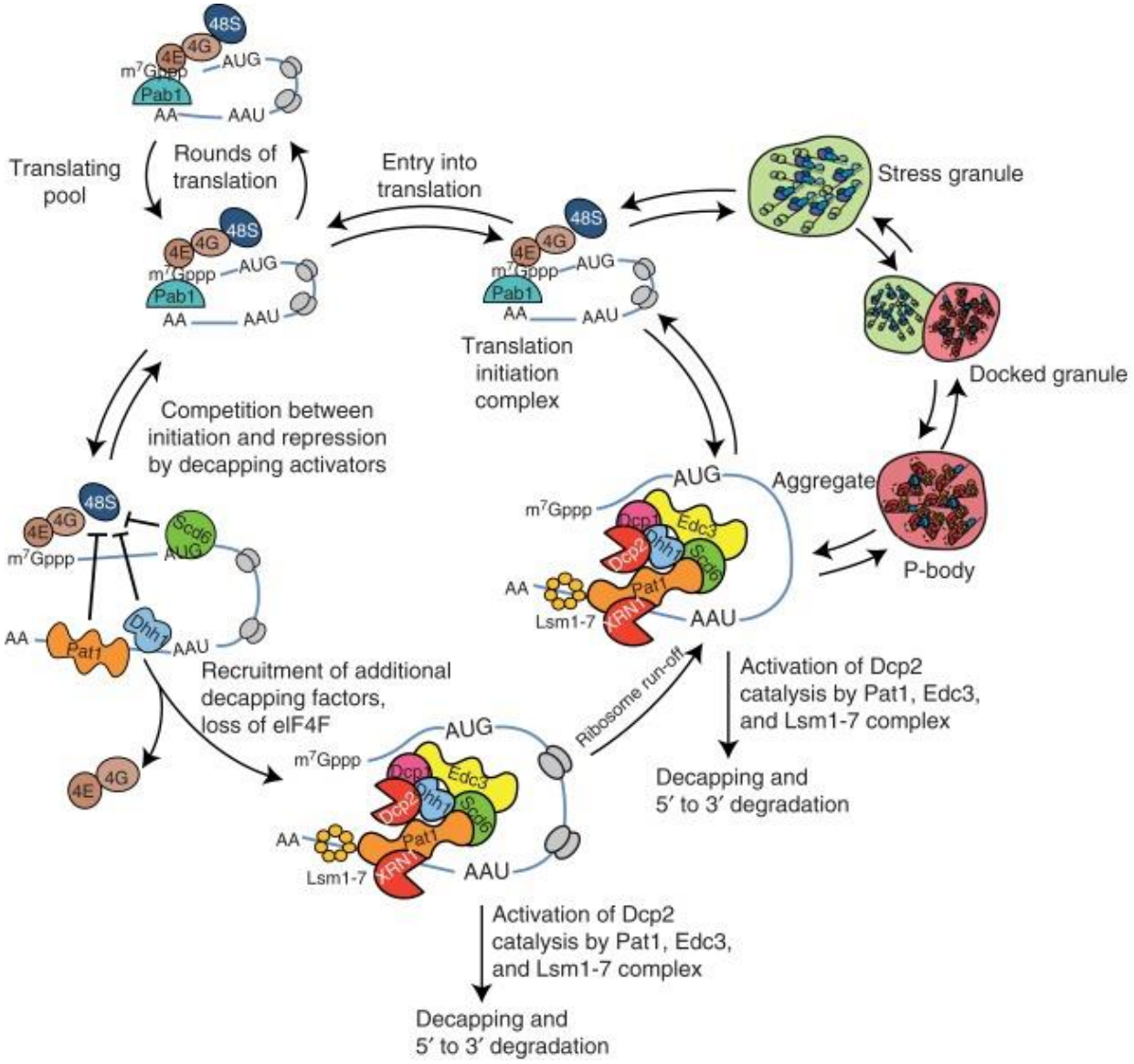
Seydoux G, Braun RE.
Pathway to totipotency: lessons from germ cells.
Cell. 2006 Dec 1;127(5):891-904. doi: 10.1016/j.cell.2006.11.016.
https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0092-8674%2806%2901472-3

[36] Houseley J, Tollervey D.
The many pathways of RNA degradation.
Cell. 2009 Feb 20;136(4):763-76. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.019.
https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0092-8674%2809%2900067-1

[37] Luke B, Panza A, Redon S, Iglesias N, Li Z, Lingner J.
The Rat1p 5' to 3' exonuclease degrades telomeric repeat-containing RNA and promotes telomere elongation in Saccharomyces cerevisiae.
Mol Cell. 2008 Nov 21;32(4):465-77. doi: 10.1016/j.molcel.2008.10.019.
https://www.cell.com/molecular-cell/pdf/S1097-2765(08)00759-4.pdf

[38] Ghaemmaghami S, Huh WK, Bower K, Howson RW, Belle A, Dephoure N, O'Shea EK, Weissman JS.
Global analysis of protein expression in yeast.
Nature. 2003 Oct 16;425(6959):737-41. doi: 10.1038/nature02046.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14562106/
[39] Kashima T, Rao N, David CJ, Manley JL.
hnRNP A1 functions with specificity in repression of SMN2 exon 7 splicing.
Hum Mol Genet. 2007 Dec 15;16(24):3149-59. doi: 10.1093/hmg/ddm276. Epub 2007 Sep 19.
https://academic.oup.com/hmg/article/16/24/3149/698403

Venables JP, et al
Multiple and specific mRNA processing targets for the major human hnRNP proteins.
Mol Cell Biol. 2008 Oct;28(19):6033-43. doi: 10.1128/MCB.00726-08. Epub 2008 Jul 21.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2547008/



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3428773/
Modello del "ciclo mRNA". Mostra il movimento dinamico dell'mRNA tra polisomi, corpi P e granuli di stress e le possibili transizioni di mRNP tra i diversi stati dell'mRNA.

Un'altra importante funzione della degradazione dell'RNA è la soppressione virale; il meccanismo di sorveglianza dell'RNA sarebbe in grado di compromettere, anche se non degradare completamente, i genomi dei virus a RNA a filamento singolo.
Non sorprende quindi che i virus a RNA a filamento singolo mostrino un'ampia gamma di adattamenti finali in grado di ostacolare la sorveglianza, tra cui il capping, la poliadenilazione, il mimetismo del tRNA, le forcine terminali e strutture sovrapposte 5'-3'.[40]

L'evoluzione di virus immuni a questa difesa innata ha ovviamente guidato l'emergere di sistemi molto più avanzati per la degradazione dell'RNA virale come il sistema siRNA e miRNA * (vedi in seguito approfondimento "epigenetica e coronavirus") nelle piante, negli invertebrati e negli animali.[41]

---

[40] Hong Y, Cole TE, Brasier CM, Buck KW.
Novel structures of two virus-like RNA elements from a diseased isolate of the Dutch elm disease fungus, Ophiostoma novo-ulmi.
Virology. 1998 Mar 1;242(1):80-9. doi: 10.1006/viro.1997.8999.
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682297989996?via%3Dihub

[41] Carthew RW, Sontheimer EJ.
Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs.
Cell. 2009;136(4):642-655. doi:10.1016/j.cell.2009.01.035

* Gli *RNA corti interferenti* (siRNA) e i *microRNA* (miRNA) sono RNA non codificanti con ruoli importanti nella regolazione genica.
Le prove attuali indicano che i miRNA e gli siRNA agiscono in combinazione con un insieme di proteine effettrici per modulare l'espressione genica, perturbando la traduzione e accelerando il decadimento dell'mRNA, e che ciascuno di questi processi regolatori può avvenire tramite più meccanismi. [42]

Gli siRNA e miRNA accelerano il decadimento dell'mRNA mediante due meccanismi distinti.
Quelli che sono completamente complementari (o quasi) ai loro mRNA target inducono una scissione endonucleolitica diretta all'interno della regione accoppiata di basi (Figura A) [43]
Questo evento porta al rapido decadimento dell'intero mRNA generando una coppia di frammenti di RNA, ciascuno recante un'estremità non protetta suscettibile all'attacco di 5'- o 3'-esonucleasi. [44]

Sebbene i miRNA condividano il potenziale per mediare la scissione interna dell'mRNA, raramente lo fanno nelle cellule animali a causa della complementarità inadeguata di quasi tutti gli mRNA. [45]
Invece, i miRNA accelerano il turnover dell'mRNA guidando la rimozione della coda 3'-poli (A) dagli mRNA a cui sono parzialmente complementari (Figura B).[46]

---

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2675692/

Wu L, Belasco JG.
Let me count the ways: mechanisms of gene regulation by miRNAs and siRNAs.
Mol Cell. 2008 Jan 18;29(1):1-7. doi: 10.1016/j.molcel.2007.12.010. PMID: 18206964.
https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S1097-2765%2807%2900881-7

Stanisławska J, Olszewski WL.
RNA interference--significance and applications.
Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2005 Jan-Feb;53(1):39-46.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15761375/

Bartel DP.
MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function.
Cell. 2004 Jan 23;116(2):281-97. doi: 10.1016/s0092-8674(04)00045-5. PMID: 14744438.
https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0092-8674%2804%2900045-5

[42] https://www.tesionline.it/appunti/biologia-molecolare/silenziamento-genico-post-trascrizionale---interferenza-dell-rna---e-mirna/255/113

http://www.unife.it/sveb/biotecnologie/insegnamenti/minisiti-anni-precedenti/c-i-tecnologie-biochimiche-e-ricombinanti/modulo-tecnologie-molecolari-e-ricombinanti/approfondimento-irna

[43] Zamore PD, Tuschl T, Sharp PA, Bartel DP.
RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals.
Cell. 2000 Mar 31;101(1):25-33. doi: 10.1016/S0092-8674(00)80620-0.
https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0092-8674%2800%2980620-0

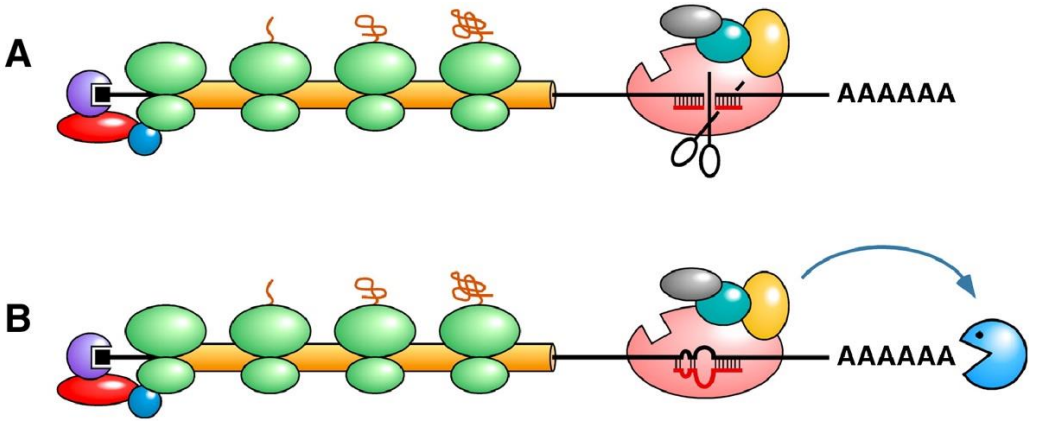
[44] Orban TI, Izaurralde E.
Decay of mRNAs targeted by RISC requires XRN1, the Ski complex, and the exosome.
RNA. 2005 Apr;11(4):459-69. doi: 10.1261/rna.7231505. Epub 2005 Feb 9.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1370735/

[45] Yekta S, Shih IH, Bartel DP.
MicroRNA-directed cleavage of HOXB8 mRNA.
Science. 2004 Apr 23;304(5670):594-6. doi: 10.1126/science.1097434.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15105502/

[46] Wu L, Fan J, Belasco JG.
MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Mar 14;103(11):4034-9. doi: 10.1073/pnas.0510928103. Epub 2006 Feb 22.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1449641/

Djuranovic S, Nahvi A, Green R.
miRNA-mediated gene silencing by translational repression followed by mRNA deadenylation and decay.
Science. 2012 Apr 13;336(6078):237-40. doi: 10.1126/science.1215691.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3971879/

Giraldez AJ, Mishima Y, Rihel J, Grocock RJ, Van Dongen S, Inoue K, Enright AJ, Schier AF.
Zebrafish MiR-430 promotes deadenylation and clearance of maternal mRNAs.

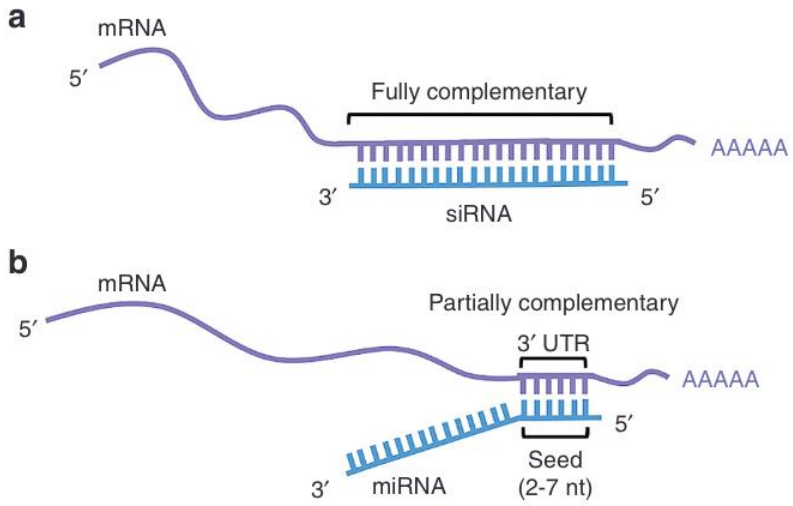


Meccanismi mediante i quali siRNA e miRNA attivano il decadimento dell'mRNA

(A) mRNA sottoposto a scissione endonucleolitica da parte di Ago2, come guidato da un siRNA o miRNA completamente complementare.

(B) mRNA sottoposto a rimozione di poli (A) da parte della Ccr4 / Not deadenilasi (PacMan), in quanto diretto da un miRNA parzialmente complementare.

https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S1097-2765%2807%2900881-7



Riconoscimento del target da parte di siRNA e miRNA.

(a) l'siRNA è di solito completamente complementare alla regione codificante del suo mRNA bersaglio;

(b) il miRNA è parzialmente complementare al suo mRNA bersaglio.
Il legame complementare normalmente si verifica nella regione "seed" (nucleotidi (nt) 2-7 dell'estremità 5') del miRNA e nell'UTR 3' dell'mRNA bersaglio

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4877448/

La deadenilazione e la conseguente perdita della proteina legante la poli(A) innescano il decapping del 5', esponendo così l'mRNA alla digestione esonucleolitica dall'estremità 5'.[47]
La capacità dei miRNA di accelerare il decadimento dell'mRNA ha due importanti conseguenze.
In primo luogo, diminuendo la concentrazione di trascritti mirati, diminuisce l'efficienza con cui viene tradotto ogni messaggio, con conseguente maggiore riduzione complessiva della sintesi proteica.
In secondo luogo, inducendo la degradazione del messaggero, i miRNA rendono irreversibile la loro influenza inibitoria sull'espressione genica, un risultato non ottenibile con la sola sottoregolazione traduzionale.

Una frazione significativa di mRNA silenti dal punto di vista traduzionale, compresi quelli inibiti dai miRNA, si trova concentrata nei corpi P. [48]

Science. 2006 Apr 7;312(5770):75-9. doi: 10.1126/science.1122689. Epub 2006 Feb 16.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16484454/
[47] Behm-Ansmant I, Rehwinkel J, Doerks T, Stark A, Bork P, Izaurralde E.
mRNA degradation by miRNAs and GW182 requires both CCR4:NOT deadenylase and DCP1:DCP2 decapping complexes.
Genes Dev. 2006 Jul 15;20(14):1885-98. doi: 10.1101/gad.1424106. Epub 2006 Jun 30.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1522082/

Eulalio A, Rehwinkel J, Stricker M, Huntzinger E, Yang SF, Doerks T, Dorner S, Bork P, Boutros M, Izaurralde E.
Target-specific requirements for enhancers of decapping in miRNA-mediated gene silencing.
Genes Dev. 2007 Oct 15;21(20):2558-70. doi: 10.1101/gad.443107. Epub 2007 Sep 27.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2000321/
[48] Eystathioy T, Chan EK, Tenenbaum SA, Keene JD, Griffith K, Fritzler MJ.
A phosphorylated cytoplasmic autoantigen, GW182, associates with a unique population of human mRNAs within novel cytoplasmic speckles.
Mol Biol Cell. 2002 Apr;13(4):1338-51. doi: 10.1091/mbc.01-11-0544.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC102273/

Questi aggregati ribonucleoproteici, che sono sufficientemente grandi da essere rilevati mediante microscopia a immunofluorescenza, contengono anche alte concentrazioni di miRNA, proteine associate a RISC (Ago1–4, GW182, ecc.) ed enzimi degradativi dell'RNA (Dcp1 / 2, Xrn1, Lsm1- 7, ecc.).[49]

Prove recenti suggeriscono che i corpi P probabilmente svolgono un ruolo sia come "cimiteri" in cui i gli mRNA associati a miRNA che sono già stati inattivati dal punto di vista traduzionale (e forse anche deadenilati) vengono inviati per decomporsi, o come depositi in cui gli mRNA inibiti transitoriamente dai miRNA possono essere stoccati fino al momento del bisogno.[50]

Dato che un RNA non può essere replicato e tradotto simultaneamente, questo evento di commutazione è richiesto dopo la traduzione di un fattore di replicazione sufficiente per consentire la replicazione virale senza impedimenti.
Infine, è da notare che la maggior parte degli organismi possiede anche una gamma di RNasi non specifiche extracellulari, tra cui l'RNasi A dei mammiferi e l'RNasi T1 fungina.
Gli esseri umani producono livelli abbondanti di RNasi A sulla pelle, nel sangue e altrove, e sembra molto probabile che questo agisca per ridurre la contaminazione con gli RNA, derivati internamente o esternamente, impedendo il loro ingresso in altre vie di elaborazione dell'RNA.

Danni neurologici associati all'infezione da SARS-Cov-2 e alla formazione di proteine prioniche [51]

Liu J, Valencia-Sanchez MA, Hannon GJ, Parker R.
MicroRNA-dependent localization of targeted mRNAs to mammalian P-bodies.
Nat Cell Biol. 2005 Jul;7(7):719-23. doi: 10.1038/ncb1274. Epub 2005 Jun 5.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1855297/

[49] Ingelfinger D, Arndt-Jovin DJ, Lührmann R, Achsel T.
The human LSm1-7 proteins colocalize with the mRNA-degrading enzymes Dcp1/2 and Xrnl in distinct cytoplasmic foci.
RNA. 2002 Dec;8(12):1489-501.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1370355/

van Dijk E, Cougot N, Meyer S, Babajko S, Wahle E, Séraphin B.
Human Dcp2: a catalytically active mRNA decapping enzyme located in specific cytoplasmic structures.
EMBO J. 2002 Dec 16;21(24):6915-24. doi: 10.1093/emboj/cdf678.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC139098/

Liu J, Valencia-Sanchez MA, Hannon GJ, Parker R.
MicroRNA-dependent localization of targeted mRNAs to mammalian P-bodies.
Nat Cell Biol. 2005 Jul;7(7):719-23. doi: 10.1038/ncb1274. Epub 2005 Jun 5.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1855297/

Sen GL, Blau HM.
Argonaute 2/RISC resides in sites of mammalian mRNA decay known as cytoplasmic bodies.
Nat Cell Biol. 2005 Jun;7(6):633-6. doi: 10.1038/ncb1265. Epub 2005 May 22.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15908945/

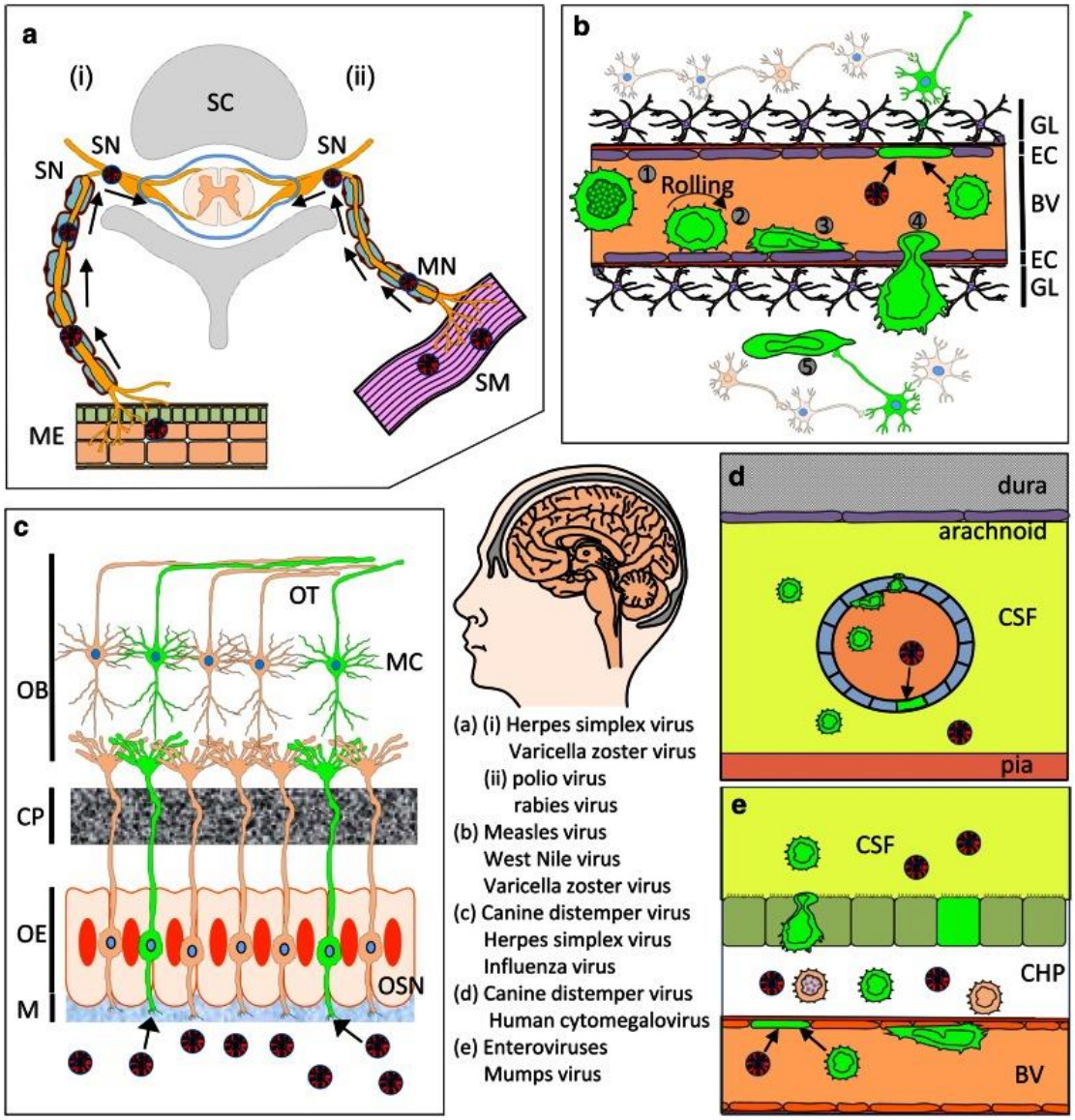
[50] Bhattacharyya SN, Habermacher R, Martine U, Closs EI, Filipowicz W.
Relief of microRNA-mediated translational repression in human cells subjected to stress.
Cell. 2006 Jun 16;125(6):1111-24. doi: 10.1016/j.cell.2006.04.031.
https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0092-8674%2806%2900580-0

Chu CY, Rana TM.
Translation repression in human cells by microRNA-induced gene silencing requires RCK/p54.
PLoS Biol. 2006 Jul;4(7):e210. doi: 10.1371/journal.pbio.0040210.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1475773/

Eulalio A, Behm-Ansmant I, Schweizer D, Izaurralde E.
P-body formation is a consequence, not the cause, of RNA-mediated gene silencing.
Mol Cell Biol. 2007;27(11):3970-3981. doi:10.1128/MCB.00128-07
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1900022/

[51] Pereira A.
Long-Term Neurological Threats of COVID-19: A Call to Update the Thinking About the Outcomes of the Coronavirus Pandemic.
Front Neurol. 2020;11:308. Published 2020 Apr 17. doi:10.3389/fneur.2020.00308

Alcuni virus possiedono un tropismo per il tessuto neurale e sono quindi classificati come neurotropici (ad esempio, virus dell'herpes simplex di tipo 1, virus della rabbia).
Questi virus entrano nel cervello attraverso varie vie, compreso il trasporto retrogrado lungo gli assoni, la diffusione ematogena attraverso la barriera emato-encefalica (BBB), del liquido emato-cerebrospinale, del liquido meningeo-cerebrospinale e mediante l'infezione diretta delle cellule endoteliali o la diffusione di leucociti infetti al cervello attraverso la BBB.
Una volta nel cervello, questi virus interrompono la complessa organizzazione dei circuiti neurali causando un danno neuronale diretto o indirettamente attraverso le vie di risposta immunitaria dell'ospite, causando neuropatologia e manifestazioni neurologiche immediate o ritardate [52].



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4713712/
Le vie del virus per la diffusione nel sistema nervoso centrale.
a Infezione dei nervi periferici**. (i)** Il virus si è diffuso dall'epitelio della mucosa (ME) ai neuroni sensoriali e autonomici (SN) in seguito all'infezione dei terminali degli assoni. Il trasporto assonale retrogrado provoca la diffusione del virus al midollo spinale (SC). **(ii)** L'infezione virale dei motoneuroni (MN) alle giunzioni neuromuscolari della muscolatura liscia (SM) provoca il trasporto assonale retrogrado al midollo spinale e al cervello.
b Barriera ematoencefalica (BBB). Linfociti infettati da virus (verde) **(1)** nei vasi sanguigni (BV) 'rotolano' lungo l'endotelio **(2)**, si attaccano alle cellule endoteliali **(3)** e attraversano lo strato di cellule endoteliali (EC) **(4)** e la glia limitans (GL). Si presume che la diffusione del virus ai neuroni **(5)** avvenga in seguito a contatti con neuroni non infetti. In alternativa, può verificarsi un'infezione virale diretta delle cellule endoteliali con successiva diffusione nel parenchima cerebrale con conseguente infezione neuronale.

---

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7182030/
[52] Ludlow M, Kortekaas J, Herden C, et al.
Neurotropic virus infections as the cause of immediate and delayed neuropathology.
Acta Neuropathol. 2016;131(2):159-184. doi:10.1007/s00401-015-1511-3
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4713712/

c Infezione dei neuroni olfattivi. Il virus presente nella mucosa (M) del tratto respiratorio superiore può infettare direttamente i neuroni sensoriali olfattivi (OSN) presenti nell'epitelio olfattivo (OE). Il trasporto assonale anterogrado porta alla diffusione del virus all'interno di fasci assonali che passano attraverso la piastra cribriforme (CP) nel bulbo olfattivo (OB). La diffusione trans-sinaptica alle cellule mitraliche (MC) provoca la diffusione del virus lungo il tratto olfattivo (OT) ad altre regioni del cervello.
d Barriera meningea sangue-liquido cerebrospinale (CSF). I leucociti infettati da virus nei vasi sanguigni meningei presenti nello spazio sub-aracnoideo tra la pia e il rotolo aracnoideo, si attaccano all'endotelio e alle cellule endoteliali trasversali nel liquor. L'infezione diretta delle cellule endoteliali può anche portare alla diffusione del virus nel liquor.
e Barriera sangue-liquido cerebrospinale. Leucociti infettati da virus o virus privi di cellule presenti all'interno dei vasi sanguigni del plesso coroideo (CHP) attraversano l'endotelio come descritto in precedenza in b, d. Ciò può portare all'infezione delle cellule epiteliali e al rilascio apicale del virus o alla diffusione di leucociti infettati da virus attraverso l'epitelio CHP nel liquor.

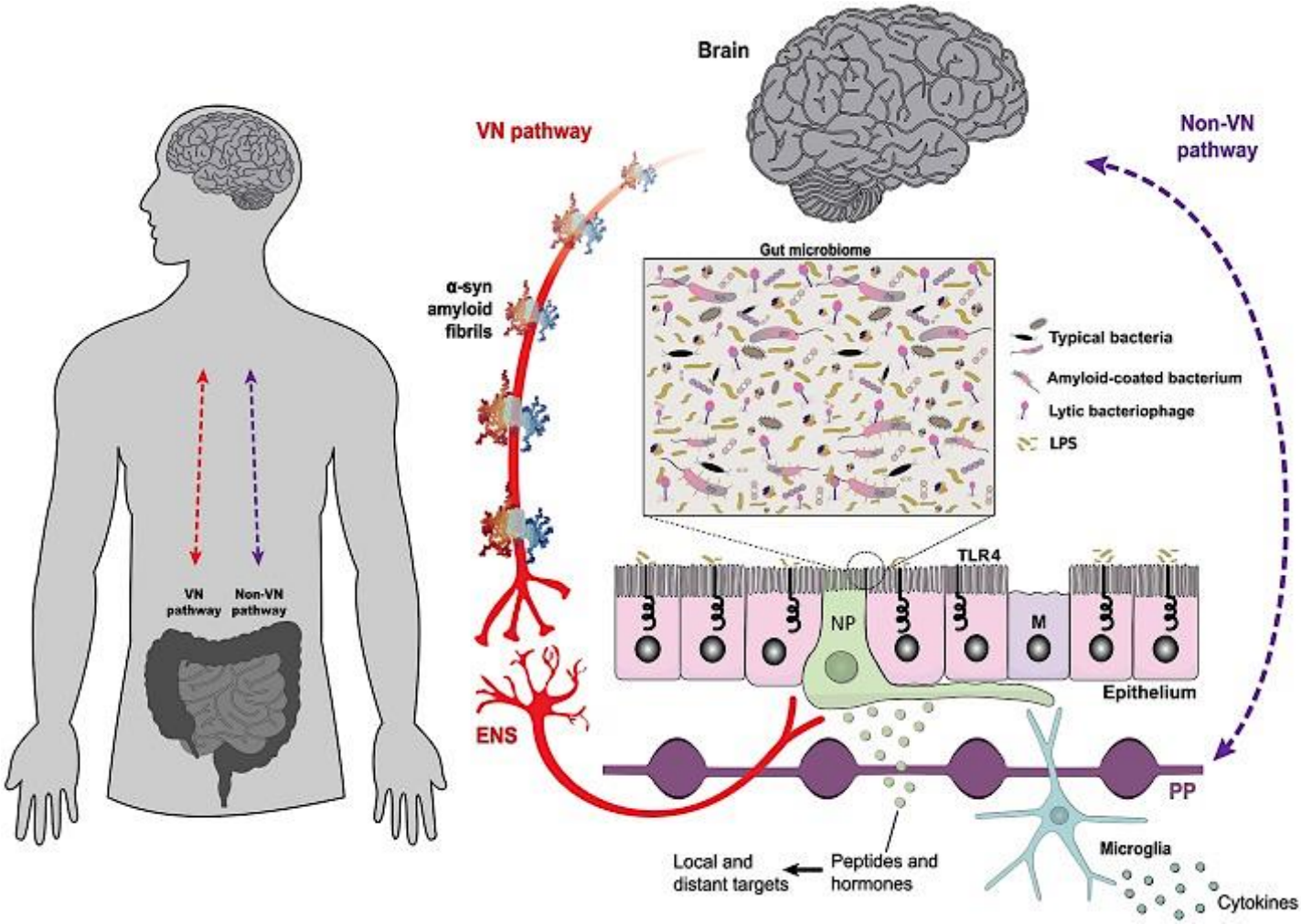
A breve termine, le infezioni virali neurotropiche possono causare infiammazione del parenchima cerebrale e portare a encefalite o risposte autoimmuni mirate al cervello in individui predisposti [53].
Possibili effetti a lungo termine sugli ospiti possono includere alterazioni sul comportamento emotivo e cognitivo, come mostrato negli animali da esperimento attraverso alterazioni persistenti nell'espressione dei geni coinvolti nella regolazione delle attività sinaptiche in aree cerebrali chiave [54].
Il trasporto assonale di virus neurotropi può anche trasformare proteine intrinsecamente disordinate, come l'α-sinucleina (α-syn), in leganti promiscui che possono formare aggregati tossici, e viaggiare lungo percorsi neuronali che partono dai neuroni enterici postgangliari fino ai nervi del sistema nervoso centrale e causare la morte cellulare in aree del cervello. (Ipotesi di Braak) [55]

[53] Savarin C, Bergmann CC.
Viral-induced suppression of self-reactive T cells: Lessons from neurotropic coronavirus-induced demyelination.
J Neuroimmunol. 2017 Jul 15;308:12-16. doi: 10.1016/j.jneuroim.2017.01.003. Epub 2017 Jan 11.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5474352/

[54] Beraki S, Aronsson F, Karlsson H, Ogren SO, Kristensson K.
Influenza A virus infection causes alterations in expression of synaptic regulatory genes combined with changes in cognitive and emotional behaviors in mice.
Mol Psychiatry. 2005 Mar;10(3):299-308. doi: 10.1038/sj.mp.4001545.
https://www.nature.com/articles/4001545

[55] Braak H, Rüb U, Gai WP, Del Tredici K.
Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen.
J Neural Transm (Vienna). 2003 May;110(5):517-36. doi: 10.1007/s00702-002-0808-2.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12721813/

Sharma S, Awasthi A, Singh S.
Altered gut microbiota and intestinal permeability in Parkinson's disease: Pathological highlight to management.
Neurosci Lett. 2019 Nov 1;712:134516. doi: 10.1016/j.neulet.2019.134516. Epub 2019 Sep 24. PMID: 31560998.
https://www.e-jmd.org/journal/view.php?number=246



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6558190/
L'epitelio intestinale è un'interfaccia multifunzionale. L'interazione bidirezionale tra il cervello e l'intestino è mediata da vie neurali, come il nervo vago (pathway VN), e vie umorali, come il tessuto linfatico e il flusso sanguigno (pathway non VN). Un monostrato di cellule epiteliali separa il lume intestinale e il complesso microbioma intestinale dai tessuti linfoidi e nervosi enterici sottostanti. La struttura delle fibrille amiloidi alfa-sinucleina (PDB 2N0A) si basa sui dati molecolari a risoluzione atomica di NGL Viewer [56]. I membri del microbioma intestinale e dei loro composti extracellulari possono innescare risposte nella VN attraverso cellule enteroendocrine, che vengono contattate dai terminali del nervo vago attraverso strutture specializzate chiamate neuropodi (NP) [57]. Gli antigeni microbici possono attraversare l'epitelio intestinale attraverso cellule di microfold, giocando un ruolo centrale nelle risposte infiammatorie localizzate [58]. I recettori Toll-like sono proteine microbo-sensing, presenti nelle cellule epiteliali intestinali, che mediano il riconoscimento dei batteri commensali da quelli nocivi / infiammatori. ENS, sistema nervoso enterico; M, cellule microfold; NP, neuropodi; PP, toppe di Peyer; TLR4, recettore Toll-like 4; VN, nervo vago.

Mentre i sintomi più comuni da COVID-19 all'inizio della malattia includono febbre, affaticamento, tosse secca, mialgia e dispnea, altri sintomi meno comuni sono mal di testa, dolore addominale, diarrea, nausea e vomito [59].

---

[56] Rose AS, Bradley AR, Valasatava Y, Duarte JM, Prlic A, Rose PW. NGL viewer: web-based molecular graphics for large complexes.
Bioinformatics. 2018 Nov 1;34(21):3755-3758. doi: 10.1093/bioinformatics/bty419.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6198858/

[57] Kaelberer MM, Buchanan KL, Klein ME, Barth BB, Montoya MM, Shen X, Bohórquez DV.
A gut-brain neural circuit for nutrient sensory transduction.
Science. 2018 Sep 21;361(6408):eaat5236. doi: 10.1126/science.aat5236.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30237325/

[58] Bohórquez DV, Shahid RA, Erdmann A, et al.
Neuroepithelial circuit formed by innervation of sensory enteroendocrine cells.
J Clin Invest. 2015;125(2):782-786. doi:10.1172/JCI78361
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4319442/
[59] https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/clinical

Wang D, et al
Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China.
JAMA. 2020 Mar 17;323(11):1061-1069. doi: 10.1001/jama.2020.1585.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7042881/

Inoltre, è stato riscontrato che la maggior parte dei pazienti lamenta anche una compromissione della percezione sia olfattiva che gustativa [60], e questi sono considerati marker precoci dell'infezione da COVID-19.[61]
Sebbene ci siano prove di lunga data che i coronavirus umani [62], compreso il SARS-CoV-2 [63], possono diffondersi al cervello dalle vie respiratorie, il verificarsi di sintomi gastrointestinali [64] suggerisce che l'apparato gastrointestinale è una possibile via di invasione e trasmissione al sistema nervoso enterico (ENS). [65]
Mentre gli effetti di COVID-2019 sulla percezione olfattiva e gustativa possono essere transitori, la possibilità che il SARS-Cov-2 [66] e altri agenti infettanti possano essere l'eziologia iniziale di malattie neurologiche e neurodegenerative

---

[60] Meunier N, Briand L, Jacquin-Piques A, Brondel L, Pénicaud L.
COVID 19-Induced Smell and Taste Impairments: Putative Impact on Physiology.
Front Physiol. 2021;11:625110. Published 2021 Jan 26. doi:10.3389/fphys.2020.625110
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7870487/

Santos REA, et al
Onset and duration of symptoms of loss of smell/taste in patients with COVID-19: A systematic review.
Am J Otolaryngol. 2021 Jan 6;42(2):102889. doi: 10.1016/j.amjoto.2020.102889.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7833280/

[61] Ibekwe TS, Fasunla AJ, Orimadegun AE.
Systematic Review and Meta-analysis of Smell and Taste Disorders in COVID-19.
OTO Open. 2020 Sep 11;4(3):2473974X20957975. doi: 10.1177/2473974X20957975.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7488903/
[62] Bohmwald K, Gálvez NMS, Ríos M, Kalergis AM.
Neurologic Alterations Due to Respiratory Virus Infections. Front Cell Neurosci. 2018 Oct 26;12:386. doi: 10.3389/fncel.2018.00386.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6212673/

Desforges M, Le Coupanec A, Dubeau P, Bourgouin A, Lajoie L, Dubé M, Talbot PJ.
Human Coronaviruses and Other Respiratory Viruses: Underestimated Opportunistic Pathogens of the Central Nervous System?
Viruses. 2019 Dec 20;12(1):14. doi: 10.3390/v12010014.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7020001/

Ding Y, et al
Organ distribution of severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus (SARS-CoV) in SARS patients: implications for pathogenesis and virus transmission pathways. J Pathol. 2004 Jun;203(2):622-30. doi: 10.1002/path.1560.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7167761/

[63] Yachou Y, El Idrissi A, Belapasov V, Ait Benali S. Neuroinvasion, neurotropic, and neuroinflammatory events of SARS-CoV-2: understanding the neurological manifestations in COVID-19 patients. Neurol Sci. 2020;41(10):2657-2669. doi:10.1007/s10072-020-04575-3
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7385206/

Fodoulian L, et al
SARS-CoV-2 Receptors and Entry Genes Are Expressed in the Human Olfactory Neuroepithelium and Brain.
iScience. 2020 Dec 18;23(12):101839. doi: 10.1016/j.isci.2020.101839. Epub 2020 Nov 25
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7685946/
Brann DH, et al
Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system suggests mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia.
Sci Adv. 2020 Jul 31;6(31):eabc5801. doi: 10.1126/sciadv.abc5801. Epub 2020 Jul 24.
https://advances.sciencemag.org/content/6/31/eabc5801

Keyhanian K, Umeton RP, Mohit B, Davoudi V, Hajighasemi F, Ghasemi M.
SARS-CoV-2 and nervous system: From pathogenesis to clinical manifestation
[published online ahead of print, 2020 Nov 7]. J Neuroimmunol. 2020;350:577436. doi:10.1016/j.jneuroim.2020.577436
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7647896/

[64] Perisetti A, Goyal H, Gajendran M, Boregowda U, Mann R, Sharma N.
Prevalence, Mechanisms, and Implications of Gastrointestinal Symptoms in COVID-19.
Front Med (Lausanne). 2020 Oct 30;7:588711. doi: 10.3389/fmed.2020.588711.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7662553/

Barbosa da Luz B, et al
An overview of the gut side of the SARS-CoV-2 infection.
Intest Res. 2020 Nov 6. doi: 10.5217/ir.2020.00087.
https://irjournal.org/journal/view.php?doi=10.5217/ir.2020.00087

[65] Bostancıklıoğlu M.
Temporal Correlation Between Neurological and Gastrointestinal Symptoms of SARS-CoV-2.
Inflamm Bowel Dis. 2020 Jul 17;26(8):e89-e91. doi: 10.1093/ibd/izaa131.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7313997/

[66] Song E, Zhang C, Israelow B, et al.

Neuroinvasion of SARS-CoV-2 in human and mouse brain.
J Exp Med. 2021;218(3):e20202135. doi:10.1084/jem.20202135
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7808299/

Hawkins M, Sockalingam S, Bonato S, et al.
A rapid review of the pathoetiology, presentation, and management of delirium in adults with COVID-19.
J Psychosom Res. 2021;141:110350. doi:10.1016/j.jpsychores.2020.110350
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7762623/

Hawkins M, Sockalingam S, Bonato S, et al.
A rapid review of the pathoetiology, presentation, and management of delirium in adults with COVID-19.
J Psychosom Res. 2021;141:110350. doi:10.1016/j.jpsychores.2020.110350
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7762623/

Chen X, Laurent S, Onur OA, Kleineberg NN, Fink GR, Schweitzer F, Warnke C.
A systematic review of neurological symptoms and complications of COVID-19.
J Neurol. 2021 Feb;268(2):392-402. doi: 10.1007/s00415-020-10067-3. Epub 2020 Jul 20.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7370630/

Maury A, Lyoubi A, Peiffer-Smadja N, de Broucker T, Meppiel E.
Neurological manifestations associated with SARS-CoV-2 and other coronaviruses: A narrative review for clinicians.
Rev Neurol (Paris). 2021 Jan-Feb;177(1-2):51-64. doi: 10.1016/j.neurol.2020.10.001. Epub 2020 Dec 16.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7832485/

Jha NK, Ojha S, Jha SK, et al.
Evidence of Coronavirus (CoV) Pathogenesis and Emerging Pathogen SARS-CoV-2 in the Nervous System: A Review on Neurological Impairments and Manifestations
[published online ahead of print, 2021 Jan 19]. J Mol Neurosci. 2021;1-18. doi:10.1007/s12031-020-01767-6
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7814864/

El-Sayed A, Aleya L, Kamel M.
COVID-19: a new emerging respiratory disease from the neurological perspective
[published online ahead of print, 2021 Feb 15]. Environ Sci Pollut Res Int. 2021;1-15. doi:10.1007/s11356-021-12969-9
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7884096/

Mahalakshmi AM, Ray B, Tuladhar S, et al.
Does COVID-19 contribute to development of neurological disease?
Immun Inflamm Dis. 2021;9(1):48-58. doi:10.1002/iid3.387
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7860611/

Franca RA, Ugga L, Guadagno E, Russo D, Del Basso De Caro M.
Neuroinvasive potential of SARS-CoV2 with neuroradiological and neuropathological findings: is the brain a target or a victim?
APMIS. 2021 Feb;129(2):37-54. doi: 10.1111/apm.13092. Epub 2020 Nov 20.
https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/apm.13092

Al-Sarraj S, Troakes C, Hanley B, Osborn M, Richardson MP, Hotopf M, Bullmore E, Everall IP.
Invited Review: The spectrum of neuropathology in COVID-19.
Neuropathol Appl Neurobiol. 2021 Feb;47(1):3-16. doi: 10.1111/nan.12667. Epub 2020 Oct 20.
https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nan.12667

Lee MH, Perl DP, Nair G, et al.
Microvascular Injury in the Brains of Patients with Covid-19.
N Engl J Med. 2021;384(5):481-483. doi:10.1056/NEJMc2033369
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7787217/

Soltani Zangbar H, Gorji A, Ghadiri T.
A Review on the Neurological Manifestations of COVID-19 Infection: a Mechanistic View.
Mol Neurobiol. 2021;58(2):536-549. doi:10.1007/s12035-020-02149-0
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7519857/

Wang L, Ren Z, Ma L, et al.
Progress in Research on SARS-CoV-2 Infection Causing Neurological Diseases and Its Infection Mechanism.
Front Neurol. 2021;11:592888. Published 2021 Jan 13. doi:10.3389/fneur.2020.592888
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7838637/

Gasmi A, Tippairote T, Mujawdiya PK, et al.
Neurological Involvements of SARS-CoV2 Infection.
Mol Neurobiol. 2021;58(3):944-949. doi:10.1007/s12035-020-02070-6
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7562688/

Espíndola OM, Brandão CO, Gomes YCP, Siqueira M, Soares CN, Lima MASD, Leite ACCB, Torezani G, Araujo AQC, Silva MTT.
Cerebrospinal fluid findings in neurological diseases associated with COVID-19 and insights into mechanisms of disease development.
Int J Infect Dis. 2021 Jan;102:155-162. doi: 10.1016/j.ijid.2020.10.044. Epub 2020 Oct 28.

è ben documentata, [67] secondo un meccanismo definito da "*immuno-eccitotossicità*" [68] come descritto nella seguente immagine, in cui agenti infettivi (virus, batteri, prioni) e sostanze tossiche (es. adiuvanti vaccinali) possono portare all'attivazione della microglia, la componente macrofagica del sistema nervoso centrale, e all'instaurazione di un circolo vizioso infiammatorio che porta alla degenerazione del tessuto nervoso in cui si innesca.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7591319/

[67] Jang H, Boltz DA, Webster RG, Smeyne RJ.
Viral parkinsonism.
Biochim Biophys Acta. 2009;1792(7):714-721. doi:10.1016/j.bbadis.2008.08.001
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4642437/

[68] Blaylock RL.
Parkinson's disease: Microglial/macrophage-induced immunoexcitotoxicity as a central mechanism of neurodegeneration.
Surg Neurol Int. 2017 Apr 26;8:65. doi: 10.4103/sni.sni_441_16.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5421223/pdf/SNI-8-65.pdf

Blaylock RL, Maroon J.
Immunoexcitotoxicity as a central mechanism in chronic traumatic encephalopathy-A unifying hypothesis.
Surg Neurol Int. 2011;2:107. doi:10.4103/2152-7806.83391
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3157093/

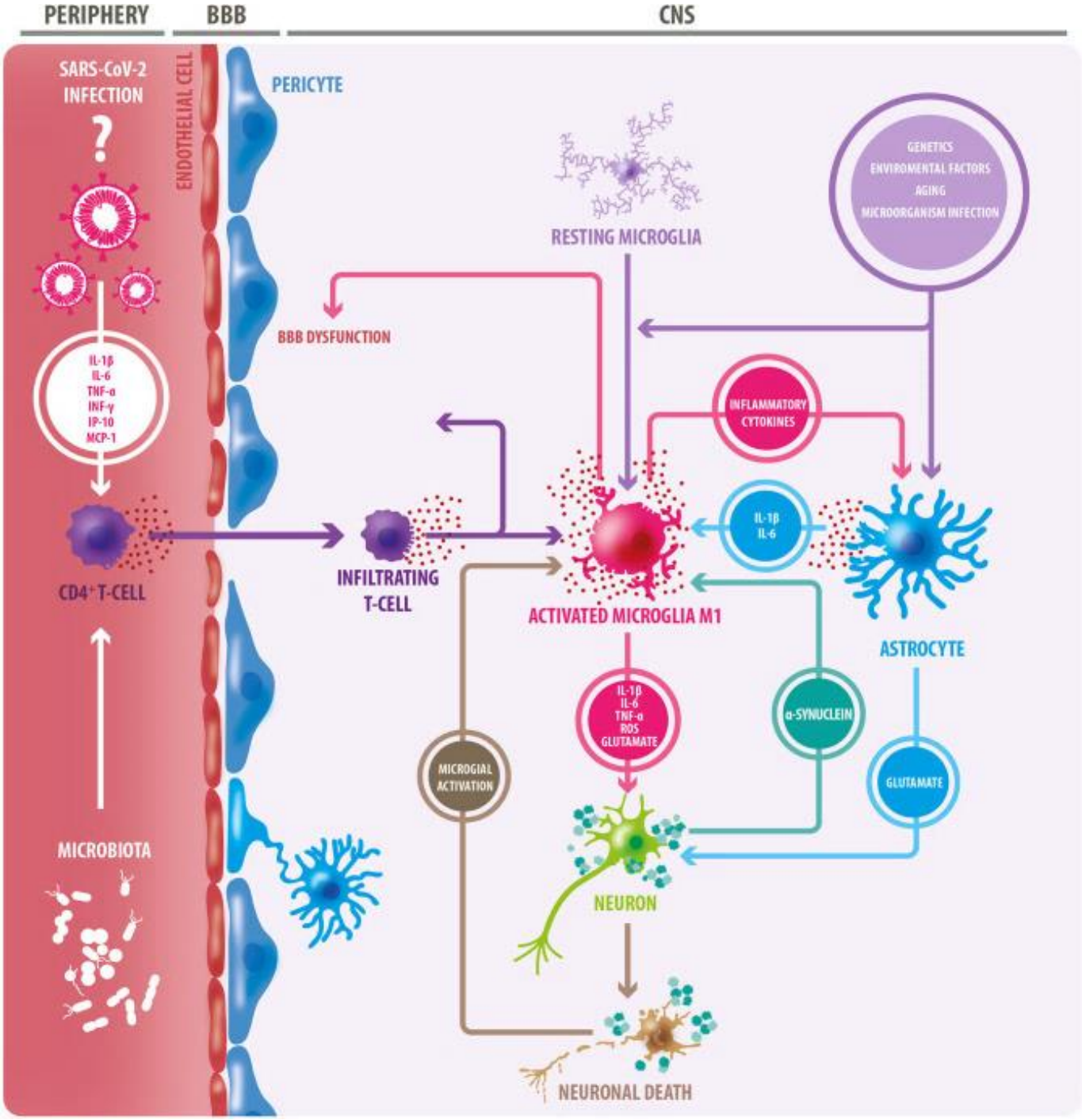
Blaylock RL.
Immunology primer for neurosurgeons and neurologists' part I: Basic principles of immunology.
Surg Neurol Int. 2013;4:14. doi:10.4103/2152-7806.106564
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3589867/

Blaylock RL.
Immunology primer for neurosurgeons and neurologists' part 2: Innate brain immunity.
Surg Neurol Int. 2013;4:118. Published 2013 Sep 18. doi:10.4103/2152-7806.118349
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3784951/

Mukhtar, M., Acheampong, E., Parveen, Z. et al.
T-cells and excitotoxicity. Neuromol Med 7, 265–273 (2005).
https://doi.org/10.1385/NMM:7:3:265
https://link.springer.com/article/10.1385/NMM:7:3:265

Tan JSY, Chao YX, Rötzschke O, Tan EK.
New Insights into Immune-Mediated Mechanisms in Parkinson's Disease.
Int J Mol Sci. 2020 Dec 6;21(23):9302. doi: 10.3390/ijms21239302.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7730912/

Haroon, E., Miller, A. & Sanacora, G.
Inflammation, Glutamate, and Glia: A Trio of Trouble in Mood Disorders.
Neuropsychopharmacol 42, 193–215 (2017). https://doi.org/10.1038/npp.2016.199
https://www.nature.com/articles/npp2016199



https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2020.01044/full
Fattori scatenanti del processo neuroinfiammatorio. L'invecchiamento, oltre ai fattori genetici e ambientali, e le infezioni di alcuni microrganismi, possono innescare una risposta neuroinfiammatoria attraverso l'attivazione microglia e oligodendroglia. La microglia attivata adotta un fenotipo infiammatorio M1, secernendo citochine proinfiammatorie, specie reattive dell'ossigeno (ROS) e glutammato; fattori che causano danni neuronali. In questo contesto, gli astrociti diventano reattivi e, come la microglia, secernono citochine proinfiammatorie. Molte di queste citochine agiscono sulle cellule microgliali, esacerbando l'attivazione microglia e favorendo il danno neuronale. Il rilascio di TNF-alfa da parte della microglia induce un aumento del rilascio di glutammato da parte degli astrociti: un evento dannoso per i neuroni. In questo contesto, si osservano neuroni degenerati e / o morti, che a loro volta innescano l'attivazione della microglia. L'accumulo di proteine (ad esempio, alfa-sinucleina) è un altro fattore scatenante per l'attivazione della microglia. La microglia degrada e presenta componenti di cellule morte e aggregati proteici ai linfociti T CD4 $^{+}$. Questo, insieme al rilascio di citochine, provoca l'infiltrazione di cellule T CD4 $^{+}$, che rilasciano più citochine proinfiammatorie, portando a una maggiore neurodegenerazione. Come conseguenza di questa neuroinfiammazione, la barriera ematoencefalica (BBB) diventa disfunzionale, portando all'ingresso di cellule immunitarie periferiche. Nella periferia, il microbiota intestinale può innescare l'infiammazione mediata dalle cellule immunitarie innate. Il virus SARS-CoV-2 genera una "tempesta di citochine" a livello periferico, quindi potrebbe avere un effetto simile. Anche le citochine infiammatorie della circolazione sanguigna periferica potrebbero contribuire alla permeabilizzazione del BBB.

Malattia di Parkinson e prioni

La malattia di Parkinson (PD) è una malattia neurodegenerativa comune associata alla progressiva perdita di neuroni dopaminergici situati nel nucleo della *substantia nigra pars compacta* (SNpc) del mesencefalo a causa dell'accumulo di aggregati di α-sinucleina (α-syn).
È interessante notare che la fase prodromica o preclinica del PD è anche caratterizzata da sintomi olfattivi e gastrointestinali [69].
L'ipotesi per l'eziologia della malattia di Parkinson sporadica (PD) propone che un virus neurotropico che invade il tessuto nervoso attraverso la cavità nasale e il tratto gastrointestinale, induca l'α-syn a trasformarsi in un legante simili-prionico e ad essere trasmesso in aree chiave come l'SNpc [70].
Molti studi suggeriscono che le tossine intestinali possono indurre la formazione di aggregati α-syn nell'ENS, che possono quindi essere trasmessi in modo prionico al SNC attraverso il nervo vago. [71]
L'evidenza del ruolo svolto dalle tossine nell'indurre il parkinsonismo e la relativa scarsità di familiarità (circa il 10%) [72], sottolineano l'importanza dei fattori ambientali e dello stile di vita rispetto a quelli genetici nell'eziologia della

[69] Mahlknecht P, Seppi K, Poewe W.
The Concept of Prodromal Parkinson's Disease.
J Parkinsons Dis. 2015;5(4):681-97. doi: 10.3233/JPD-150685.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4927924/

Santos SF, de Oliveira HL, Yamada ES, Neves BC, Pereira A Jr.
The Gut and Parkinson's Disease-A Bidirectional Pathway.
Front Neurol. 2019 Jun 4;10:574. doi: 10.3389/fneur.2019.00574.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6558190/

[70] Liddle RA.
Parkinson's disease from the gut.
Brain Res. 2018 Aug 15;1693(Pt B):201-206. doi: 10.1016/j.brainres.2018.01.010. Epub 2018 Jan 31
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6003841/

Olanow CW, Brundin P.
Parkinson's disease and alpha synuclein: is Parkinson's disease a prion-like disorder?
Mov Disord. 2013 Jan;28(1):31-40. doi: 10.1002/mds.25373.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23390095/

[71] Donaldson DS, Mabbott NA.
The influence of the commensal and pathogenic gut microbiota on prion disease pathogenesis. J Gen Virol. 2016 Aug;97(8):1725-1738. doi: 10.1099/jgv.0.000507. Epub 2016 May 18.
https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/jgv.0.000507

Santos SF, de Oliveira HL, Yamada ES, Neves BC, Pereira A Jr.
The Gut and Parkinson's Disease-A Bidirectional Pathway.
Front Neurol. 2019;10:574. Published 2019 Jun 4. doi:10.3389/fneur.2019.00574
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6558190/

[72] Thomas B, Beal MF.
Parkinson's disease.
Hum Mol Genet. 2007 Oct 15;16 Spec No. 2:R183-94. doi: 10.1093/hmg/ddm159.
https://academic.oup.com/hmg/article/16/R2/R183/2356048

malattia [73]. Alcune malattie croniche sono state associate a un fenomeno chiamato *disadattamento evolutivo* quando i tratti ancestrali non sono più adattativi nei contesti moderni. [74]
Tuttavia, poiché la vecchiaia è diventata comune negli esseri umani dopo l'inizio del Paleolitico superiore [75], il costante aumento della longevità osservato nei tempi moderni potrebbe aver avuto un effetto collaterale sulla rete dell'omeostasi proteica (proteostasi), che coordina la sintesi proteica, il ripiegamento, il traffico, la disaggregazione e la degradazione delle proteine. [76]

La rottura della proteostasi è una caratteristica comune di molte malattie neurodegenerative [77], e significa che le proteine mal ripiegate possono accumularsi a causa della mancanza degradazione o del mancato ripiegamento nelle loro strutture native [78].
Nel caso di proteine simil-prioniche, come già visto, ciò può causare un ulteriore avvolgimento scorretto delle proteine (effetto stampo) che porta all'aggregazione delle proteine e alla fine alla morte cellulare.[79]

---

[73] Garcia-Ruiz PJ, Espay AJ.
Parkinson Disease: An Evolutionary Perspective.
Front Neurol. 2017 May 1;8:157. doi: 10.3389/fneur.2017.00157.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5410593/

Jomova K, Vondrakova D, Lawson M, Valko M.
Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders.
Mol Cell Biochem. 2010 Dec;345(1-2):91-104. doi: 10.1007/s11010-010-0563-x. Epub 2010 Aug 22.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20730621/

Kalinderi K, Bostantjopoulou S, Fidani L.
The genetic background of Parkinson's disease: current progress and future prospects.
Acta Neurol Scand. 2016 Nov;134(5):314-326. doi: 10.1111/ane.12563. Epub 2016 Feb 12.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26869347/

[74] Gluckman PD, Hanson MA.
Living with the past: evolution, development, and patterns of disease.
Science. 2004 Sep 17;305(5691):1733-6. doi: 10.1126/science.1095292.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15375258/

Tooby J, Cosmides L. The past explains the present: emotional adaptations and the structure of ancestral environments.
Ethol Sociobiol. (1990) 11:375–424.
https://www.cep.ucsb.edu/papers/pastpresent1990.pdf
[75] Caspari R, Lee SH.
Older age becomes common late in human evolution.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101(30):10895-10900. doi:10.1073/pnas.0402857101
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC503716/

[76] Morimoto RI, Cuervo AM.
Proteostasis and the aging proteome in health and disease.
J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2014 Jun;69 Suppl 1(Suppl 1):S33-8. doi: 10.1093/gerona/glu049.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4022129/

Powers ET, Morimoto RI, Dillin A, Kelly JW, Balch WE.
Biological and chemical approaches to diseases of proteostasis deficiency.
Annu Rev Biochem. 2009;78:959-91. doi: 10.1146/annurev.biochem.052308.114844.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19298183/

[77] Balch WE, Morimoto RI, Dillin A, Kelly JW.
Adapting proteostasis for disease intervention.
Science. 2008 Feb 15;319(5865):916-9. doi: 10.1126/science.1141448.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18276881/

Bobela W, Aebischer P, Schneider BL.
Alpha-Synuclein as a Mediator in the Interplay between Aging and Parkinson's Disease.
Biomolecules. 2015;5(4):2675-2700. Published 2015 Oct 16. doi:10.3390/biom5042675
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4693253/

[78] Kikis EA, Gidalevitz T, Morimoto RI.
Protein homeostasis in models of aging and age-related conformational disease.
Adv Exp Med Biol. 2010;694:138-159. doi:10.1007/978-1-4419-7002-2_11
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3402352/

[79] Bobela W, Aebischer P, Schneider BL.
Alpha-Synuclein as a Mediator in the Interplay between Aging and Parkinson's Disease.
Biomolecules. 2015;5(4):2675-2700. Published 2015 Oct 16. doi:10.3390/biom5042675

E' importante segnalare che la PD [80] la malattia da prioni di Creutzfeldt-Jakob [81] sono state riportate in letteratura come patologie causate dalla COVID-19, e la PD come possibile reazione avversa da vaccino a mRNA, [82] a sostegno di un ruolo da parte di un processo neuroinfiammatorio indotto dall'infezione virale [83] e dalla formazione di aggregati simil-prionici nell'insorgenza di queste patologie.

A questo proposito, il SARS-Cov-2 presenta delle sequenze simil-prioniche nel dominio di legame del recettore della regione S1 della proteina spike, caratteristica unica rispetto agli altri coronavirus, che aumentano il legame virale al suo recettore ACE2 e quindi hanno un ruolo funzionale importante nella virulenza. [84]
Non è stato studiato però se tali sequenze possano portare alla formazione di proteine spike prioniche patologiche.

Inoltre, in un recente articolo il dott. Classen JB [85] ha condotto un'analisi bioinformatica per individuare l'eventuale presenza di sequenze nell'mRNA del vaccino "Pfizer" che potrebbero attivare TDP-43 e FUS, due proteine con proprietà simil-prioniche che legano l'RNA e di conseguenza sono in grado di indurre patologie prioniche [86].
Da tale analisi preliminare risulta che la sequenza di RNA nel vaccino contiene sequenze che si ritiene possano indurre TDP-43 e FUS ad aggregarsi nella loro conformazione simil-prionica.

In particolare è stato dimostrato che le sequenze di RNA GGUA [87], le sequenze ricche di UG [88], le ripetizioni tandem di

---

[80] Chaná-Cuevas P, Salles-Gándara P, Rojas-Fernandez A, Salinas-Rebolledo C, Milán-Solé A.
The Potential Role of SARS-COV-2 in the Pathogenesis of Parkinson's Disease.
Front Neurol. 2020 Sep 17;11:1044. doi: 10.3389/fneur.2020.01044.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7527541/

Mahalakshmi AM, Ray B, Tuladhar S, et al.
Does COVID-19 contribute to development of neurological disease?
Immun Inflamm Dis. 2021;9(1):48-58. doi:10.1002/iid3.387
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7860611/

[81] Young MJ, O'Hare M, Matiello M, Schmahmann JD.
Creutzfeldt-Jakob disease in a man with COVID-19: SARS-CoV-2-accelerated neurodegeneration?
Brain Behav Immun. 2020;89:601-603. doi:10.1016/j.bbi.2020.07.007
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7362815/

McMurran CE, Chaggar GH, Ugoya SO.
A patient with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: challenges of rare diseases in the COVID-19 era.
Oxf Med Case Reports. 2020;2020(12):omaa113. Published 2020 Dec 28. doi:10.1093/omcr/omaa113
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7768533/

[82] https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/962405/COVID-19_mRNA_Pfizer-_BioNTech_Vaccine_Analysis_Print.pdf

[83] Chen H, O'Reilly EJ, Schwarzschild MA, Ascherio A.
Peripheral inflammatory biomarkers and risk of Parkinson's disease.
Am J Epidemiol. 2008 Jan 1;167(1):90-5. doi: 10.1093/aje/kwm260. Epub 2007 Sep 22. P
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17890755/

[84] Tetz, G.; Tetz, V.
SARS-CoV-2 Prion-Like Domains in Spike Proteins Enable Higher Affinity to ACE2.
Preprints 2020, 2020030422 (doi: 10.20944/preprints202003.0422.v1).
https://covid-19.conacyt.mx/jspui/bitstream/1000/2467/1/1101737.pdf

[85] Classen JB. COVID-19 RNA Based Vaccines and the Risk of Prion Disease. Microbiol Infect Dis. 2021; 5(1): 1-3.
https://scivisionpub.com/pdfs/covid19-rna-based-vaccines-and-the-risk-of-prion-disease-1503.pdf

[86] King OD, Gitler AD, Shorter J. The tip of the iceberg: RNA-binding proteins with prion-like domains in neurodegenerative disease. Brain Res. 2012 Jun 26;1462:61-80. doi: 10.1016/j.brainres.2012.01.016. Epub 2012 Jan 21.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3372647/

[87] Kapeli K, et al.
Distinct and shared functions of ALS-associated proteins TDP-43, FUS and TAF15 revealed by multisystem analyses.
Nat Commun. 2016 Jul 5;7:12143. doi: 10.1038/ncomms12143
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4935974/

[88] Kuo PH, Chiang CH, Wang YT, Doudeva LG, Yuan HS.
The crystal structure of TDP-43 RRM1-DNA complex reveals the specific recognition for UG- and TG-rich nucleic acids.
Nucleic Acids Res. 2014 Apr;42(7):4712-22. doi: 10.1093/nar/gkt1407. Epub 2014 Jan 23.

UG [89] e le sequenze di quadruplex G [90], hanno una maggiore affinità di legame per TDP-43 e / o FUS e possono indurre TDP-43 o FUS ad acquisire le loro configurazioni patologiche nel citoplasma.
Nell'analisi fatta sono state identificate un totale di sedici ripetizioni tandem UG (ΨGΨG), sequenze ricche di UG (ΨG) aggiuntive e due sequenze GGΨA.
L'ipotesi posta dagli autori è che l'mRNA vaccinale possa potenzialmente agire come cofattore nella formazione di proteine simil-prioniche patologiche.

TOSSINE VIRALI E DANNI MICROVASCOLARI

Il dott. J. Patrick Whelan, uno specialista pediatrico che ha seguito bambini con la sindrome infiammatoria multisistemica (MIS-C) da COVID-19, ha inoltrato il 09.12.2020 all'FDA una lettera in cui sottoponeva all'attenzione dell'agenzia alcuni fattori di rischio di particolare rilievo, [91] in particolare riguardo la possibilità che i nuovi vaccini volti a creare immunità contro la proteina spike SARS-CoV-2 (compresi i vaccini mRNA di Moderna e Pfizer) abbiano il potenziale di causare danni microvascolari a cervello, cuore, fegato e reni in un modo che attualmente non sembra essere valutato negli studi sulla sicurezza di questi farmaci.

A sostegno di questa sua preoccupazione ha presentato la seguente discussione.
Puntmann et al [92] in uno studio prospettico su 100 pazienti tedeschi recentemente guariti da COVID-19 hanno riscontrato un coinvolgimento cardiaco significativo alle scansioni MRI cardiache nel 78% di loro, in media 2 mesi e mezzo dopo la guarigione dalla malattia acuta.

Due terzi di questi pazienti non sono mai stati ricoverati in ospedale e nel 60% era presente un'infiammazione miocardica in corso. Le anomalie si sono verificate indipendentemente dalle condizioni preesistenti, dalla gravità della malattia iniziale e dal decorso generale della malattia acuta.
Magro et al. hanno dimostrato che esiste un danno mediato dal complemento anche nella pelle apparentemente normale di individui infettati da coronavirus. [93]

---

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3985631/

[89] Tollervey JR, Curk T, Rogelj B, et al.
Characterizing the RNA targets and position-dependent splicing regulation by TDP-43.
Nat Neurosci. 2011;14(4):452-458. doi:10.1038/nn.2778
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3108889/

[90] Imperatore JA, McAninch DS, Valdez-Sinon AN, Bassell GJ, Mihailescu MR. FUS
Recognizes G Quadruplex Structures Within Neuronal mRNAs.
Front Mol Biosci. 2020 Feb 7;7:6. doi: 10.3389/fmolb.2020.00006.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7018707/
[91] https://www.regulations.gov/document/FDA-2020-N-1898-0246

[92] Puntmann VO, Carerj ML, Wieters I, Fahim M, Arendt C, Hoffmann J, Shchendrygina A, Escher F, Vasa-Nicotera M, Zeiher AM, Vehreschild M, Nagel E.
Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).
JAMA Cardiol. 2020 Nov 1;5(11):1265-1273. doi: 10.1001/jamacardio.2020.3557. Erratum in: JAMA Cardiol. 2020 Nov 1;5(11):1308.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7385689/

Parwani P, Ordovas KG.
Beyond the AJR: "Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)".
AJR Am J Roentgenol. 2020 Dec 23. doi: 10.2214/AJR.20.25140. Epub ahead of print. PMID: 33355486.
https://www.ajronline.org/doi/pdf/10.2214/AJR.20.25140

Bonow RO, Yancy CW.
Explanation for the Corrections for the Study of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019.
JAMA Cardiol. 2020 Nov 1;5(11):1308. doi: 10.1001/jamacardio.2020.4667.
https://jamanetwork.com/journals/jamacardiology/fullarticle/2770025

[93] Magro CM, Mulvey JJ, Laurence J, Seshan S, Crowson AN, Dannenberg AJ, Salvatore S, Harp J, Nuovo GJ.
Docked severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 proteins within the cutaneous and subcutaneous microvasculature and their role in the pathogenesis of severe coronavirus disease 2019.
Hum Pathol. 2020 Dec;106:106-116. doi: 10.1016/j.humpath.2020.10.002. Epub 2020 Oct 12.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7550120/

Hanno anche riscontrato che l'espressione del recettore ACE-2 è più alta nella microvascolatura del cervello e nel grasso sottocutaneo e in misura minore nel fegato, reni e cuore [94] e che il coronavirus si replica quasi esclusivamente nelle cellule endoteliali dei capillari settali dei polmoni e della rinofaringe.
Inoltre, la lisi virale e la distruzione immunitaria di queste cellule rilasciano proteine del capside virale (o pseudovirioni) che viaggiano attraverso la circolazione e si legano ai recettori ACE2 in queste altre parti del corpo, portando all'attivazione della via del complemento della lectina legante il mannano che non solo danneggia l'endotelio microvascolare ma induce anche la produzione di molte citochine pro-infiammatorie.

Meinhardt et al.[95] riportano che la proteina spike nelle cellule endoteliali del cervello è associata alla formazione di microtrombi (coaguli) e, come Magro et al. non trovano RNA virale nell'endotelio cerebrale.
In altre parole, le proteine virali sembrano causare danni ai tessuti senza la replicazione attiva del virus.
È possibile che la proteina spike stessa provochi il danno tissutale associato alla Covid-19? Nuovo et al [96] hanno dimostrato che in 13/13 cervelli di pazienti con COVID-19 fatale, pseudovirioni (spike, involucro e proteine di membrana) senza RNA virale sono presenti nell'endotelio dei microvasi cerebrali.

Inoltre, l'iniezione nella vena della coda nei topi della subunità spike S1 a lunghezza intera ha portato a segni neurologici (aumento della sete, comportamento stressato) non evidenti in quelli a cui era stata iniettata la subunità S2. La subunità S1 si localizza nell'endotelio dei microvasi nel cervello del topo ed è una potente neurotossina.
Quindi la subunità spike S1 della SARS-CoV-2 da sola è in grado di essere endocitata dall'endotelio ACE2 positivo sia nel cervello umano che in quello di topo, con una concomitante microencefalite pauci-cellulare che potrebbe essere alla base delle complicanze neurologiche della COVID-19.

Il vaccino Pfizer / BioNTech (BNT162b2) è composto da un mRNA che produce una proteina spike a lunghezza intera ancorata alla membrana. Gli studi sui topi suggeriscono che una forma non troncata della proteina S1 come questa può causare una microvasculopatia nei tessuti che esprimono molto recettore ACE2 e che una forma troncata di S1 era molto meno dannosa nei topi.
Sebbene ci siano pezzi di questo puzzle che devono ancora essere risolti, sembra che la proteina della spike virale, obiettivo dei principali vaccini SARS-CoV-2, sia anche uno degli agenti chiave che causano il danno agli organi distanti che includono cervello, cuore, polmoni e reni.
Prima che uno qualsiasi di questi vaccini venga approvato per un uso diffuso nell'uomo, è importante valutare nei soggetti vaccinati gli effetti della vaccinazione sul cuore (magari utilizzando la risonanza magnetica cardiaca, come hanno fatto Puntmann et al.).

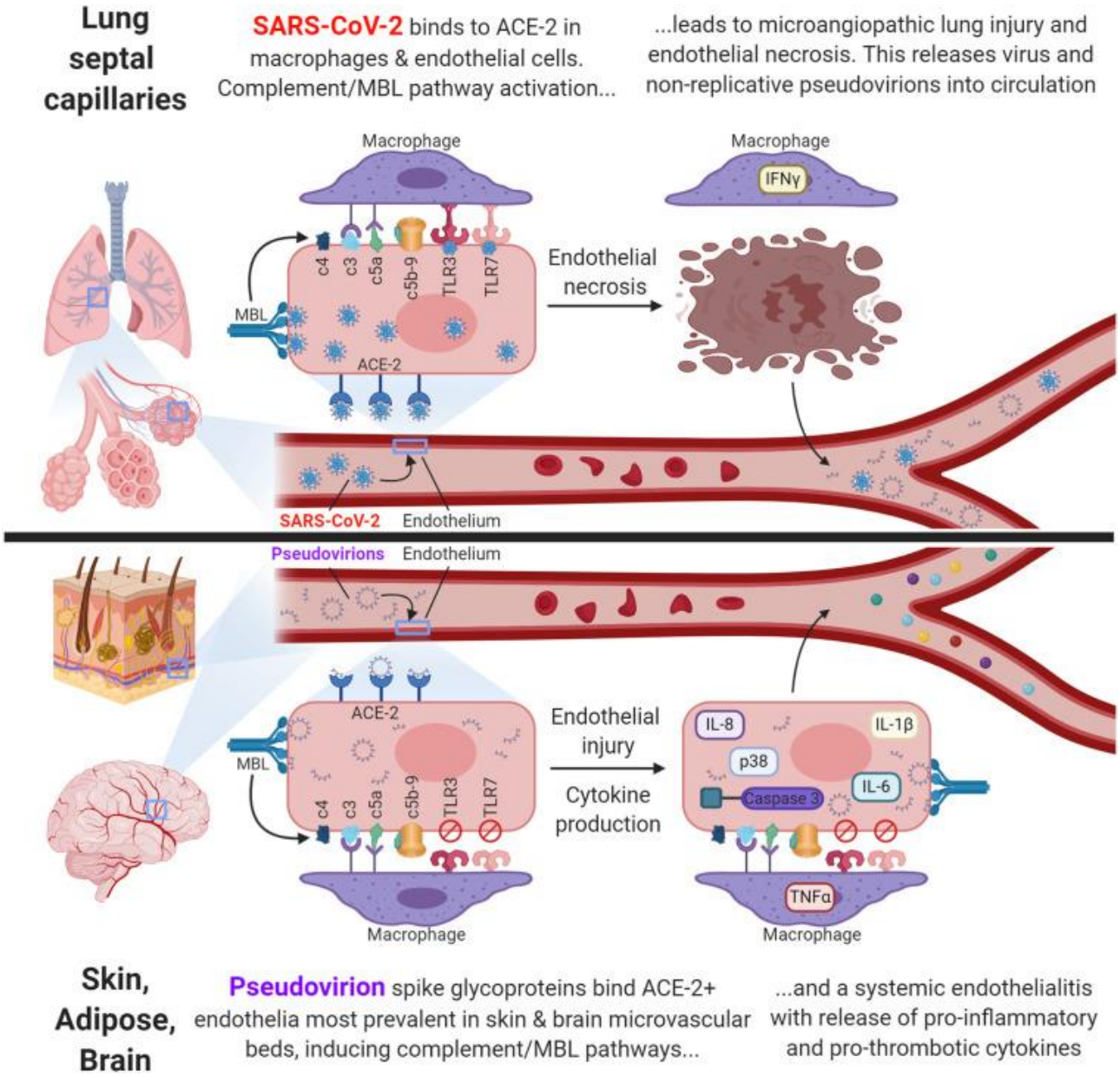
I pazienti vaccinati potrebbero anche essere testati per danni ai tessuti distanti nelle biopsie cutanee dell'area deltoidea, come eseguito da Magro et al.
Per quanto sia importante arrestare rapidamente la diffusione del virus immunizzando la popolazione, sarebbe molto peggio se centinaia di milioni di persone dovessero subire danni duraturi o addirittura permanenti al cervello o alla microvascolatura cardiaca a causa dell'incapacità di poter rilevare a breve termine un effetto indesiderato su questi organi da parte dei vaccini a base di proteine spike a lunghezza intera.
Particolare cautela sarà richiesta per quanto riguarda la potenziale vaccinazione diffusa dei bambini prima che ci siano dati reali sulla sicurezza o l'efficacia di questi vaccini negli studi pediatrici che sono solo all'inizio.

---

[94] Magro CM, Mulvey J, Kubiak J, Mikhail S, Suster D, Crowson AN, Laurence J, Nuovo G.
Severe COVID-19: A multifaceted viral vasculopathy syndrome.
Ann Diagn Pathol. 2021 Feb;50:151645. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2020.151645. Epub 2020 Oct 13.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7553104/

[95] Meinhardt, J., Radke, J., Dittmayer, C. et al.
Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19.
Nat Neurosci 24, 168–175 (2021). https://doi.org/10.1038/s41593-020-00758-5
https://www.nature.com/articles/s41593-020-00758-5

[96] Nuovo GJ, Magro C, Shaffer T, Awad H, Suster D, Mikhail S, He B, Michaille JJ, Liechty B, Tili E.
Endothelial cell damage is the central part of COVID-19 and a mouse model induced by injection of the S1 subunit of the spike protein.
Ann Diagn Pathol. 2020 Dec 24;51:151682. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2020.151682.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7758180/



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7553104/

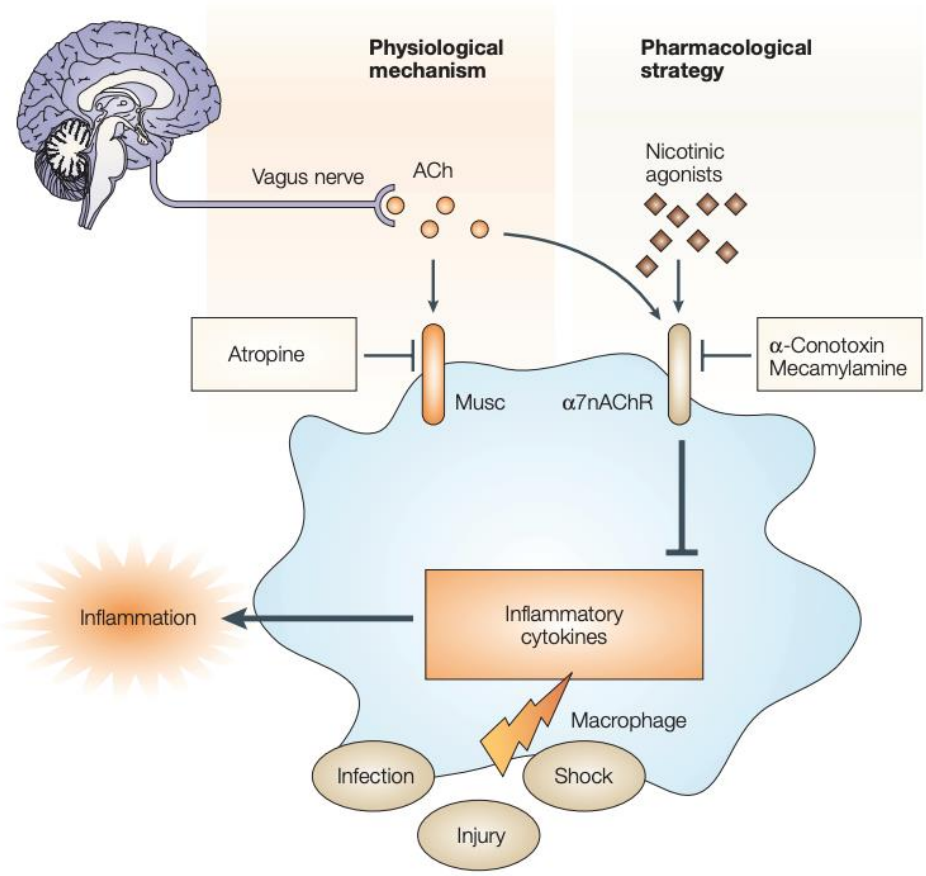
Ad integrazione di quanto discusso dal dott. Whelan si segnalano dei risultati molto interessanti riguardo la tossicità della spike del SARS-Cov-2.

E' noto dall'inizio degli anni 2000 che il sistema nervoso colinergico è un importante percorso che modifica e controlla la risposta infiammatoria.
La dissezione chirurgica del nervo vago nei topi ha portato a una maggiore produzione di TNF e una risposta eccessiva alla somministrazione di endotossine, mentre la stimolazione elettrica del nervo vago inibisce la sintesi del TNF e previene la risposta infiammatoria acuta. [97]
Diversi modelli sperimentali su animali che inducono citochine pro-infiammatorie, come sepsi, ischemia-riperfusione e pancreatite, hanno dimostrato che la stimolazione del vago migliora i risultati.

[97] Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR, Wang H, Abumrad N, Eaton JW, Tracey KJ.
Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin.
Nature. 2000 May 25;405(6785):458-62. doi: 10.1038/35013070.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10839541/

Blalock JE.
Harnessing a neural-immune circuit to control inflammation and shock.
J Exp Med. 2002 Mar 18;195(6):F25-8. doi: 10.1084/jem.20020602.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2193735/

Questo effetto è mediato dalla subunità α7 del recettore nicotinico dell'acetilcolina (nAChR) presente sui macrofagi [98] e sui linfociti B. I macrofagi sembrano essere molto sensibili all'acetilcolina, il che suggerisce che qualsiasi fonte di acetilcolina, anche da fonti non neuronali come dalle cellule epiteliali ed endoteliali, potrebbe modulare l'attività dei macrofagi adiacenti [99]. Oltre al TNF, sono inibite dall'acetilcolina altre citochine pro-infiammatorie, come il gruppo ad alta mobilità B1 (HMGB1), IL-1 e IL-6.[100]



https://www.semanticscholar.org/paper/The-vagus-nerve-and-the-nicotinic-anti-inflammatory-Ulloa/bf0cebda073ade5bc3b3ebf55592f48256a03a35
La "via antinfiammatoria nicotinica". Il nervo vago può modulare la risposta immunitaria innata e prevenire l'infiammazione attraverso un meccanismo fisiologico che può essere tradotto in una strategia farmacologica. L'acetilcolina, il principale neurotrasmettitore del nervo vago, segnala attraverso i recettori muscarinici o nicotinici, e quindi agonisti selettivi (atropina, α-conotossina o mecamilamina) sono stati utilizzati per identificare i recettori coinvolti nel controllo dei macrofagi. Questo meccanismo è stato chiamato "via antinfiammatoria nicotinica" perché l'acetilcolina può inibire la produzione di citochine pro-infiammatorie dai macrofagi attraverso un recettore nicotinico dell'acetilcolina. La nicotina, un agonista colinergico più selettivo, è più efficiente dell'acetilcolina nell'inibire la produzione di citochine pro-infiammatorie dai macrofagi attraverso un meccanismo che dipende dal recettore α7-nicotinico dell'acetilcolina (α7nAChR).

La modulazione della risposta infiammatoria e immunitaria da parte del sistema nervoso centrale (SNC) attraverso il nervo vago si basa sulla comunicazione bidirezionale tra il sistema immunitario e il sistema nervoso.
Le fibre afferenti del nervo vago, situate nel nucleo del tratto solitario, forniscono input sensoriali al SNC sullo stato infiammatorio, che può provocare la trasmissione di segnali efferenti, originati dal nucleo motorio dorsale, per controllare la risposta infiammatoria [101].

---

[98] Wang H, Yu M, Ochani M, Amella CA, Tanovic M, Susarla S, Li JH, Wang H, Yang H, Ulloa L, Al-Abed Y, Czura CJ, Tracey KJ.
Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation.
Nature. 2003 Jan 23;421(6921):384-8. doi: 10.1038/nature01339. Epub 2002 Dec 22.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12508119/

[99] Wang H, Yu M, Ochani M, Amella CA, Tanovic M, Susarla S, Li JH, Wang H, Yang H, Ulloa L, Al-Abed Y, Czura CJ, Tracey KJ.
Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation.
Nature. 2003 Jan 23;421(6921):384-8. doi: 10.1038/nature01339. Epub 2002 Dec 22.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12508119/

[100] Ulloa L.
The vagus nerve and the nicotinic anti-inflammatory pathway.
Nat Rev Drug Discov. 2005 Aug;4(8):673-84. doi: 10.1038/nrd1797.
https://www.nature.com/articles/nrd1797

[101] Pavlov VA, Wang H, Czura CJ, Friedman SG, Tracey KJ.

Tale risposta è rapida e localizzata, a differenza della rete antinfiammatoria diffusibile, che è lenta, distribuita, non integrata e dipendente da gradienti di concentrazione [99].

È ad oggi confermato che l'ACE2 è espresso in diverse regioni del cervello, in particolare nelle regioni in cui terminano le fibre afferenti vagali e originano le fibre efferenti vagali [102].
È anche noto che la neuroinvasione è una caratteristica comune dei coronavirus [103] e l'anosmia ed ageusia sono una caratteristica peculiare della COVID-19 [104]. Il SARS-CoV-2 può entrare nel sistema nervoso centrale attraverso il flusso sanguigno o il nervo olfattivo.[105]
Il bulbo olfattivo infatti ha una ricca rete di nAChR, ma l'α7 nAChR può anche essere espresso sui terminali degli assoni dei neuroni del recettore olfattivo [106].
Sebbene ciò possa suggerire un'infezione cerebrale facilitata attraverso il trasporto anterogrado lungo il nervo olfattivo, è possibile che i neuroni del recettore olfattivo possano agire come sensori virali di prima linea e avviare una rapida risposta immunitaria. [107]
L'anosmia potrebbe in questo caso rappresentare un altro segno di disfunzione del sistema colinergico nicotinico nella COVID-19.
Pertanto, è possibile che il virus possa infettare le aree terminali delle fibre afferenti vagali o l'origine della fibra efferente vagale causando una sottoregolazione di ACE2 e conseguente infiammazione locale che interrompe la via

---

The cholinergic anti-inflammatory pathway: a missing link in neuroimmunomodulation.
Mol Med. 2003 May-Aug;9(5-8):125-34.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1430829/

[102] Xia H, Lazartigues E.
Angiotensin-converting enzyme 2: central regulator for cardiovascular function.
Curr Hypertens Rep. 2010 Jun;12(3):170-5. doi: 10.1007/s11906-010-0105-7.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3093757/

Doobay MF, Talman LS, Obr TD, Tian X, Davisson RL, Lazartigues E.
Differential expression of neuronal ACE2 in transgenic mice with overexpression of the brain renin-angiotensin system.
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2007 Jan;292(1):R373-81. doi: 10.1152/ajpregu.00292.2006. Epub 2006 Aug 31.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1761128/

[103] Desforges M, Le Coupanec A, Dubeau P, Bourgouin A, Lajoie L, Dubé M, Talbot PJ.
Human Coronaviruses and Other Respiratory Viruses: Underestimated Opportunistic Pathogens of the Central Nervous System?
Viruses. 2019 Dec 20;12(1):14. doi: 10.3390/v12010014.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7020001/

Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, Chang J, Hong C, Zhou Y, Wang D, Miao X, Li Y, Hu B.
Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. JAMA Neurol. 2020 Jun 1;77(6):683-690. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.1127.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7149362/

[104] Giacomelli A, Pezzati L, Conti F, Bernacchia D, Siano M, Oreni L, Rusconi S, Gervasoni C, Ridolfo AL, Rizzardini G, Antinori S, Galli M.
Self-reported Olfactory and Taste Disorders in Patients With Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 Infection: A Cross-sectional Study.
Clin Infect Dis. 2020 Jul 28;71(15):889-890. doi: 10.1093/cid/ciaa330.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7184514/

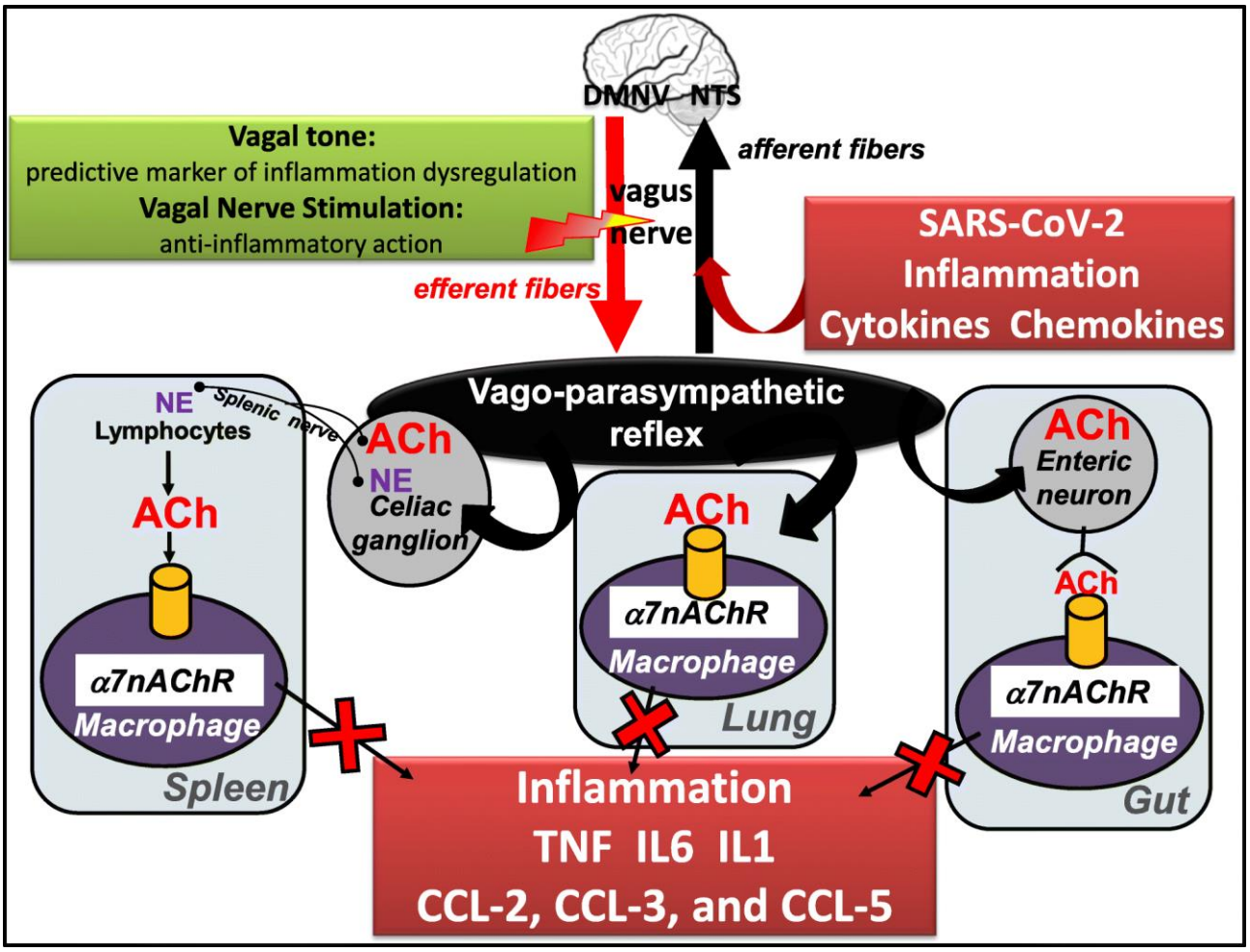
[105] Manji H, Carr AS, Brownlee WJ, Lunn MP.
Neurology in the time of COVID-19.
J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2020 Jun;91(6):568-570. doi: 10.1136/jnnp-2020-323414. Epub 2020 Apr 20.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32312872/

Baig AM, Khaleeq A, Ali U, Syeda H.
Evidence of the COVID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue Distribution, Host-Virus Interaction, and Proposed Neurotropic Mechanisms.
ACS Chem Neurosci. 2020 Apr 1;11(7):995-998. doi: 10.1021/acschemneuro.0c00122. Epub 2020 Mar 13.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7094171/

[106] D'Souza RD, Vijayaraghavan S.
Paying attention to smell: cholinergic signaling in the olfactory bulb.
Front Synaptic Neurosci. 2014 Sep 25;6:21. doi: 10.3389/fnsyn.2014.00021.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4174753/

[107] Butowt R, Bilinska K.
SARS-CoV-2: Olfaction, Brain Infection, and the Urgent Need for Clinical Samples Allowing Earlier Virus Detection.
ACS Chem Neurosci. 2020 May 6;11(9):1200-1203. doi: 10.1021/acschemneuro.0c00172. Epub 2020 Apr 13.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7160911/

antinfiammatoria colinergica e disregolala risposta infiammatoria. La nicotina potrebbe avere proprietà protettive contro la possibile infiammazione cerebrale causata da SARS-CoV-2, mediata dagli α7-AChR [108] (questo potrebbe spiegare la singolare protezione dei fumatori nei confronti dell'infezione [109]), mentre le tossine prodotte dal microbiota intestinale infettato (come ad es. le conotossine riscontrate in una recente ricerca di Brogna et al [110]) hanno un effetto inibitorio sulla via antinfiammatoria colinergica nicotinica.



https://bioelecmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42234-020-00051-7
Stimolazione del nervo vago: uno strumento antinfiammatorio che mira a nAChR negli organi multilivello in COVID-19. DMNV, nucleo motore dorsale del vago; NE, noradrenalina; NTS, nucleo tractus solitarius

Farsalinos et al nell'editoriale *Nicotine and SARS-CoV-2: COVID-19 may be a disease of the nicotinic cholinergic system* [111] riportano l'omologia tra sequenze proteiche della spike del SARS-CoV-2 e neurotossine di origine animale (dai generi *Ophiophagus* (cobra) e *Bungarus*, così come le regioni simili alle neurotossine di tre ceppi di virus della rabbia) note per essere competitori antagonisti ad alta affinità dell'acetilcolina per l'α7-AChR e ipotizzano, insieme ad altri

[108] Bencherif M, Lippiello PM, Lucas R, Marrero MB.
Alpha7 nicotinic receptors as novel therapeutic targets for inflammation-based diseases. Cell Mol Life Sci. 2011 Mar;68(6):931-49. doi: 10.1007/s00018-010-0525-1. Epub 2010 Oct 15.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7160911/

[109] Gonzalez-Rubio J, Navarro-Lopez C, Lopez-Najera E, Lopez-Najera A, Jimenez-Diaz L, Navarro-Lopez JD, Najera A.
Cytokine Release Syndrome (CRS) and Nicotine in COVID-19 Patients: Trying to Calm the Storm.
Front Immunol. 2020 Jun 11;11:1359. doi: 10.3389/fimmu.2020.01359
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7300218/

[110] https://www.onb.it/2020/10/28/scoperta-di-peptidi-simili-a-tossine-in-campioni-di-plasma-e-urine-provenienti-da-pazienti-affetti-da-covid-19/

[111] Farsalinos K, Niaura R, Le Houezec J, Barbouni A, Tsatsakis A, Kouretas D, Vantarakis A, Poulas K.
Editorial: Nicotine and SARS-CoV-2: COVID-19 may be a disease of the nicotinic cholinergic system.
Toxicol Rep. 2020 Apr 30;7:658-663. doi: 10.1016/j.toxrep.2020.04.012.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7192087/

autori [112], che la proteina del SARS-Cov-2 agisca come una neurotossina antagonista dell'acetilcolina sui recettori nicotinici.
Un altro studio recente [113] in cui è stata valutata la neurotossicità della spike del SARS-Cov-2, ha preso in esame la sindrome infiammatoria multisistemica nei bambini (MIS-C) associata alla COVID-19, ma non osservata nella pandemia di SARS-CoV-1 del 2003.
La MIS-C si manifesta con febbre persistente, iperinfiammazione e coinvolgimento multiorgano con sintomi cardiaci, gastrointestinali, renali, ematologici, dermatologici e neurologici [114].
Questi sintomi ricordano molto la sindrome da shock tossico (TSS) [115], piuttosto che la malattia di Kawasaki (KD).
In effetti, un recente studio retrospettivo non controllato ha concluso che la MIS-C è distinta dalla KD e dalla sindrome da shock da KD [116].
Poiché la TSS è tipicamente causata da superantigeni patogeni (SAg) che stimolano un'eccessiva attivazione del sistema immunitario adattativo, gli autori hanno svolto un'analisi bioinformatica utilizzando modelli computazionali basati sulla struttura, per valutare se la spike contiene motivi di sequenza e struttura molto simili a quelli dei superantigeni batterici. Da tale studio è emerso che l'epitopo di legame per i TCR sulla spike ospita un motivo di sequenza di circa 20 aminoacidi unico per il SARS-CoV-2 vicino al sito di clivaggio S1/S2 (non presente in altri

---

[112] Farsalinos K, Eliopoulos E, Leonidas DD, Papadopoulos GE, Tzartos S, Poulas K.
Nicotinic Cholinergic System and COVID-19: In Silico Identification of an Interaction between SARS-CoV-2 and Nicotinic Receptors with Potential Therapeutic Targeting Implications.
Int J Mol Sci. 2020;21(16):5807. Published 2020 Aug 13. doi:10.3390/ijms21165807
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7461543/

[113] Cheng MH, Zhang S, Porritt RA, Noval Rivas M, Paschold L, Willscher E, Binder M, Arditi M, Bahar I.
Superantigenic character of an insert unique to SARS-CoV-2 spike supported by skewed TCR repertoire in patients with hyperinflammation.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2020 Oct 13;117(41):25254-25262. doi: 10.1073/pnas.2010722117. Epub 2020 Sep 28.
https://www.pnas.org/content/117/41/25254

[114] Riphagen S, Gomez X, Gonzalez-Martinez C, Wilkinson N, Theocharis P.
Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic.
Lancet. 2020 May 23;395(10237):1607-1608. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31094-1. Epub 2020 May 7.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7204765/

Verdoni L, Mazza A, Gervasoni A, Martelli L, Ruggeri M, Ciuffreda M, Bonanomi E, D'Antiga L.
An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational cohort study. Lancet. 2020 Jun 6;395(10239):1771-1778. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31103-X. Epub 2020 May 13.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7220177/

Belhadjer Z, et al
Acute Heart Failure in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children in the Context of Global SARS-CoV-2 Pandemic.
Circulation. 2020 Aug 4;142(5):429-436. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048360. Epub 2020 May 17.
https://www.ahajournals.org/doi/epub/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048360

[115] Low DE.
Toxic shock syndrome: major advances in pathogenesis, but not treatment.
Crit Care Clin. 2013 Jul;29(3):651-75. doi: 10.1016/j.ccc.2013.03.012.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23830657/

Cook A, Janse S, Watson JR, Erdem G.
Manifestations of Toxic Shock Syndrome in Children, Columbus, Ohio, USA, 2010-20171.
Emerg Infect Dis. 2020 Jun;26(6):1077-1083. doi: 10.3201/eid2606.190783.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7258457/

Li H, Llera A, Malchiodi EL, Mariuzza RA.
The structural basis of T cell activation by superantigens.
Annu Rev Immunol. 1999;17:435-66. doi: 10.1146/annurev.immunol.17.1.435.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10358765/

Krakauer T.
Staphylococcal Superantigens: Pyrogenic Toxins Induce Toxic Shock.
Toxins (Basel). 2019 Mar 23;11(3):178. doi: 10.3390/toxins11030178.
https://www.mdpi.com/2072-6651/11/3/178/htm

[116] Whittaker E, et al
PIMS-TS Study Group and EUCLIDS and PERFORM Consortia. Clinical Characteristics of 58 Children With a Pediatric Inflammatory Multisystem Syndrome Temporally Associated With SARS-CoV-2.
JAMA. 2020 Jul 21;324(3):259-269. doi: 10.1001/jama.2020.10369.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7281356/

coronavirus correlati alla SARS) molto simile sia nella sequenza che nella struttura all'enterotossina stafilococcica del superantigene batterico B.

La capacità dei SAgs di bypassare la specificità antigenica dei TCR si traduce in un'ampia attivazione dei linfociti T e in una tempesta di citochine, che porta a shock tossici.[117]

Superantigeni

I superantigeni sono peptidi microbici particolarmente potenti che possono attivare in maniera policlonale una grande frazione di cellule T (la concentrazione di 1 femtomolare (10^{-15} moli /L) è in grado di stimolare fino al 20% di tutte le cellule T periferiche). Sfuggono alla normale elaborazione dell'antigene da parte delle cellule presentanti l'antigene (APC) e possono legarsi direttamente al recettore delle cellule T (TCR).

Le cellule T di varie specificità antigeniche si attivano quando i superantigeni batterici si legano in modo incrociato alle molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) di classe II con regioni Vb comuni del recettore delle cellule T. Tutte le cellule T che esprimono una particolare regione Vb sono soggette ad attivazione, causando un massiccio rilascio di citochine e conseguenti sintomi di shock e lesioni nell'ospite (sindrome da shock tossico). Ciò si verifica indipendentemente dalla specificità dell'antigene e dal peptide che riempie il solco delle MHC di classe II (nella figura sotto: pallino rosso).

Successivamente, la maggior parte delle cellule T espanse viene eliminata e le restanti cellule SAg-reattive saranno anergiche e tolleranti all'esposizione successiva a SAg. La popolazione anergica è eterogenea e include entrambe le cellule T prive di risposta indotta al SAg e cellule T regolatorie specifiche per SAg (Tregs). I Treg sopprimono l'attivazione delle cellule T e producono e citochine immunosoppressive IL-10 e TGF-1, contribuendo così alla tolleranza specifica per il SAg.

Table 4: Superantigen toxins

Staphylococcal SAg • Staphylococcal enterotoxin A, B, C, D, E, G, H, I, J,(most studied A, B and TSST1) • TSST-1 [staphylococcal enterotoxin F] • Staphylococcal protein A (SpA) [B-cell Superantigen]	**Streptococcal SAg** • Streptococcal pyrogenic exotoxins (SPE): SPE-A, SPE-B, SPE-C, SPE-D, SPE-F, SPE-G, SPE-H, SPE-J • SMEZ • Mitogenic factor (MF) • SSA	**Mycoplasma arthritidis SAg** • MAM (mycoplasma arthritidis -derived Superantigen) **Human liver sialoprotein** • Protein Fv (B-cell SAg)
EB Virus • HERV-K18 env **Peptostreptococcus magnus** • Protein L (B-cell SAg)	**HIV** • HIV-gp120 (B-cell SAg) **Rabies?** • ?	**Yersinia pseudotuberculosis** • YPM **Yersinia enterocolitis?** • ?

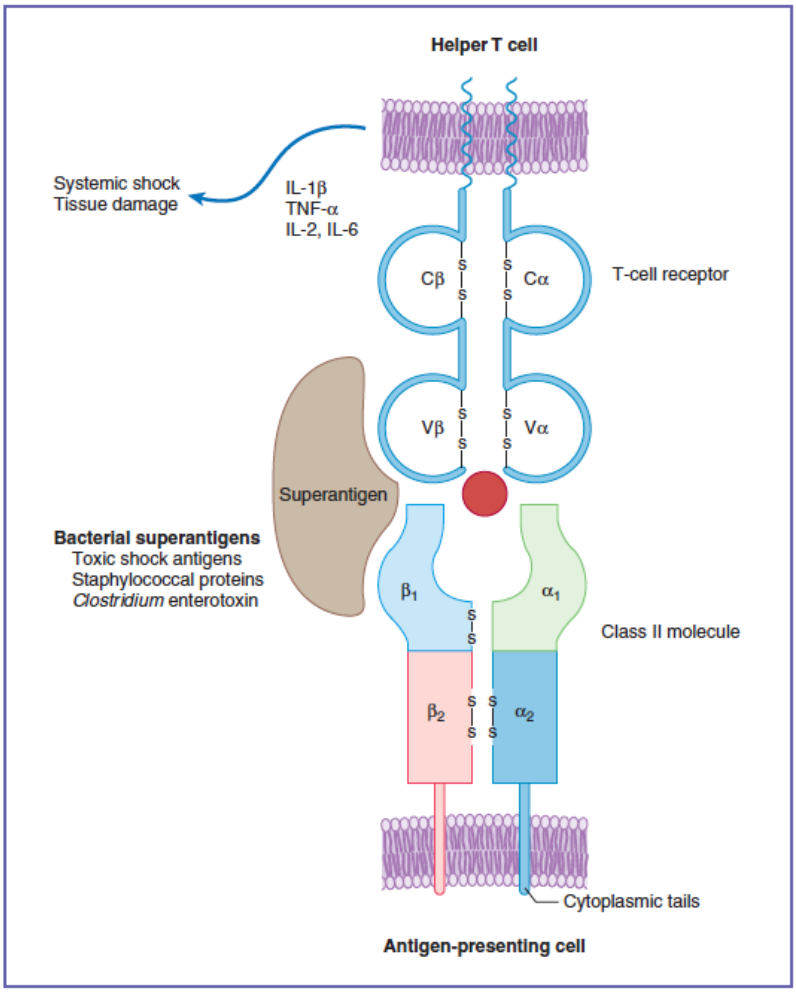
[117] Li H, Llera A, Malchiodi EL, Mariuzza RA.
The structural basis of T cell activation by superantigens.
Annu Rev Immunol. 1999;17:435-66. doi: 10.1146/annurev.immunol.17.1.435.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10358765/

Krakauer T.
Staphylococcal Superantigens: Pyrogenic Toxins Induce Toxic Shock.
Toxins (Basel). 2019 Mar 23;11(3):178. doi: 10.3390/toxins11030178.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6468478/

Table 5: Diseases thought to be mediated by Superantigen

• Staphylococcal toxic shock syndrome (TSS)	• Retroviral disease- MMTV	• Rheumatoid arthritis
• Streptococcal TSS	• Infectious mononucleosis	• Chronic arthritis
• Food poisoning	• Burkitt's lymphoma	• Rheumatic fever
• Kawasaki disease	• Cytomegalovirus infection	• Sjogren's syndrome
• Scarlet fever	• HIV and AIDS?	• SLE
• Atopic dermatitis	• Rabies?	• Systemic sclerosis
• Psoriasis	• Acute juvenile PRP	• Crohn's disease
	• CTCL/Lymphomas	• Arthus reaction
		• Vasculitis
		• IDDM

Tratte da https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.4103%2F0378-6323.55423.



Tipi di superantigeni

•SAG esogeni: proteine solubili secrete dai batteri e una varietà di esotossine (ad es. SE, SPE e TSST).
• SAG endogeni: proteine della membrana cellulare codificate da alcuni virus che infettano le cellule dei mammiferi (ad es. MMTV ed EBV).
• SAG delle cellule B: questi SAG stimolano prevalentemente le cellule B con formazione di immunocomplessi
• SAG delle cellule T: si legano direttamente al dominio Vß delle TCR e al recettore MHC-II al di fuori del sito di legame convenzionale dell'antigene.

SAG delle cellule T IL: interleuchina; TNF: fattore di necrosi tumorale.

Tratta da https://www.elsevier.com/books/elseviers-integrated-review-immunology-and-microbiology/actor/978-0-323-07447-6 pag 40

Va segnalata l'osservazione che batteri che producono superantigeni (tossine degli streptococchi, stafilococchi, micoplasmi, retrovirus) [118] aumentano l'infiammazione dovuta all'infezione virale e quindi le complicazioni gravi da COVID-19. [119]

Il sistema tossina-antitossina [120]

---

[118] Vaishnani J.
Superantigen.
Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2009 Sep-Oct;75(5):540-4. doi: 10.4103/0378-6323.55423
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19736457/

Sähr A, Förmer S, Hildebrand D, Heeg K.
T-cell activation or tolerization: the Yin and Yang of bacterial superantigens.
Front Microbiol. 2015 Oct 20;6:1153. doi: 10.3389/fmicb.2015.01153.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4611159/

[119] Metzger DW, Sun K.
Immune dysfunction and bacterial coinfections following influenza.
J Immunol. 2013 Sep 1;191(5):2047-52. doi: 10.4049/jimmunol.1301152.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3760235/

Bacterial co-infections in COVID-19
https://uploads-ssl.webflow.com/5bbbb630dcca693cb5a8cb21/5e7b8303d13cbdb68ed332ed_Bacterial%20co-infections%20in%20COVID-19.pdf

[120] Song S, Wood TK.
Toxin/Antitoxin System Paradigms: Toxins Bound to Antitoxins Are Not Likely Activated by Preferential Antitoxin Degradation.
Adv Biosyst. 2020 Mar;4(3):e1900290. doi: 10.1002/adbi.201900290. Epub 2020 Feb 20.
https://www.che.psu.edu/faculty/wood/group/publications/pdf/305-ATs-not-degraded-preferentially.pdf

https://viralzone.expasy.org/4077

Unterholzner SJ, Poppenberger B, Rozhon W.
Toxin-antitoxin systems: Biology, identification, and application.
Mob Genet Elements. 2013 Sep 1;3(5):e26219. doi: 10.4161/mge.26219. Epub 2013 Aug 20.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3827094/

Hall AM, Gollan B, Helaine S.
Toxin-antitoxin systems: reversible toxicity.
Curr Opin Microbiol. 2017 Apr;36:102-110. doi: 10.1016/j.mib.2017.02.003. Epub 2017 Mar 6.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28279904/

Goeders N, Van Melderen L.
Toxin-antitoxin systems as multilevel interaction systems.
Toxins (Basel). 2014 Jan 10;6(1):304-24. doi: 10.3390/toxins6010304.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3920263/

Song S, Wood TK.
A Primary Physiological Role of Toxin/Antitoxin Systems Is Phage Inhibition.
Front Microbiol. 2020 Aug 13;11:1895. doi: 10.3389/fmicb.2020.01895.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7438911/

Paul P, Sahu BR, Suar M.
Plausible role of bacterial toxin-antitoxin system in persister cell formation and elimination.
Mol Oral Microbiol. 2019 Jun;34(3):97-107. doi: 10.1111/omi.12258. Epub 2019 May 2.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30891951/

Page R, Peti W.
Toxin-antitoxin systems in bacterial growth arrest and persistence.
Nat Chem Biol. 2016 Apr;12(4):208-14. doi: 10.1038/nchembio.2044.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26991085/

Harms A, Brodersen DE, Mitarai N, Gerdes K. Toxins, Targets, and Triggers: An Overview of Toxin-Antitoxin Biology.
Mol Cell. 2018 Jun 7;70(5):768-784. doi: 10.1016/j.molcel.2018.01.003. Epub 2018 Feb 3.
https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1097-2765(18)30003-0

Lopatina A, Tal N, Sorek R. Abortive Infection: Bacterial Suicide as an Antiviral Immune Strategy.
Annu Rev Virol. 2020 Sep 29;7(1):371-384. doi: 10.1146/annurev-virology-011620-040628. Epub 2020 Jun 19.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32559405/

Safari F, Sharifi M, Farajnia S, Akbari B, Karimi Baba Ahmadi M, Negahdaripour M, Ghasemi Y.
The interaction of phages and bacteria: the co-evolutionary arms race.
Crit Rev Biotechnol. 2020 Mar;40(2):119-137. doi: 10.1080/07388551.2019.1674774. Epub 2019 Dec 2.

I sistemi tossina-antitossina (TA) sono piccoli elementi genetici trovati su plasmidi o cromosomi di molti batteri e Archaea.
In condizioni di crescita normali, l'attività della tossina proteica o la sua traduzione è contrastata da un'antitossina proteica o da un'antitossina a sRNA non codificante (vedi la figura sotto per la classificazione dei tipi di TA).

Le tossine sono stabili mentre le antitossine sono metabolicamente instabili per cui, a meno che l'antitossina non venga espressa continuamente, la tossina libera si accumula ed esercita il suo effetto tossico.
I cambiamenti nelle condizioni fisiologiche, come le condizioni di stress o l'infezione virale, possono provocare la degradazione dell'antitossina. Le proteasi (ad esempio Lon, Clp, Hlfp) sono state collegate alla degradazione di molte antitossine.

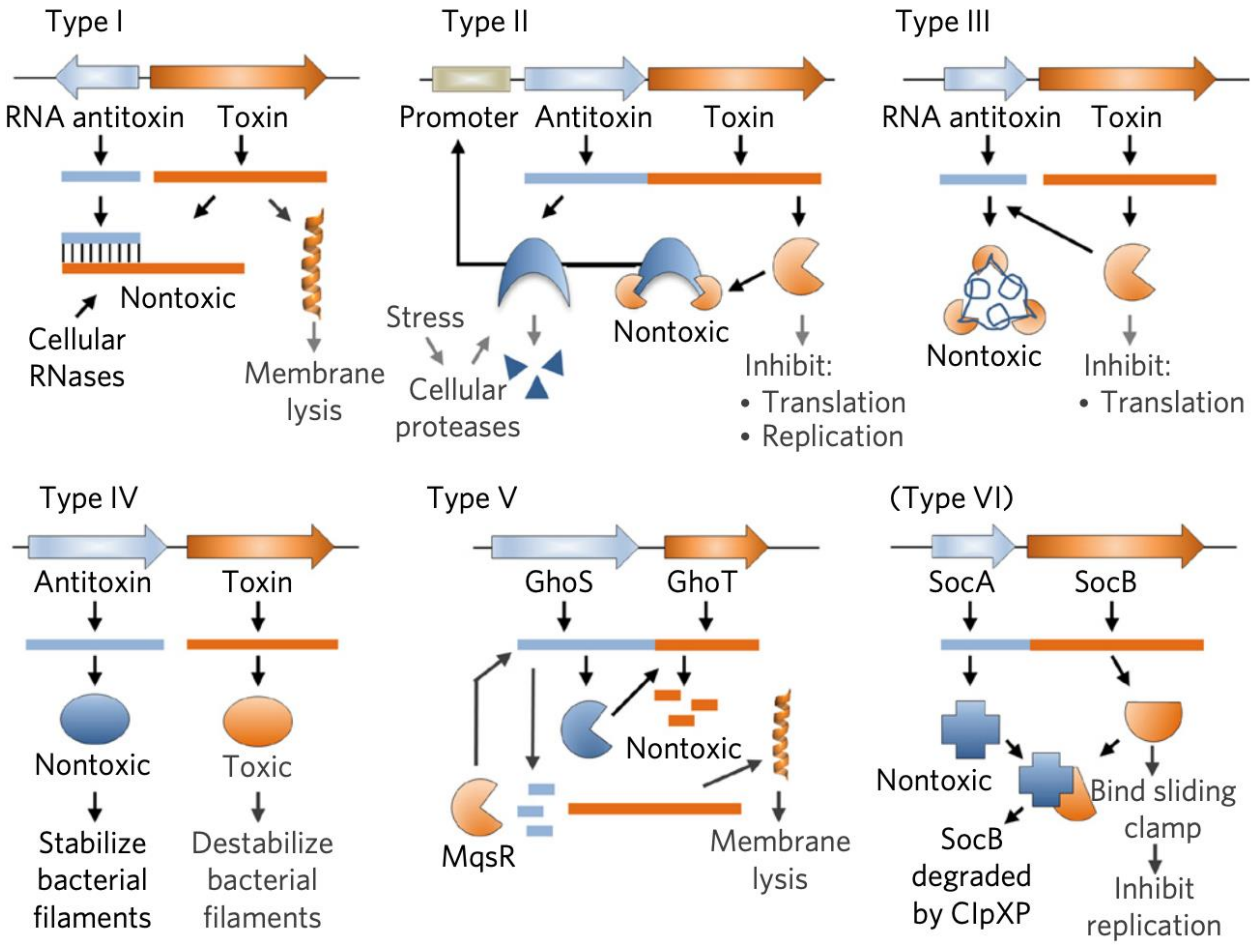
Le tossine proteiche liberate impediscono o alterano i processi cellulari tra cui la traduzione, la divisione cellulare, la replicazione del DNA, la sintesi di ATP, la stabilità dell'mRNA o la sintesi della parete cellulare e porta alla dormienza. Questo stato dormiente probabilmente consente ai batteri di sopravvivere in condizioni ambientali sfavorevoli, ma a volte può anche portare alla morte cellulare.

Sistemi tossina-antitossina come difesa antivirale

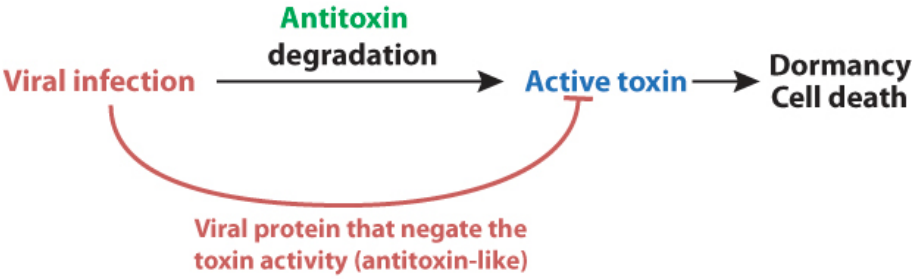
Alcuni sistemi TA agiscono come fattori antivirali: se il virus infettante inibisce la trascrizione e/o traduzione della cellula ospite, come spesso accade, l'antitossina instabile scompare e la tossina esercita il suo effetto tossico per limitare la replicazione virale. La maggior parte delle tossine nei sistemi TA utilizzati come fattori antivirali interferiscono con il processo di traduzione, principalmente tramite la scissione dell'mRNA o del tRNA.

I virus procarioti possono aggirare questo sistema di difesa esprimendo un prodotto simile all'antitossina e quindi inibire l'arresto della traduzione dell'ospite

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31793351/



https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26991085/
Sistemi tossina-antitossina. Le tossine sono indicate in arancione e le antitossine in blu; le attività non tossiche sono in caratteri neri, mentre quelle tossiche sono in grigio. Tipo I: la base dell'antitossina sRNA si accoppia con l'mRNA della tossina per inibire la traduzione; le tossine litiche di membrana funzionano per depolarizzare la membrana cellulare e interrompere la sintesi di ATP. Tipo II: l'antitossina e la tossina sono proteine; in condizioni di crescita, la tossina si lega all'antitossina, che ne inibisce l'attività. Sia l'antitossina che, nella maggior parte dei casi, il complesso AT legano il promotore dell'AT per reprimere la trascrizione. In condizioni di stress, vengono attivate proteasi cellulari come Lon e ClpXP che scindono preferenzialmente le antitossine, liberando le tossine per inibire la crescita inibendo la traduzione o la replicazione. Tipo III: l'sRNA dell'antitossina viene elaborato dalla tossina endoribonucleasi (RNasi), determinando la formazione di complessi pseudocno-tossina dell'RNA, che inibiscono l'attività della tossina. Tipo IV: la proteina antitossina stabilizza i filamenti batterici, mentre la tossina proteica li destabilizza; in assenza dell'antitossina, questa destabilizzazione mediata dalla tossina inibisce la divisione cellulare. Tipo V: l'antitossina GhoS è una RNasi specifica per l'mRNA ghoT della tossina; in condizioni di stress, l'mRNA dell'antitossina viene degradato dalla tossina MqsR, con conseguente traduzione di GhoT e lisi di membrana. Tipo VI: l'antitossina SocA è una proteina adattatore che lega la tossina SocB per favorirne la degradazione da parte di ClpXP. Quando non è degradata, la tossina si lega al morsetto scorrevole per inibire la replicazione del DNA



https://viralzone.expasy.org/4077

Sistemi tossina-antitossina e persistenza

Sui plasmidi, i sistemi TA aiutano il mantenimento dei plasmidi nella popolazione ospite. La cellula ospite non può liberarsi del plasmide che esprime il sistema TA perché l'antitossina sarà rapidamente degradata a differenza della tossina che è molto più stabile. Allo stesso modo, i sistemi di TA possono essere sfruttati dai virus per favorire la persistenza dei profagi portatori di AT.

Le sequenze tossiche nella Spike

L'epitopo legante il TCRVβ sulla spike del SARS-CoV-2 è centrato attorno a un motivo di sequenza polibasico, $P_{681}RRA_{684}$ (PRRA), e il confronto con altre sequenze di spike da altri β-CoV mostra [121] che la spike del SARS-CoV-2 si distingue per l'esistenza di questa inserzione a quattro residui, PRRA, che precede il sito di scissione S1 / S2 (legame peptidico R_{685}-S_{686}) (vedi figura seguente A).
Il confronto strutturale delle glicoproteine S del SARS-CoV-1 e SARS-CoV-2 mostra ulteriormente che differiscono in maniera significativa vicino al motivo PRRARS unico per SARS-CoV-2, esposto all'esterno (Fig. B). In particolare, l'esposizione di questo motivo e delle sequenze contigue è ulteriormente accentuata nel trimero S1 (Fig. C) dopo la scissione da parte delle proteasi umane (TMPRSS2 o furina) per consentire l'attivazione del trimero di fusione delle subunità S2.

L'inserto PRRA con i sette residui che precedono nella sequenza e il successivo R_{685} (conservato tra i β-CoV) formano un motivo, Y_{674}QTQTNSPRRAR$_{685}$, omologo a quello delle neurotossine dei generi *Ophiophagus* (cobra), *Bungarus*, e RABV [122] (Fig. D).

Lo stesso segmento ha una stretta somiglianza con il motivo SAg da F_{164} a V_{174} della glicoproteina HIV-1 gp120.
Questa stretta somiglianza di sequenza con le SAg batteriche e virali, a supporto del potenziale carattere superantigenico del tratto da Y_{674} a R_{685} della proteina S del SARS-CoV-2 , ha indirizzato gli autori ad analizzare ulteriormente la sua sequenza e struttura locale e ha permesso di evidenziare un'interessante somiglianza di sequenza tra il frammento T_{678} e Q_{690} della spike del SARS-Cov2 e il peptide superantigenico SEB T_{150}NKKKATVQELD$_{161}$.
Questa sequenza dodecapeptidica mostra una forte conservazione in un'ampia gamma di SAg stafilococciche e streptococciche. [123]
L'allineamento della sequenza del segmento del SARS-CoV-1 (da S_{664} a K_{672}) ha una somiglianza minima con l'SAg SEB, e ciò che è ancora più interessante è che il motivo SARS-Cov-2 ha mostrato un comportamento palindromico rispetto a questa sequenza SEB superantigenica, nel senso che un tratto più ampio, da E_{661} a R_{685}, potrebbe essere ugualmente allineato al peptide SAg in direzione inversa.
Ciò determina la versatilità e l'elevata propensione dei residui del sito di legame della spike del SARS-CoV-2 al TCRVβ a suscitare una risposta simile ai SAg.

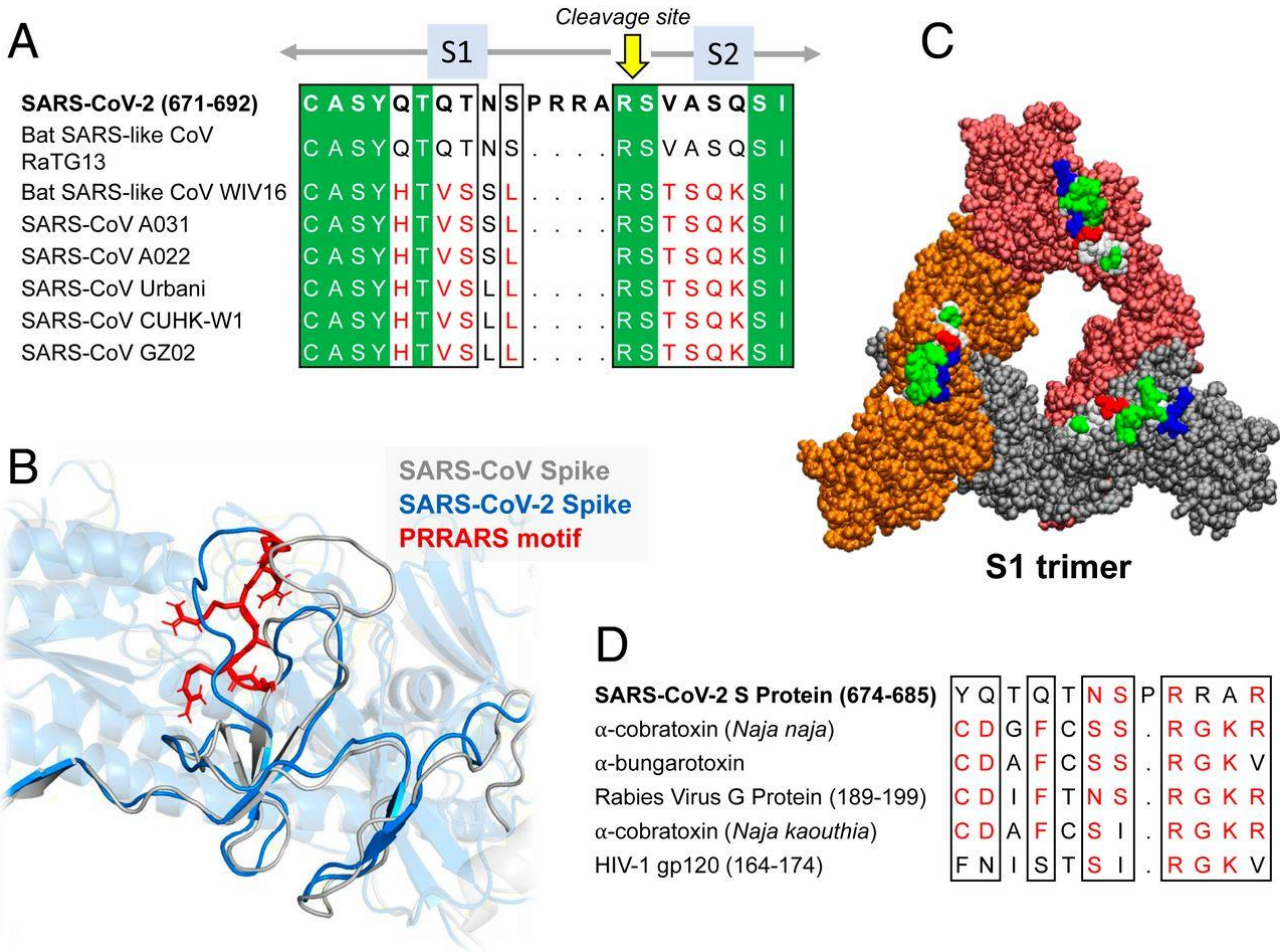
---

[121] Hoffmann M, et al
SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor.
Cell. 2020 Apr 16;181(2):271-280.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052. Epub 2020 Mar 5.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7102627/

[122] Changeux JP, Amoura Z, Rey FA, Miyara M.
A nicotinic hypothesis for Covid-19 with preventive and therapeutic implications.
C R Biol. 2020 Jun 5;343(1):33-39. doi: 10.5802/crbiol.8.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32720486/

[123] Arad G, et al
Binding of superantigen toxins into the CD28 homodimer interface is essential for induction of cytokine genes that mediate lethal shock.
PLoS Biol. 2011 Sep;9(9):e1001149. doi: 10.1371/journal.pbio.1001149. Epub 2011 Sep 13. Erratum in: PLoS Biol. 2015 Aug;13(8):e1002237.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3172200/

Popugailo A, Rotfogel Z, Supper E, Hillman D, Kaempfer R.
Staphylococcal and Streptococcal Superantigens Trigger B7/CD28 Costimulatory Receptor Engagement to Hyperinduce Inflammatory Cytokines.
Front Immunol. 2019 Apr 30;10:942. doi: 10.3389/fimmu.2019.00942.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6503043/



https://www.pnas.org/content/117/41/25254
Sequenza e proprietà strutturali dell'inserto PRRA.
(A e B) SARS-CoV-2 codifica sia un sito di scissione che motivi SAg-like 124 vicino all'inserzione PRRA che lo distingue da tutti i β-CoV correlati alla SARS. (A) Allineamento della sequenza di SARS-CoV-2 e più ceppi correlati alla SARS (1) vicino all'inserzione PRRA. (B) Allineamento strutturale di SARS-CoV-2 e SARS1 nella stessa regione. Il motivo PRRARS è mostrato in bastoncini rossi. (C) Trimero SARS-CoV-2 S composto solo da subunità S1. I protomeri sono di colore arancione, rosso e grigio e visualizzati nel formato van der Waals. I residui idrofobici, idrofili, acidi e basici nei motivi sporgenti da E661 a R685 sono rispettivamente di colore bianco, verde, rosso e blu. (D) Somiglianza di sequenza tra lo stretto vicinato dell'inserto PRRA, i motivi della neurotossina riportati in precedenza 125 e il motivo superantigenico dell'HIV-1 gp120 126 nell'ultima riga.

Il SEB consente l'attivazione e la proliferazione diffusa delle cellule T, con conseguente produzione massiccia di citochine proinfiammatorie tra cui IFNγ, TNFα e IL-2 dalle cellule T, nonché IL-1 e TNFα dalle cellule che presentano l'antigene [127].
Questa tempesta di citochine porta a danni multiorgano come quelli che si osservano nella MIS-C.

---

[124] Changeux JP, Amoura Z, Rey FA, Miyara M. A
nicotinic hypothesis for Covid-19 with preventive and therapeutic implications.
C R Biol. 2020 Jun 5;343(1):33-39. doi: 10.5802/crbiol.8.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32720486/

[125] Changeux JP, Amoura Z, Rey FA, Miyara M.
A nicotinic hypothesis for Covid-19 with preventive and therapeutic implications.
C R Biol. 2020 Jun 5;343(1):33-39. doi: 10.5802/crbiol.8.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32720486/

[126] Bracci L, Ballas SK, Spreafico A, Neri P.
Molecular mimicry between the rabies virus glycoprotein and human immunodeficiency virus-1 GP120: cross-reacting antibodies induced by rabies vaccination.
Blood. 1997 Nov 1;90(9):3623-8.
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006497120564549?via%3Dihub

[127] Krakauer T.
Staphylococcal Superantigens: Pyrogenic Toxins Induce Toxic Shock.
Toxins (Basel). 2019 Mar 23;11(3):178. doi: 10.3390/toxins11030178.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6468478/

I risultati suggeriscono che la sindrome iperinfiammatoria abbia origine dall'attività superantigenica della glicoproteina S del SARS-CoV-2, e sollevano la possibilità che l'iperinfiammazione osservata nei casi gravi di COVID-19 negli adulti possa essere attivata anche dall'azione SAg-like della proteina S.
Infatti, le SAgs inducono un profilo di citochine infiammatorie simile a quello che si manifesta nei casi gravi fatali di COVID-19, incluse IL-6, TNFα, IL-8 e IL-1β [128]. Infine, l'analisi della risposta immunitaria dei linfociti T nei pazienti COVID-19 che manifestano la malattia iperinfiammatoria grave ha evidenziato un'espansione dei TCR coerenti con l'attivazione del superantigene.

Questa interazione tra il virus e le cellule T umane potrebbe essere rafforzata nelle varianti (es. mutazione D839Y/N/E) [129], e potrebbe (almeno in parte) spiegare i cluster della MIS-C nelle aree geografiche in cui la variante è endemica.
È anche possibile che una scarsa risposta anticorpale iniziale al virus non riesca a neutralizzare il SAg, come recentemente dimostrato in pazienti MIS-C [130], portando a un potenziamento immunitario dopo la riesposizione. [131]
È interessante notare che circa un terzo o meno dei pazienti con MIS-C erano positivi per il SARS-CoV-2, ma la maggior parte era positivo al test sierologico o aveva un'anamnesi di COVID-19 [132].
Ciò potrebbe suggerire che il SAg del SARS-CoV-2 provoca una risposta da iperinfiammazione ritardata in alcuni bambini.
Inoltre, i SAg sono stati implicati nell'autoimmunità in quanto sono in grado di innescare le cellule T autoreattive [133].

---

[128] Hoffmann M, et al
SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor.
Cell. 2020 Apr 16;181(2):271-280.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052. Epub 2020 Mar 5.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7102627/

Krakauer T.
Staphylococcal Superantigens: Pyrogenic Toxins Induce Toxic Shock.
Toxins (Basel). 2019 Mar 23;11(3):178. doi: 10.3390/toxins11030178.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6468478/

[129] B Korber, on behalf of the Sheffield COVID-19 Genomics Group, CC LaBranche, DC Montefiori
Spike mutation pipeline reveals the emergence of a more transmissible form of SARS-CoV-2
bioRxiv 2020.04.29.069054; doi: https://doi.org/10.1101/2020.04.29.069054
https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.04.29.069054v2.full.pdf

Shing Hei Zhan, Benjamin E. Deverman, Yujia Alina Chan
SARS-CoV-2 is well adapted for humans. What does this mean for re-emergence?
bioRxiv 2020.05.01.073262; doi: https://doi.org/10.1101/2020.05.01.073262
https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.05.01.073262v1.full.pdf

[130] Weisberg SP, Connors T, Zhu Y, et al.
Antibody responses to SARS-CoV2 are distinct in children with MIS-C compared to adults with COVID-19.
Preprint. medRxiv. 2020;2020.07.12.20151068. Published 2020 Jul 14. doi:10.1101/2020.07.12.20151068
https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.07.12.20151068v1.full.pdf

[131] Tirado SM, Yoon KJ.
Antibody-dependent enhancement of virus infection and disease.
Viral Immunol. 2003;16(1):69-86. doi: 10.1089/088282403763635465.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12725690/

[132] Riphagen S, Gomez X, Gonzalez-Martinez C, Wilkinson N, Theocharis P.
Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic.
Lancet. 2020 May 23;395(10237):1607-1608. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31094-1. Epub 2020 May 7.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7204765/

Verdoni L, Mazza A, Gervasoni A, Martelli L, Ruggeri M, Ciuffreda M, Bonanomi E, D'Antiga L.
An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational cohort study.
Lancet. 2020 Jun 6;395(10239):1771-1778. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31103-X. Epub 2020 May 13.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7220177/

Belhadjer Z, et al
Acute Heart Failure in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children in the Context of Global SARS-CoV-2 Pandemic.
Circulation. 2020 Aug 4;142(5):429-436. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048360. Epub 2020 May 17.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32418446/

[133] Li H, Llera A, Malchiodi EL, Mariuzza RA.
The structural basis of T cell activation by superantigens.
Annu Rev Immunol. 1999;17:435-66. doi: 10.1146/annurev.immunol.17.1.435.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10358765/

È anche possibile che, nonostante un test RT-PCR nasofaringeo negativo, il virus possa essere ancora presente nel tratto gastrointestinale [134].
I pazienti MIS-C mostrano sintomi gastrointestinali insolitamente gravi, dolore addominale, vomito e diarrea, oltre ad una grave disfunzione miocardica e shock cardiaco [132] ed è noto che sintomi gastrointestinali gravi sono frequentemente associati anche alla risposta a SAgs [135].
Nel caso del SEB, la scissione e il rilascio di un frammento specifico è responsabile dell'induzione dei sintomi gastrointestinali. Resta da determinare se la struttura SAg-simile del SARS-CoV-2 viene tagliata in modo simile e possa essere alla base dei sintomi gastrointestinali osservati nei pazienti MIS-C.

SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA (RAS) E VACCINI COVID [136]

Approfondimento

PATOGENESI DELLA COAGULOPATIA ASSOCIATA AL COVID-19 (CAC)

Di seguito si riporta un estratto del preprint Renin-Angiotensin System, SARS-CoV-2 and Hypotheses about Some Adverse Effects Following Vaccination del prof. Bellavite Paolo

Il sistema cardiovascolare è spesso coinvolto precocemente nel COVID-19, come evidenziato dal rilascio di troponina altamente sensibile e peptidi natriuretici, in particolare nei pazienti che mostrano un aumento delle citochine come l'interleuchina-6 [137]. È noto che il virus SARS-CoV-2 utilizza ACE2 come recettore di ingresso cellulare, con il priming da parte della serina proteasi transmembrana isoforma 2 (TMPRSS2), ma può anche legare l'ACE2 solubile (sACE) presente nel plasma, e tutto ciò non può non avere conseguenze nel decorso della malattia COVID-19.
L'ACE2 svolge un ruolo nella regolazione dei sistemi che potrebbero essere potenzialmente coinvolti anche nella patogenesi del COVID-19: il sistema chinina-callicreina, con conseguente edema infiammatorio polmonare acuto, il RAS, promuovendo l'instabilità cardiovascolare, e il sistema di coagulazione, che porta al tromboembolismo.[138]
Nel complesso, la regolazione omeostatica del sistema cardiovascolare controllata dall'ACE2 sarebbe disturbata nell'infezione da SARS-CoV-2 a causa del legame del virus a questi recettori cellulari. [139]

---

[134] Xu Y, Li X, Zhu B, Liang H, Fang C, Gong Y, Guo Q, Sun X, Zhao D, Shen J, Zhang H, Liu H, Xia H, Tang J, Zhang K, Gong S.
Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding.
Nat Med. 2020 Apr;26(4):502-505. doi: 10.1038/s41591-020-0817-4. Epub 2020 Mar 13.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7095102/

[135] Low DE.
Toxic shock syndrome: major advances in pathogenesis, but not treatment.
Crit Care Clin. 2013 Jul;29(3):651-75. doi: 10.1016/j.ccc.2013.03.012.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23830657/

[136] Bellavite, Paolo,
Renin-Angiotensin System, SARS-CoV-2 and Hypotheses about Some Adverse Effects Following Vaccination
(February 8, 2021). Available at http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3781903
https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3781903

[137] Du F, Liu B, Zhang S.
COVID-19: the role of excessive cytokine release and potential ACE2 down-regulation in promoting hypercoagulable state associated with severe illness.
J Thromb Thrombolysis. 2021 Feb;51(2):313-329. doi: 10.1007/s11239-020-02224-2.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7365308/

Liu PP, Blet A, Smyth D, Li H.
The Science Underlying COVID-19: Implications for the Cardiovascular System.
Circulation. 2020 Jul 7;142(1):68-78. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047549. Epub 2020 Apr 15.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32293910/

[138] Oz M, Lorke DE.
Multifunctional angiotensin converting enzyme 2, the SARS-CoV-2 entry receptor, and critical appraisal of its role in acute lung injury.
Biomed Pharmacother. 2021 Apr;136:111193. doi: 10.1016/j.biopha.2020.111193. Epub 2021 Jan 5.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7836742/

[139] Lu J, Sun PD.
High affinity binding of SARS-CoV-2 spike protein enhances ACE2 carboxypeptidase activity.
Preprint. bioRxiv. 2020;2020.07.01.182659. Published 2020 Jul 1. doi:10.1101/2020.07.01.182659

La disregolazione potrebbe causare squilibri in entrambe le direzioni:
- da un lato, il legame del virus ai recettori ne provoca la diffusione e il rilascio nel sangue, con aumento dell'attività di sACE2. Quando i virus si attaccano alle cellule, una certa quantità di mACE2 (ACE legata alla membrana) viene scissa dalla proteasi transmembrana serina 2 (TMPRRS2) [140] e passa nel plasma, nel qual caso si ha una diminuzione dell'angiotensina II portando a ipotensione. Nei pazienti con COVID-19 grave si ha infatti un aumento di sACE2, ma allo stesso tempo questo non sembra sufficiente a fermare i processi infiammatori sistemici innescati nei casi clinicamente più gravi.
Al quadro fisiopatologico descritto dobbiamo aggiungere che la proteina spike trimerica SARS-CoV-2 aumenta l'attività proteolitica dell'ACE2 di 3-10 volte contro un analogo della bradichinina [141]. Il potenziamento della funzione dell'enzima ACE2, mediato dal legame del dominio RBD della spike, evidenzia il potenziale per l'infezione da SARS-CoV-2 di essere rilevante per i sintomi cardiovascolari associati alla COVID-19.
- Dall'altra parte, l'internalizzazione del virus con le molecole sACE2 e mACE2 legate alla spike, porta ad un impoverimento globale dell'attività enzimatica.
Nel primo caso è prevedibile una tendenza ad abbassare la pressione sanguigna, nel secondo caso una tendenza ad aumentare la pressione

Un'altra importante connessione fisiopatologica è stabilita tra il RAS e il sistema chinina/callicreina.
Quando si forma il fattore XII attivato (fattore XIIa), si ha la conversione della precallicreina (PK) in callicreina e la callicreina scinde il chininogeno ad alto peso molecolare (HK) per rilasciare la bradichinina.
Pertanto, l'attivazione dipendente dalle cellule endoteliali può essere avviata mediante l'attivazione del fattore XII o l'attivazione di PK-HK [142].
Una disregolazione della bradichinina spiega diversi meccanismi di malattie infiammatorie e disturbi della coagulazione. Vari lavori hanno evidenziato l'importanza del sistema chininico nella COVID-19, anche parlando di una "tempesta chininica" responsabile di fenomeni incontrollati di vasodilatazione, permeabilità vascolare e ipotensione [143].
Entrando nella cellula, il virus porta con sé i recettori a cui si è attaccato e anche le molecole di ACE2 legate alla spike sulla sua superficie. Se questo processo coinvolge molti virus e molte cellule, l'equilibrio del RAS viene interrotto con diverse conseguenze: aumento della pressione sanguigna, diminuzione del flusso polmonare, reazioni infiammatorie, stress ossidativo, tendenza alla coagulazione e alla trombosi.
Se l'interazione tra la spike prodotta dal vaccino e l'ACE2 endogeno portasse ad un aumento dell'attività enzimatica, ci si aspetterebbe un andamento bifasico sulla funzione cardiovascolare: nei primi giorni si osserverebbe una diminuzione dell'angiotensina II e dell'ipotensione, mentre in nei giorni successivi, quando iniziano a formarsi gli anticorpi anti-spike, potrebbe esserci un'inversione di tendenza.

---

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7337377/

[140] Davidson AM, Wysocki J, Batlle D.
Interaction of SARS-CoV-2 and Other Coronavirus With ACE (Angiotensin-Converting Enzyme)-2 as Their Main Receptor: Therapeutic Implications.
Hypertension. 2020 Nov;76(5):1339-1349. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15256. Epub 2020 Aug 27.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7480804/

[141] Lu J, Sun PD.
High affinity binding of SARS-CoV-2 spike protein enhances ACE2 carboxypeptidase activity.
bioRxiv [Preprint]. 2020 Jul 1:2020.07.01.182659. doi: 10.1101/2020.07.01.182659. Update in: J Biol Chem. 2020 Oct 29
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7337377/

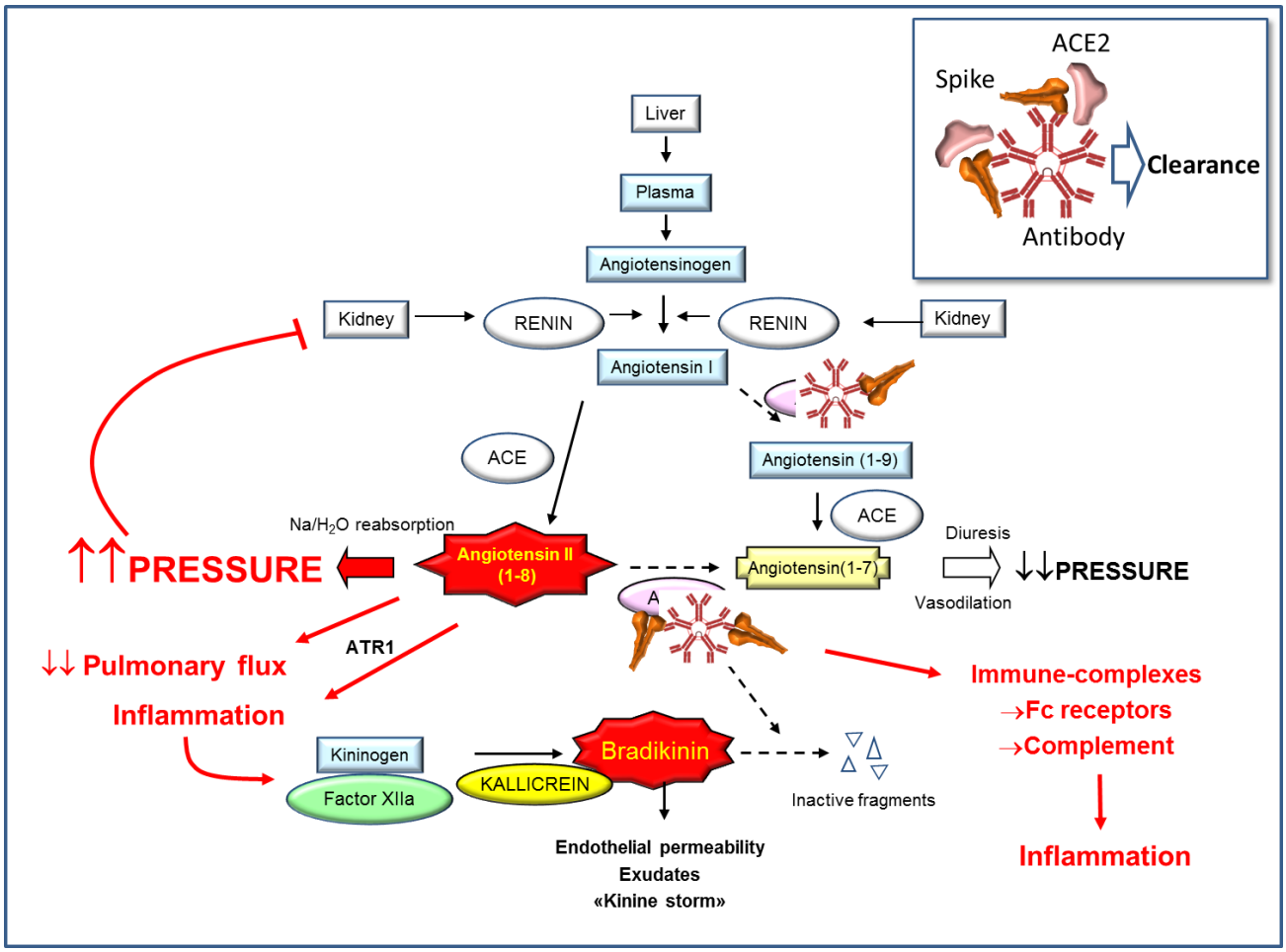
[142] Kaplan AP, Joseph K.
Pathogenic mechanisms of bradykinin mediated diseases: dysregulation of an innate inflammatory pathway.
Adv Immunol. 2014;121:41-89. doi: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00002-7.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24388213/

[143] McCarthy CG, Wilczynski S, Wenceslau CF, Webb RC.
A new storm on the horizon in COVID-19: Bradykinin-induced vascular complications.
Vascul Pharmacol. 2021;137:106826. doi:10.1016/j.vph.2020.106826
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7834250/

Garvin MR, et al
A mechanistic model and therapeutic interventions for COVID-19 involving a RAS-mediated bradykinin storm.
Elife. 2020 Jul 7;9:e59177. doi: 10.7554/eLife.59177.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7410499/

Nella fase ipotensiva, infatti, la risposta omeostatica dell'organismo porterebbe ad un aumento compensatorio della produzione di angiotensina II, senza specifiche conseguenze dovute alla presenza di un aumento di ACE2, ma non appena iniziano a formarsi gli anticorpi, questi legherebbero le proteine spike che si sono formate nel frattempo e potrebbero anche legarsi alle molecole ACE2.
Di conseguenza, gli immunocomplessi verrebbero eliminati dall'azione del sistema monociti-macrofagi e la concentrazione di ACE2 finirebbe per diminuire rapidamente.
Ciò porterebbe ad un rapido aumento dell'angiotensina II, non più contrastata dall'ACE2, con aumento della pressione e conseguenze pro-infiammatorie legate all'attivazione dei recettori AT1.
Inutile dire che un improvviso aumento della pressione in una persona precedentemente ipotesa potrebbe avere gravi conseguenze sul cuore e sui vasi, soprattutto se è presente un grado di vulnerabilità anatomico (es. aneurisma arterioso) o patologico (es. aterosclerosi).
Se le spike catturate dai nuovi anticorpi sono a loro volta legate alle molecole di sACE2, è prevedibile che il risultato netto sia una diminuzione dell'attività enzimatica dell'ACE2.
Se questo è il caso, ciò aumenterà il livello di angiotensina II, con un conseguente brusco aumento della pressione e attivazione del sistema chininico che potrebbe verificarsi in alcuni individui pochi giorni dopo la vaccinazione e il fenomeno potrebbe avere conseguenze più significative nel caso delle persone anziane o soggetti con malattie cardiache o vascolari.
È altamente probabile che individui sani possano superare questo aumento transitorio dell'angiotensina II indotto dal vaccino come fanno nelle infezioni virali. Tuttavia, con un RAS già sbilanciato, gli individui anziani e in comorbidità che assumono il vaccino possono manifestare effetti avversi mediati da picchi improvvisi di angiotensina II che devono essere attentamente previsti e monitorati.
Questo modello concettuale non esclude che, in alcuni pazienti con condizioni predisponenti, si possano verificare eventi trombotici anche nei primi giorni dopo la vaccinazione, quando vengono prodotte proteine spike e in presenza di attività ACE2. La tendenza pro-infiammatoria e pro-trombotica può anche insorgere a causa dell'azione delle proteine spike prodotte a seguito della vaccinazione.
Considerando le piastrine, si potrebbe anche ipotizzare che la loro attivazione da parte della proteina spike possa portare a un rilascio indesiderato di serotonina nel flusso sanguigno e questo potrebbe forse spiegare alcuni sintomi neurologici frequentemente riportati negli studi sui vaccini, come stanchezza e sintomi gastrointestinali.
Inoltre, gli immunocomplessi formati da spike e nuovi anticorpi potrebbero aumentare le reazioni dei fagociti attraverso i loro recettori Fc o innescare C1q e la successiva cascata del complemento. [144]

[144] Hester CG, Frank MM.
Complement activation by IgG containing immune complexes regulates the interaction of C1q with its ligands.
Mol Immunol. 2019 Dec;116:117-130. doi: 10.1016/j.molimm.2019.10.004. Epub 2019 Oct 18.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31634815/



https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3781903&download=yes
Ipotesi di squilibrio RAS dovuto alla clearance della proteina spike con ACE2 legato da anticorpi indotti dal vaccino.

LONG-COVID E DANNI DA VACCINO A LUNGO TERMINE

Come già visto sopra, il recettore cellulare per SARS-CoV-2 è l'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2), che ha un ruolo nel metabolismo dei peptidi dell'angiotensina coinvolti nel controllo della vasocostrizione e della pressione sanguigna [145]. L'ACE2 si trova in diversi tessuti associati alla funzione cardiovascolare, ma anche nel cervello, compresi i nuclei del tronco cerebrale coinvolti nella regolazione cardio-respiratoria [146]. Pertanto, i problemi respiratori nei pazienti con COVID-19 potrebbero derivare anche dall'azione diretta del SARS-CoV-2 nei nuclei di controllo respiratorio nel cervello [147].

---

[145] Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q.
Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2.
Science. 2020 Mar 27;367(6485):1444-1448. doi: 10.1126/science.abb2762. Epub 2020 Mar 4.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7164635/

[146] Baig AM, Khaleeq A, Ali U, Syeda H.
Evidence of the COVID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue Distribution, Host-Virus Interaction, and Proposed Neurotropic Mechanisms.
ACS Chem Neurosci. 2020;11(7):995-998. doi:10.1021/acschemneuro.0c00122
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7094171/

Doobay MF, Talman LS, Obr TD, Tian X, Davisson RL, Lazartigues E.
Differential expression of neuronal ACE2 in transgenic mice with overexpression of the brain renin-angiotensin system.
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2007;292(1):R373-R381. doi:10.1152/ajpregu.00292.2006
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1761128/

[147] Li YC, Bai WZ, Hashikawa T.
The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients.
J Med Virol. 2020 Jun;92(6):552-555. doi: 10.1002/jmv.25728. Epub 2020 Mar 11.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7228394/

Attraverso il suo legame ai recettori ACE2, il SARS-CoV-2 può diffondersi per via transneuronale a bersagli cerebrali distanti, in modo simile ad altri virus neurotropici [148], come previsto dall'ipotesi di Braak.
Ne segue che, sebbene il recupero dalla fase acuta delle infezioni sia certamente un sollievo in termini di salute pubblica, in quanto aiuta a fermare la diffusione dell'infezione, gli effetti neurologici e multiorgano a lungo termine della malattia anche in soggetti sani asintomatici potrebbero diventare un grave problema sanitario da gestire e vanno presi nella dovuta considerazione.

La COVID-19 può comportare infatti sequele e altre complicazioni mediche che durano settimane o mesi dopo il recupero iniziale, che sono state definite come *Long-COVID o COVID a lungo termine*. [149]
Fino al 30-50% dei sopravvissuti alla COVID-19 sperimenta dispnea e tosse persistenti per 2-3 mesi.
Dolore toracico, palpitazioni cardiache e tachicardia sono altri sintomi comuni del long-COVID che si verificano in circa il 20-40% dei sopravvissuti.
Il long-COVID comporta inoltre una miriade di sintomi neurologici che possono verificarsi nel 20-70% dei casi, come affaticamento, mialgia, insonnia, mal di testa, depressione, ansia, alterazioni dell'olfatto e del gusto e disturbi cognitivi, in quanto l'invasione del SARS-CoV-2 nel tronco encefalico può disturbare i sistemi dei neurotrasmettitori nel cervello.
In particolare, il long-COVID assomiglia ed è strettamente associato all'encefalomielite mialgica o alla sindrome da stanchezza cronica (ME / CFS), caratterizzata da affaticamento, mialgia e disturbi cognitivi e del sonno. [150]

È importante notare che l'imaging cerebrale ha rilevato che la gravità dei sintomi della ME / CFS si correla con la disfunzione del tronco cerebrale, in particolare al RAS. [151]
Pertanto, la disfunzione del tronco cerebrale può provocare una malattia fatale o persistente, di cui quest'ultima può includere il long-COVID.

---

[148] McGavern DB, Kang SS.
Illuminating viral infections in the nervous system.
Nat Rev Immunol. 2011 May;11(5):318-29. doi: 10.1038/nri2971.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5001841/

[149] Lopez-Leon S, Wegman-Ostrosky T, Perelman C, et al.
More than 50 Long-term effects of COVID-19: a systematic review and meta-analysis.
Preprint. medRxiv. 2021;2021.01.27.21250617. Published 2021 Jan 30. doi:10.1101/2021.01.27.21250617
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7852236/

Huang C, Huang L, Wang Y, et al.
6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study.
Lancet. 2021;397(10270):220-232. doi:10.1016/S0140-6736(20)32656-8
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7833295/

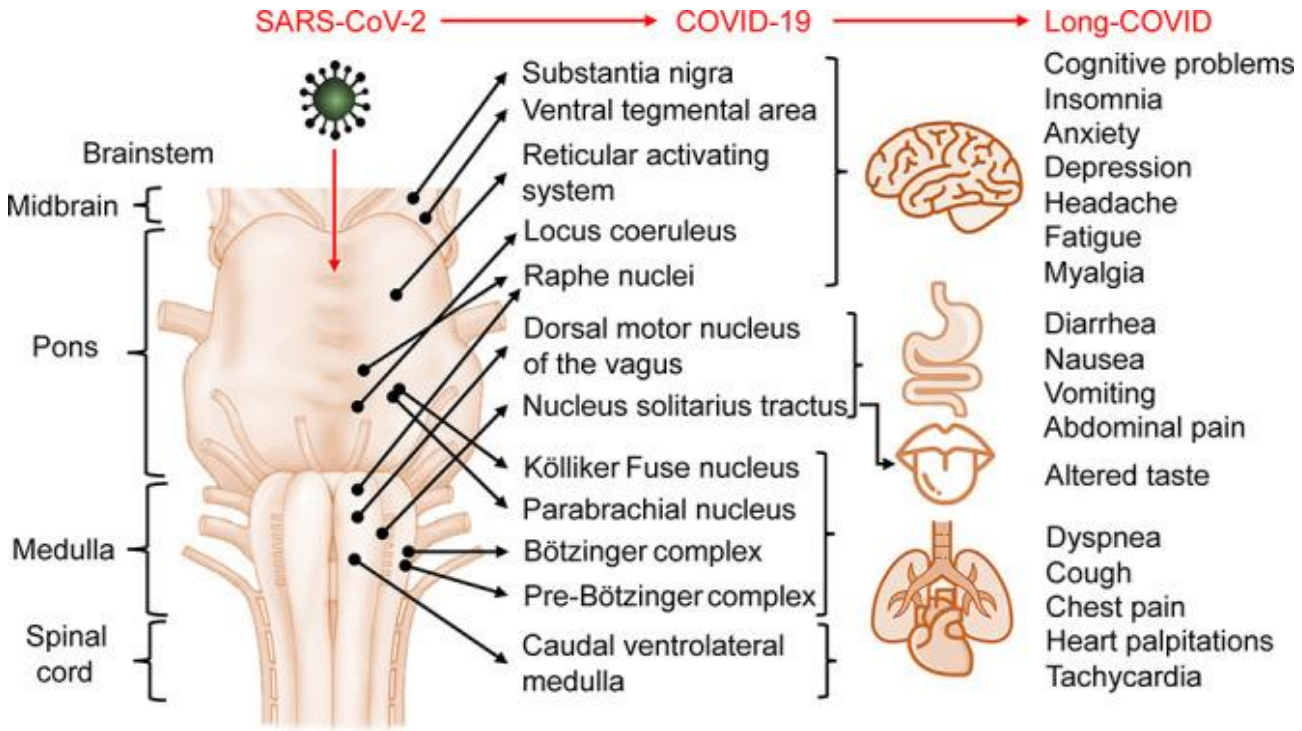
Yong SJ. Persistent Brainstem Dysfunction in Long-COVID: A Hypothesis.
ACS Chem Neurosci. 2021;12(4):573-580. doi:10.1021/acschemneuro.0c00793
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7874499/

[150] Callard F, Perego E.
How and why patients made Long Covid.
Soc Sci Med. 2021 Jan;268:113426. doi: 10.1016/j.socscimed.2020.113426. Epub 2020 Oct 7.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7539940/

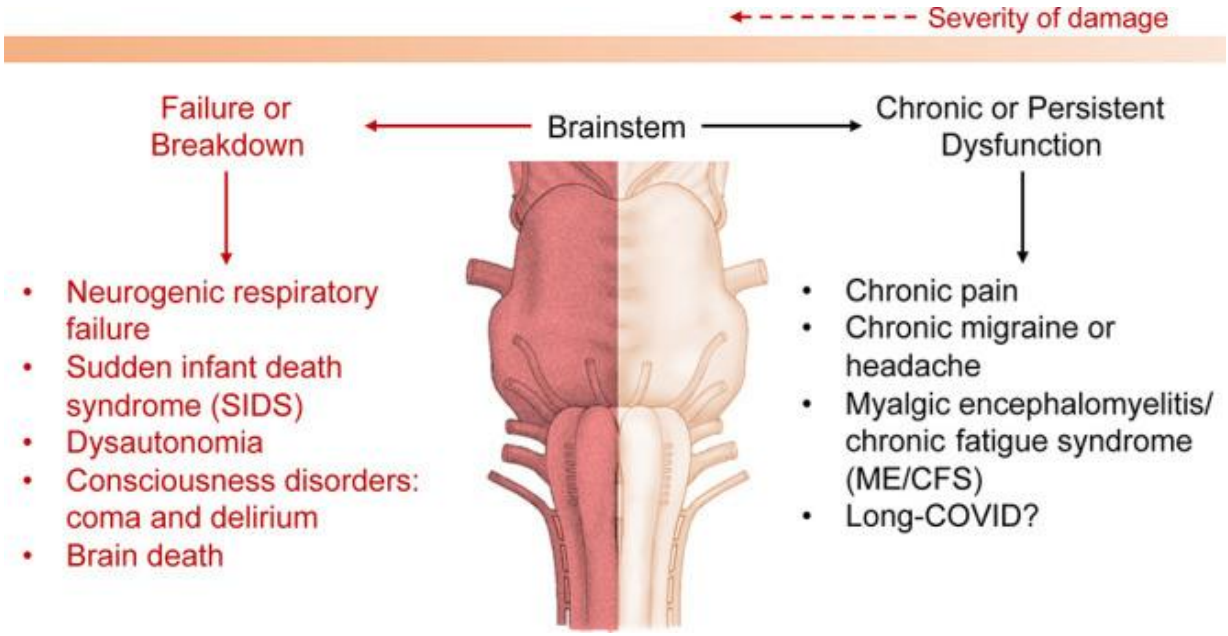
Perrin R, Riste L, Hann M, Walther A, Mukherjee A, Heald A.
Into the looking glass: Post-viral syndrome post COVID-19.
Med Hypotheses. 2020;144:110055. doi:10.1016/j.mehy.2020.110055
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7320866/

[151] VanElzakker MB, Brumfield SA, Lara Mejia PS.
Neuroinflammation and Cytokines in Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS): A Critical Review of Research Methods
[published correction appears in Front Neurol. 2019 Apr 02;10:316] [published correction appears in Front Neurol. 2020 Sep 17;11:863]. Front Neurol. 2019;9:1033. Published 2019 Jan 10. doi:10.3389/fneur.2018.01033
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6335565/

Barnden LR, Shan ZY, Staines DR, et al.
Hyperintense sensorimotor T1 spin echo MRI is associated with brainstem abnormality in chronic fatigue syndrome.
Neuroimage Clin. 2018;20:102-109. doi:10.1016/j.nicl.2018.07.011
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6309570/



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7874499/
Panoramica dell'ipotesi di disfunzione del tronco cerebrale in COVID lungo. Si noti che i nuclei e le sottoparti del midollo, del ponte e del mesencefalo del tronco cerebrale non sono disegnati in scala e potrebbero non riflettere le esatte strutture neuroanatomiche.
Le abbreviazioni utilizzate sono le seguenti: ACE2, enzima di conversione dell'angiotensina 2; COVID-19, malattia da coronavirus 2019; NRP-1, neuropilina-1; SARS-CoV-2, sindrome respiratoria acuta grave da coronavirus 2.



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7874499/
Panoramica dei disturbi legati alla disfunzione del tronco cerebrale, che può essere fatale o persistente. Si noti che le tonalità più scure di rosso / arancione indicano condizioni più gravi.

Oltre ai danni neurologici sono state riscontrate anche malattie come ictus e diabete mellito.
I parametri di laboratorio misurati includevano valori elevati di interleuchina-6 (IL-6), procalcitonina, ferritina sierica, proteina C-reattiva (CRP), ormone N-terminale (NT) -pro BNP (NT-proBNP) e D -dimero.
Inoltre è stato riportato che tre mesi dopo il ricovero per COVID-19, un quarto dei pazienti presentava opacità TC del torace e ridotta capacità di diffusione.[152]

[152] Lerum TV, et al
Dyspnoea, lung function and CT findings three months after hospital admission for COVID-19.

Da un confronto tra i sintomi della malattia cronica da COVID [149] (long-COVID vedi immagini sotto) e le reazioni avverse segnalate con il vaccino Pfizer (vedi documento "Pfizer") si vede che c'è una stretta analogia, e che molte di queste possono rientrare nella categoria delle malattie autoimmunitarie/infiammatorie e da tossicità della spike.
Quindi le reazioni avverse da vaccino potrebbero "mimare" le conseguenze a lungo termine del COVID stesso in persone che sarebbero altrimenti sane se non vaccinate.

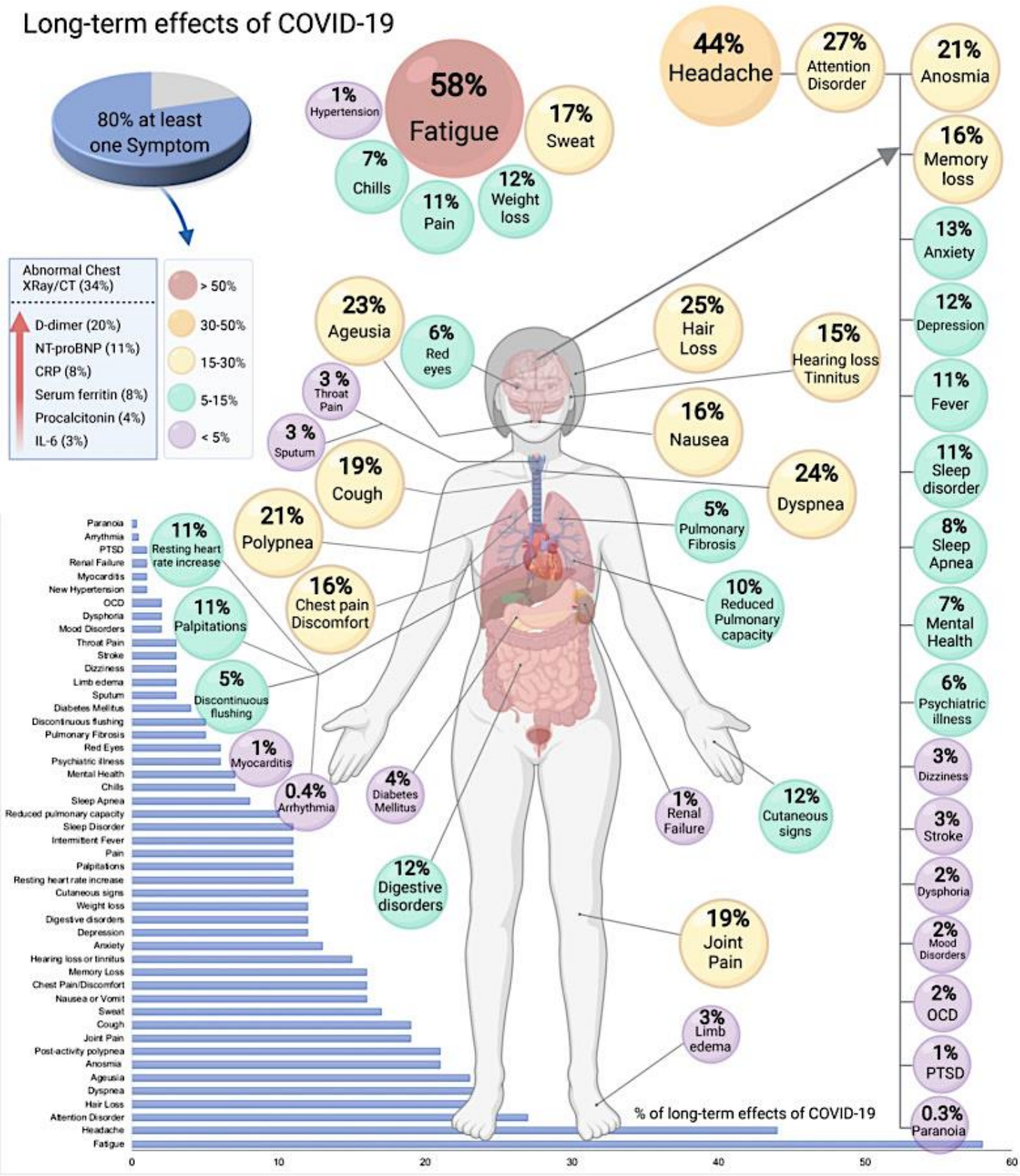
Di seguito si riportano le reazioni avverse raccolte durante la farmacovigilanza del vaccino Pfizer.[153]

COVID-19 mRNA Pfizer- BioNTech vaccine analysis print
Report Run Date: 12-Feb-2021
Data Lock Date: 11-Feb-2021 19:00:03
All UK spontaneous reports received between 09/12/20 and 07/02/21 for mRNA Pfizer/BioNTech vaccine analysis print

https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/962405/COVID-19_mRNA_Pfizer-_BioNTech_Vaccine_Analysis_Print.pdf

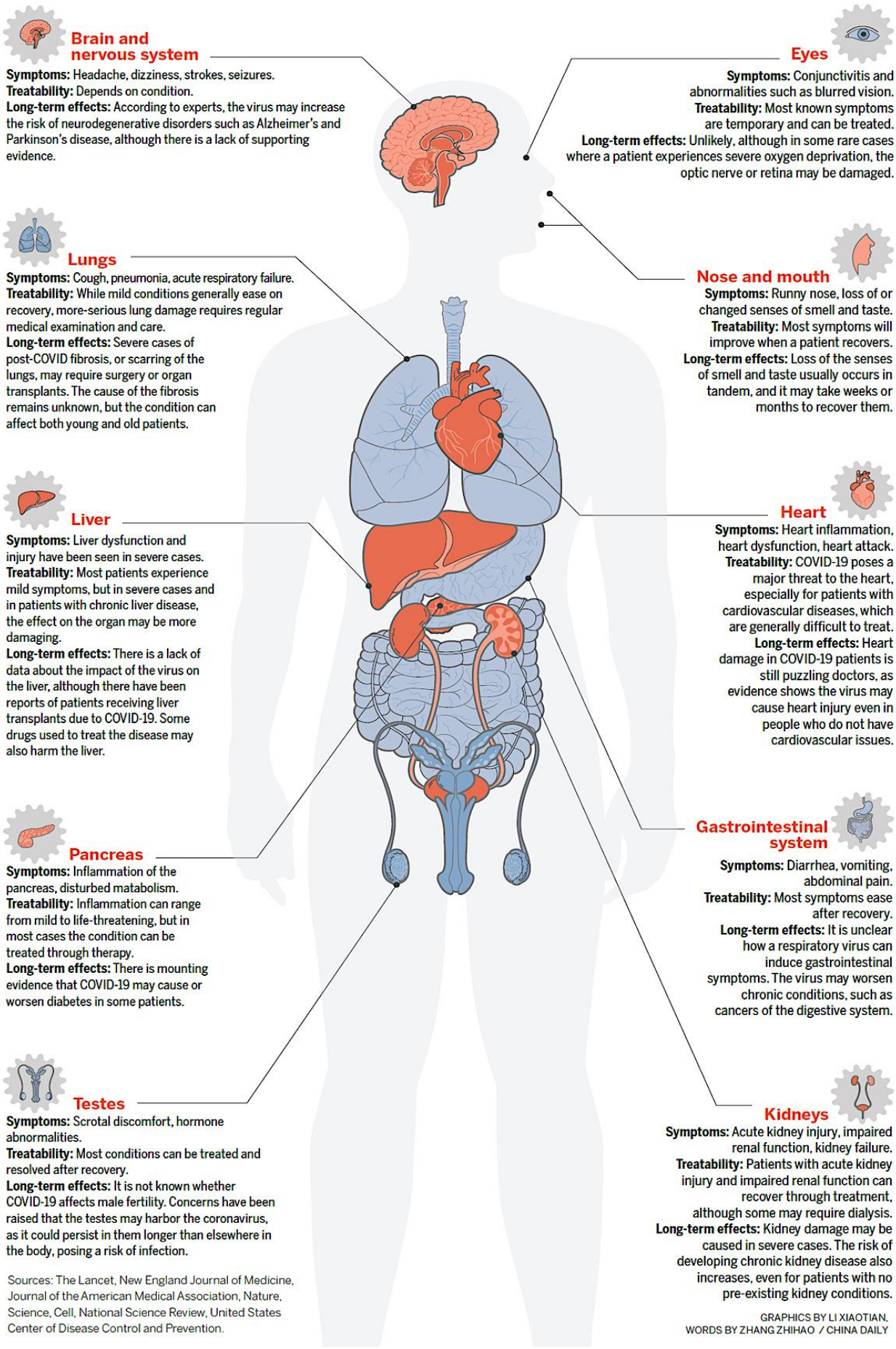
Eur Respir J. 2020 Dec 10:2003448. doi: 10.1183/13993003.03448-2020.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7736755/

[153] https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/962405/COVID-19_mRNA_Pfizer-_BioNTech_Vaccine_Analysis_Print.pdf



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7852236/
Effetti a lungo termine della malattia da coronavirus 2019 (COVID-19).
La meta-analisi degli studi includeva una stima per uno o più sintomi riferiti che l'80% dei pazienti con COVID-19 ha sintomi a lungo termine. Abbreviazioni: proteina C-reattiva (CRP), tomografia computerizzata (TC), interleuchina-6 (IL-6), ormone N-terminale (NT) -pro BNP (NT-proBNP), disturbo ossessivo compulsivo (DOC), post- disturbo traumatico da stress (PTSD).

How COVID-19 affects the body



https://www.chinadaily.com.cn/a/202007/31/WS5f237414a31083481725d51f.html

EPIGENETICA E CORONAVIRUS

Gli RNA eucariotici si dividono in: *coding RNAs*, che sono processati per la produzione di proteine (2% degli RNA totali) e da *non-coding RNAs*, che invece non codificano per proteine ma sono coinvolti in molti processi come lo splicing (98% degli RNA totali).
Quest'ultima classe può essere ulteriormente suddivisa in *large* e *small RNA* che si differenziano a seconda del numero di basi.
Alla classe degli small RNA appartengono due RNA importanti definiti: *siRNA* e *miRNA*, che riescono a riconoscere la loro sequenza bersaglio per complementarietà.
Nelle piante, tutti gli **siRNA** e i miRNA, essendo molto piccoli, 20-25 nt, sono associati ad un complesso proteico detto RISC che ne evita la degradazione. Successivamente, riconoscono l'mRNA bersaglio e grazie alla complementarietà si appaiano. A questo punto si ha il taglio dell'mRNA stesso che risulterà instabile e quindi verrà degradato.
In questo modo i siRNA e miRNA delle piante, impediscono l'espressione di un particolare gene grazie alla degradazione dell'mRNA prodotto.
I **miRNA** nell'uomo invece sono protetti dalla degradazione dalle proteine miRNP, non si appaiano in maniera perfettamente complementare con l'mRNA bersaglio e quindi non si ha il taglio e la degradazione dell'mRNA stesso ma solo il suo silenziamento, con il blocco della traduzione. [154]

Quindi i due meccanismi saranno distinguibili a seconda se la degradazione dell'mRNA è avvenuta oppure no.

	siRNA	miRNA
Prior to Dicer processing	Double-stranded RNA that contains 30 to over 100 nucleotides	Precursor miRNA (pre-miRNA) that contains 70–100 nucleotides with interspersed mismatches and hairpin structure
Structure	21–23 nucleotide RNA duplex with 2 nucleotides 3'overhang	19–25 nucleotide RNA duplex with 2 nucleotides 3'overhang
Complementary	Fully complementary to mRNA	Partially complementary to mRNA, typically targeting the 3' untranslated region of mRNA
mRNA target	One	Multiple (could be over 100 at the same time)
Mechanism of gene regulation	Endonucleolytic cleavage of mRNA	Translational repression
		Degradation of mRNA
		Endonucleolytic cleavage of mRNA (rare, only when there is a high level of complementary between miRNA and mRNA)
Clinical applications	Therapeutic agent	Drug target
		Therapeutic agent
		Diagnostic and biomarker tool

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2162253116300373

[154] Lam JK, Chow MY, Zhang Y, Leung SW.
siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.
Mol Ther Nucleic Acids. 2015 Sep 15;4(9):e252. doi: 10.1038/mtna.2015.23
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4877448/
Carthew RW, Sontheimer EJ.
Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs.
Cell. 2009;136(4):642-655. doi:10.1016/j.cell.2009.01.035
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2675692/

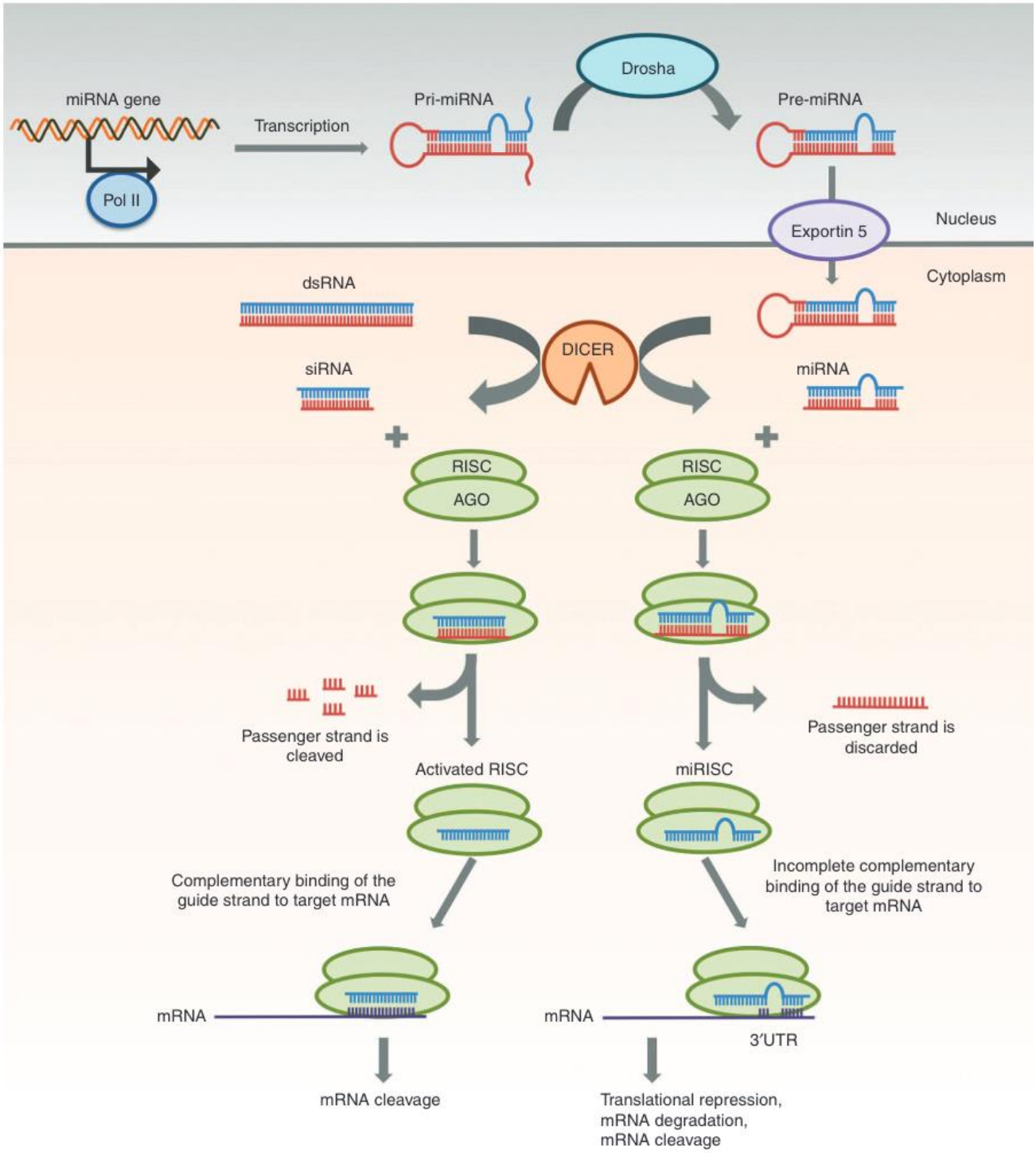
Ghildiyal M, Zamore PD.
Small silencing RNAs: an expanding universe.
Nat Rev Genet. 2009 Feb;10(2):94-108. doi: 10.1038/nrg2504.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2724769/

Liu X, Fortin K, Mourelatos Z.
MicroRNAs: biogenesis and molecular functions.
Brain Pathol. 2008 Jan;18(1):113-21. doi: 10.1111/j.1750-3639.2007.00121.x.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18226106/

Filipowicz W, Jaskiewicz L, Kolb FA, Pillai RS.
Post-transcriptional gene silencing by siRNAs and miRNAs.
Curr Opin Struct Biol. 2005 Jun;15(3):331-41. doi: 10.1016/j.sbi.2005.05.006.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15925505/

Confronto delle proprietà generali tra siRNA e miRNA

I **rasiRNA**, appartenenti sempre al gruppo degli RNA corti, risultano complementari a regioni del promotore e permettono il reclutamento di enzimi che modificano la cromatina in maniera tale da silenziare il gene.
L'interferenza dell'RNA è un meccanismo di regolazione dell'espressione genica, che regola i livelli di un trascritto mediante soppressione trascrizionale (transcriptional gene silencing, TGS) o degradazione dell'RNA mediante un processo sequenza-specifico (post transcriptional gene silencing PTGS /RNA interference (RNAi)).



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4877448/
Meccanismi di silenziamento genico di siRNA e miRNA.
siRNA: il dsRNA (trascritto o introdotto artificialmente) viene trasformato da Dicer in siRNA che viene caricato nel RISC. AGO2, che è un componente di RISC, fende il filamento passeggero di siRNA. Il filo guida quindi orienta il RISC attivo verso l'mRNA bersaglio. Il completo legame complementare tra il filamento guida di siRNA e l'mRNA bersaglio porta alla scissione dell'mRNA.
miRNA: La trascrizione del gene miRNA viene eseguita dalla RNA polimerasi II nel nucleo per dare pri-miRNA, che viene poi scisso da Drosha per formare pre-miRNA. Il pre-miRNA viene trasportato da Exportin 5 al citoplasma dove viene trasformato da Dicer in miRNA. Il miRNA viene caricato nel RISC dove viene scartato

il filamento passeggero e il miRISC viene guidato dal filamento guida rimanente all'mRNA target attraverso un legame parzialmente complementare. L'mRNA target viene inibito tramite repressione traduzionale, degradazione o scissione.

Gli **siRNA** sono elementi a doppio filamento di circa 19 nt non appaiati per tutta la loro lunghezza in quanto presentano il filamento 3' sporgente. Il meccanismo dell'RNAi, inizia con il taglio da parte dell'enzima Dicer [155] (un enzima RNasi III) del dsRNA, che può derivare da acidi nucleici esogeni (exo siRNA - genoma virale o transgene, introdotti direttamente nel citoplasma o captati dall'ambiente) o endogeni (endo siRNA – con fase nucleare obbligata), in piccoli frammenti con estremità sfalsate.
Una volta prodotti, questi pezzi di RNA vengono accorpati nel complesso RISC, in cui soltanto uno dei due filamenti viene conservato, mentre l'altro degradato.
A questo punto, il filamento che trova complementarietà con l'mRNA indurrà la degradazione dello stesso mRNA.

Al contrario degli siRNA, i trascritti di **miRNA** primari (pri-miRNA) contengono stem-loop intramolecolari imperfetti e vengono prima elaborati all'interno del nucleo. I miRNA precursori risultanti (pre-miRNA) vengono quindi convertiti in una singola specie di miRNA matura nel citoplasma.[156].
I miRNA regolano importanti processi biologici e quindi piante e animali con funzioni dei miRNA compromesse mostrano gravi difetti nello sviluppo. [156]

I complessi effettori chiamati complessi di silenziamento indotto dall'RNA (RISC) vengono assemblati in seguito al caricamento di un filamento corto di RNA selezionato in un membro della famiglia di proteine Argonaute (Ago).
Le proteine Ago sono spesso chiamate proteine Slicer perché scindono gli ssRNA bersaglio nelle zone di formazione del duplex con il filamento dell'RNA corto. [157]

I miRNA possono guidare il silenziamento genico attraverso l'arresto traduzionale senza scissione [156], mentre gli siRNA possono mediare anche il silenziamento genico nucleare trascrizionale attraverso la metilazione del DNA e/o dell'istone (vedi sotto).
Ad esempio, in Arabidopsis, siRNA a 24 nucleotidi DCL3-dipendenti reclutano AGO4 per silenziare dal punto di vista trascrizionale trasposoni e ripetizioni del DNA attraverso modificazioni della cromatina. [158]
Di solito i miRNA si legano al 3' ed esistono quattro modelli per il silenziamento: [159]

---

[155] Hammond SM.
Dicing and slicing: the core machinery of the RNA interference pathway.
FEBS Lett. 2005 Oct 31;579(26):5822-9. doi: 10.1016/j.febslet.2005.08.079. Epub 2005 Sep 27.
https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1016/j.febslet.2005.08.079

[156] Bartel DP.
MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function.
Cell. 2004 Jan 23;116(2):281-97. doi: 10.1016/s0092-8674(04)00045-5.
https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0092-8674%2804%2900045-5

[157] Tolia NH, Joshua-Tor L.
Slicer and the argonautes.
Nat Chem Biol. 2007 Jan;3(1):36-43. doi: 10.1038/nchembio848.
https://www.nature.com/articles/nchembio848

[158] Matzke MA, Birchler JA.
RNAi-mediated pathways in the nucleus.
Nat Rev Genet. 2005 Jan;6(1):24-35. doi: 10.1038/nrg1500.
https://www.nature.com/articles/nrg1500

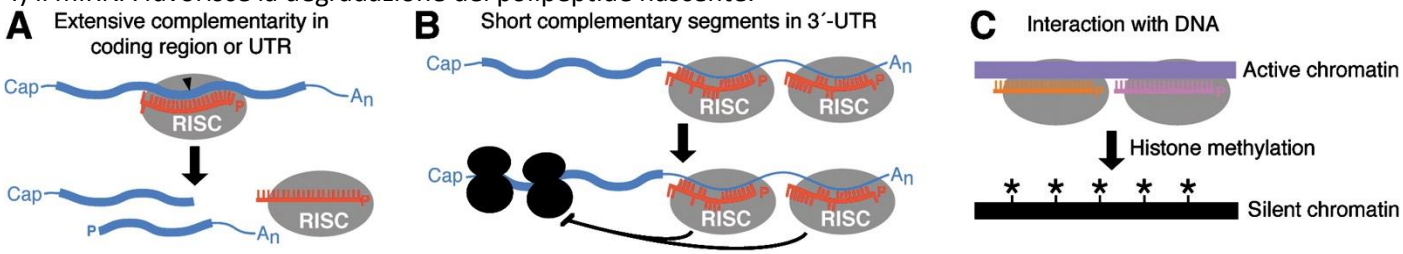
[159] Ghildiyal M, Zamore PD.
Small silencing RNAs: an expanding universe.
Nat Rev Genet. 2009 Feb;10(2):94-108. doi: 10.1038/nrg2504.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2724769/

Li Z, Rana TM.
Molecular mechanisms of RNA-triggered gene silencing machineries.
Acc Chem Res. 2012;45(7):1122-1131. doi:10.1021/ar200253u
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3398549/

https://www.tesionline.it/appunti/biologia-molecolare/silenziamento-genico-post-trascrizionale---interferenza-dell-rna---e-mirna/255/113

http://www.unife.it/sveb/biotecnologie/insegnamenti/minisiti-anni-precedenti/c-i-tecnologie-biochimiche-e-ricombinanti/modulo-tecnologie-molecolari-e-ricombinanti/approfondimento-irna

1) inibizione dell'attacco del ribosoma;
2) può avvenire l'inizio della traduzione ma non l'allungamento;
3) il miRNA favorisce l'assemblaggio di enzimi di degradazione dell'mRNA;
4) il miRNA favorisce la degradazione del polipeptide nascente.



https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0092-8674%2804%2900045-5
(A) Scissione dell'RNA messaggero specificata da un miRNA o siRNA. La punta della freccia nera indica il sito di scissione.
(B) repressione traduzionale specificata da miRNA o siRNA.
(C) Silenziamento trascrizionale, pensato per essere specificato da siRNA dell'eterocromatina.

RNA non codificanti come regolatori nell'epigenetica [160]

Negli animali, le vie metaboliche degli siRNA e miRNA sembrano funzionare principalmente nel citoplasma nella degradazione post-trascrizionale e nella repressione traduzionale dell'mRNA bersaglio.
Tuttavia, le proteine Argonaute dei mammiferi sono in grado di traslocare nel nucleo, e prove emergenti mostrano che alcuni sottoinsiemi di miRNA sono presenti anche nel nucleo e sono in grado di agire come regolatori potenzianti e attivatori dell'espressione genica [161]. Inoltre, gli siRNA esogeni possono indurre cambiamenti della cromatina sequenza-specifici nelle cellule dei mammiferi.

---

[160] Olovnikov I, Aravin AA, Fejes Toth K.
Small RNA in the nucleus: the RNA-chromatin ping-pong.
Curr Opin Genet Dev. 2012;22(2):164-171. doi:10.1016/j.gde.2012.01.002
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3345048/

Holoch D, Moazed D.
RNA-mediated epigenetic regulation of gene expression.
Nat Rev Genet. 2015 Feb;16(2):71-84. doi: 10.1038/nrg3863. Epub 2015 Jan 2.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4376354/

Chen J, Xue Y.
Emerging roles of non-coding RNAs in epigenetic regulation.
Sci China Life Sci. 2016 Mar;59(3):227-35. doi: 10.1007/s11427-016-5010-0. Epub 2016 Jan 29.
https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11427-016-5010-0.pdf

Peschansky VJ, Wahlestedt C.
Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation.
Epigenetics. 2014 Jan;9(1):3-12. doi: 10.4161/epi.27473.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3928183/

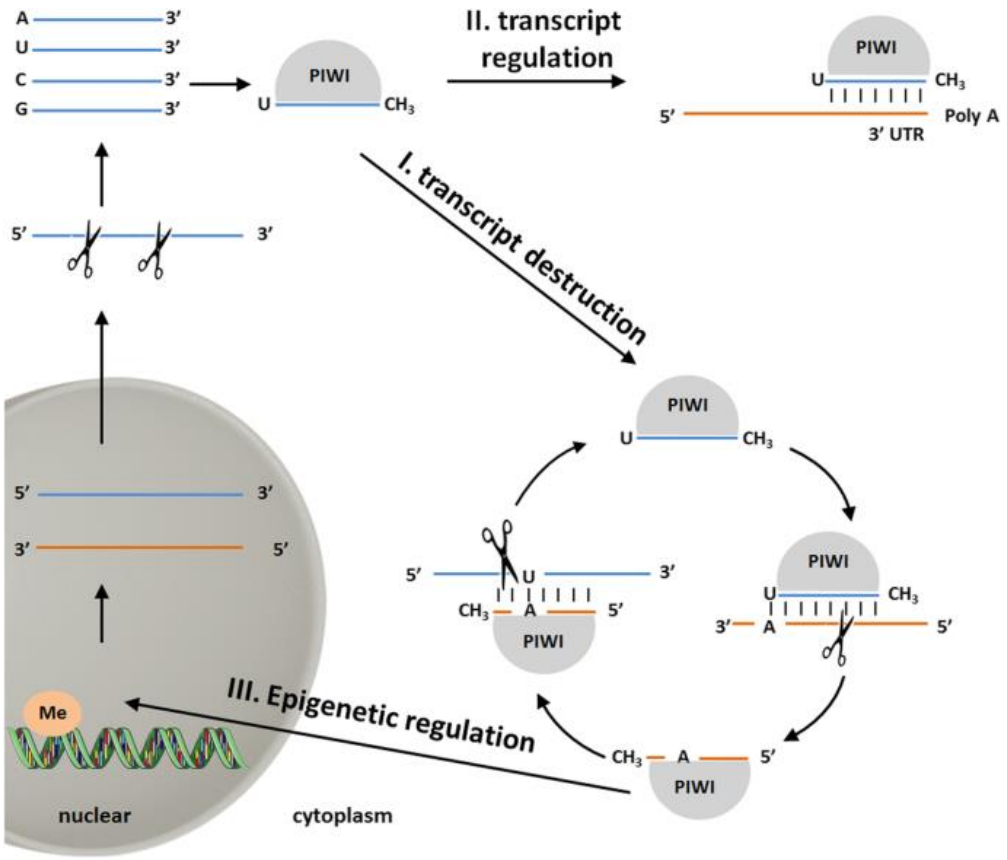
Moazed D.
Small RNAs in transcriptional gene silencing and genome defence.
Nature. 2009 Jan 22;457(7228):413-20. doi: 10.1038/nature07756.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3246369/

Li LC.
Chromatin remodeling by the small RNA machinery in mammalian cells.
Epigenetics. 2014 Jan;9(1):45-52. doi: 10.4161/epi.26830. Epub 2013 Oct 22.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3928185/

[161] Xiao M, Li J, Li W, Wang Y, Wu F, Xi Y, Zhang L, Ding C, Luo H, Li Y, Peng L, Zhao L, Peng S, Xiao Y, Dong S, Cao J, Yu W.
MicroRNAs activate gene transcription epigenetically as an enhancer trigger.
RNA Biol. 2017 Oct 3;14(10):1326-1334. doi: 10.1080/15476286.2015.1112487. Epub 2016 Feb 6.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5711461/

Odame E, Chen Y, Zheng S, Dai D, Kyei B, Zhan S, Cao J, Guo J, Zhong T, Wang L, Li L, Zhang H.
Enhancer RNAs: transcriptional regulators and workmates of NamiRNAs in myogenesis.
Cell Mol Biol Lett. 2021 Feb 10;26(1):4. doi: 10.1186/s11658-021-00248-x.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7877072/

Sebbene sembri che siRNA e miRNA non siano direttamente coinvolti nella regolazione della struttura della cromatina negli animali, potrebbero essere coinvolte altre classi di piccoli RNA come i **piRNA**, RNA interagenti con le proteine PIWI (una sottoclasse specifica della linea germinale della famiglia delle proteine Argonaute), implicati nella regolazione della cromatina.
La funzione conservata della via dei piRNA è la repressione di sequenze genomiche ripetitive, inclusi i trasposoni, e possono agire in trans per mirare a più copie di elementi trasponibili situati in diverse posizioni genomiche. [162]



https://exrna.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41544-019-0021-1
Le vie funzionali di piRNA. (1) Il complesso PIWI-antisenso piRNA scinde trasposoni sensoriali, precursori piRNA e trascritti codificanti proteine, il cui processo porta alla soppressione del trasposone e dell'espressione genica. (2) Il complesso PIWI-piRNA potrebbe sopprimere la traduzione dell'mRNA bersaglio attraverso il legame imperfetto alla regione 3'UTR, un processo simile a come funziona il miRNA. (3) Il complesso PIWI-piRNA potrebbe entrare nel nucleo e influenzare il livello di metilazione del DNA nella regione del promotore dei geni bersaglio. "Me", metilazione

Inoltre, i piRNA regolano l'espressione genica e combattono l'infezione virale attraverso la scissione dell'RNA bersaglio, l'assemblaggio dell'eterocromatina e la metilazione del DNA. Ciò consente ai piRNA di fornire sia un'immunità adattativa basata sulla sequenza di virus e trasposoni in rapida evoluzione, sia di regolare i geni conservati dell'ospite in modo da promuovere e mantenere la stabilità del genoma.
I piRNA silenziano i trasposoni nella linea germinale della maggior parte degli animali, mentre le funzioni dei piRNA somatici sono state perse, acquisite e perse di nuovo nel corso dell'evoluzione. [163]

---

[162] Calcagno D.Q., Mota E.R.., Moreira F.C., de Sousa S.B.M., Burbano R.R., Assumpção P.P.
Role of PIWI-Interacting RNA (piRNA) as Epigenetic Regulation.
In: Patel V., Preedy V. (eds) Handbook of Nutrition, Diet, and Epigenetics. Springer, Cham. (2019) https://doi.org/10.1007/978-3-319-55530-0_77
https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-319-55530-0_77

[163] Ozata DM, Gainetdinov I, Zoch A, O'Carroll D, Zamore PD.
PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions.
Nat Rev Genet. 2019 Feb;20(2):89-108. doi: 10.1038/s41576-018-0073-3.
https://www.nature.com/articles/s41576-018-0073-3

Peng JC, Lin H.
Beyond transposons: the epigenetic and somatic functions of the Piwi-piRNA mechanism.
Curr Opin Cell Biol. 2013 Apr;25(2):190-4. doi: 10.1016/j.ceb.2013.01.010. Epub 2013 Mar 4.

In contrasto con i piccoli RNA non codificanti (ncRNA) come siRNA, miRNA e piRNA, che sono altamente conservati e coinvolti nel silenziamento genico trascrizionale e post-trascrizionale, attraverso l'accoppiamento di basi specifiche con i loro bersagli, gli ncRNA lunghi (**lncRNA**), definiti come molecole di RNA di lunghezza superiore a 200 nucleotidi, sono scarsamente conservati e regolano l'espressione genica mediante diversi meccanismi. [164]

Questa ampia definizione comprende una raccolta vasta e altamente eterogenea di trascritti che differiscono nella loro biogenesi e origine genomica. Le statistiche di Human GENCODE suggeriscono che il genoma umano contiene più di 16.000 geni per lncRNA, ma altre stime superano 100.000 lncRNA umani [165].
I trascritti lncRNA hanno spesso un cap 5' di 7-metil guanosina (m^7G), sono poliadenilati alle loro estremità 3' e splittati in modo simile agli mRNA.
Vale la pena notare che le regioni enhancer e promoter sono anche trascritte rispettivamente in RNA enhancer (eRNA) e trascritti a monte del promotore.[166]

A seconda della loro localizzazione e delle loro specifiche interazioni con DNA, RNA (compresi i microRNA [167]) e proteine, i lncRNA possono modulare la funzione della cromatina, regolare l'assemblaggio e la funzione di corpi nucleari senza membrana, alterare la stabilità e la traduzione degli mRNA citoplasmatici e interferire con le vie di segnalazione. [168]

---

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3651849/

Iwasaki YW, Siomi MC, Siomi H.
PIWI-Interacting RNA: Its Biogenesis and Functions.
Annu Rev Biochem. 2015;84:405-33. doi: 10.1146/annurev-biochem-060614-034258. Epub 2015 Mar 5.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25747396/

Mani SR, Juliano CE.
Untangling the web: the diverse functions of the PIWI/piRNA pathway.
Mol Reprod Dev. 2013;80(8):632-664. doi:10.1002/mrd.22195
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4234069/

Sun, T., Han, X.
The disease-related biological functions of PIWI-interacting RNAs (piRNAs) and underlying molecular mechanisms.
ExRNA 1, 21 (2019). https://doi.org/10.1186/s41544-019-0021-1
https://exrna.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41544-019-0021-1

[164] Wang KC, Chang HY.
Molecular mechanisms of long noncoding RNAs.
Mol Cell. 2011;43(6):904-914. doi:10.1016/j.molcel.2011.08.018
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3199020/

[165] Uszczynska-Ratajczak B, Lagarde J, Frankish A, Guigó R, Johnson R.
Towards a complete map of the human long non-coding RNA transcriptome.
Nat Rev Genet. 2018 Sep;19(9):535-548. doi: 10.1038/s41576-018-0017-y.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6451964/

Fang S, Zhang L, Guo J, Niu Y, Wu Y, Li H, Zhao L, Li X, Teng X, Sun X, Sun L, Zhang MQ, Chen R, Zhao Y. NONCODEV5: a comprehensive annotation database for long non-coding RNAs.
Nucleic Acids Res. 2018 Jan 4;46(D1):D308-D314. doi: 10.1093/nar/gkx1107.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5753287/

[166] Wu H, Yang L, Chen LL.
The Diversity of Long Noncoding RNAs and Their Generation.
Trends Genet. 2017 Aug;33(8):540-552. doi: 10.1016/j.tig.2017.05.004. Epub 2017 Jun 16.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28629949/

[167] Jalali S, Bhartiya D, Lalwani MK, Sivasubbu S, Scaria V.
Systematic transcriptome wide analysis of lncRNA-miRNA interactions.
PLoS One. 2013;8(2):e53823. doi: 10.1371/journal.pone.0053823. Epub 2013 Feb 6.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3566149/

[168] Statello L, Guo CJ, Chen LL, Huarte M.
Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions
[published correction appears in Nat Rev Mol Cell Biol. 2021 Jan 8;:]. Nat Rev Mol Cell Biol. 2021;22(2):96-118. doi:10.1038/s41580-020-00315-9
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7754182/

Negli ultimi dieci anni, sono stati rivelati nuovi ruoli dei piRNA nell'induzione della sterilità [169], tumorigenesi [170], omeostasi metabolica [171], diabete [172], ipertrofia cardiaca [173], artrite reumatoide [174], sviluppo neurologico [175] e nelle malattie neurodegenerative. [176]

---

[169] Barucci G, Cornes E, Singh M, Li B, Ugolini M, Samolygo A, Didier C, Dingli F, Loew D, Quarato P, Cecere G.
Small-RNA-mediated transgenerational silencing of histone genes impairs fertility in piRNA mutants.
Nat Cell Biol. 2020 Feb;22(2):235-245. doi: 10.1038/s41556-020-0462-7. Epub 2020 Feb 3.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7272227/

[170] Han YN, Li Y, Xia SQ, Zhang YY, Zheng JH, Li W.
PIWI Proteins and PIWI-Interacting RNA: Emerging Roles in Cancer.
Cell Physiol Biochem. 2017;44(1):1-20. doi: 10.1159/000484541. Epub 2017 Nov 3.
https://www.karger.com/Article/FullText/484541

Liu Y, Dou M, Song X, et al.
The emerging role of the piRNA/piwi complex in cancer.
Mol Cancer. 2019;18(1):123. Published 2019 Aug 9. doi:10.1186/s12943-019-1052-9
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6688334/

[171] Jones BC, Wood JG, Chang C, Tam AD, Franklin MJ, Siegel ER, Helfand SL.
A somatic piRNA pathway in the Drosophila fat body ensures metabolic homeostasis and normal lifespan.
Nat Commun. 2016 Dec 21;7:13856. doi: 10.1038/ncomms13856.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5187580/

[172] Henaoui IS, Jacovetti C, Guerra Mollet I, Guay C, Sobel J, Eliasson L, Regazzi R.
PIWI-interacting RNAs as novel regulators of pancreatic beta cell function.
Diabetologia. 2017 Oct;60(10):1977-1986. doi: 10.1007/s00125-017-4368-2. Epub 2017 Jul 16.
https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00125-017-4368-2

173 Rajan KS, Velmurugan G, Gopal P, Ramprasath T, Babu DD, Krithika S, Jenifer YC, Freddy A, William G Jn, Kalpana K, Ramasamy S.
Abundant and Altered Expression of PIWI-Interacting RNAs during Cardiac Hypertrophy.
Heart Lung Circ. 2016 Oct;25(10):1013-20. doi: 10.1016/j.hlc.2016.02.015. Epub 2016 Mar 28.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27067666/

[174] Pleštilová L, Neidhart M, Russo G, Frank-Bertoncelj M, Ospelt C, Ciurea A, Kolling C, Gay RE, Michel BA, Vencovský J, Gay S, Jüngel A.
Expression and Regulation of PIWIL-Proteins and PIWI-Interacting RNAs in Rheumatoid Arthritis.
PLoS One. 2016 Nov 28;11(11):e0166920. doi: 10.1371/journal.pone.0166920.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5125648/

[175] Lee EJ, Banerjee S, Zhou H, Jammalamadaka A, Arcila M, Manjunath BS, Kosik KS.
Identification of piRNAs in the central nervous system.
RNA. 2011 Jun;17(6):1090-9. doi: 10.1261/rna.2565011. Epub 2011 Apr 22.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3096041/

Kim KW.
PIWI Proteins and piRNAs in the Nervous System.
Mol Cells. 2019 Dec 31;42(12):828-835. doi: 10.14348/molcells.2019.0241.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6939654/

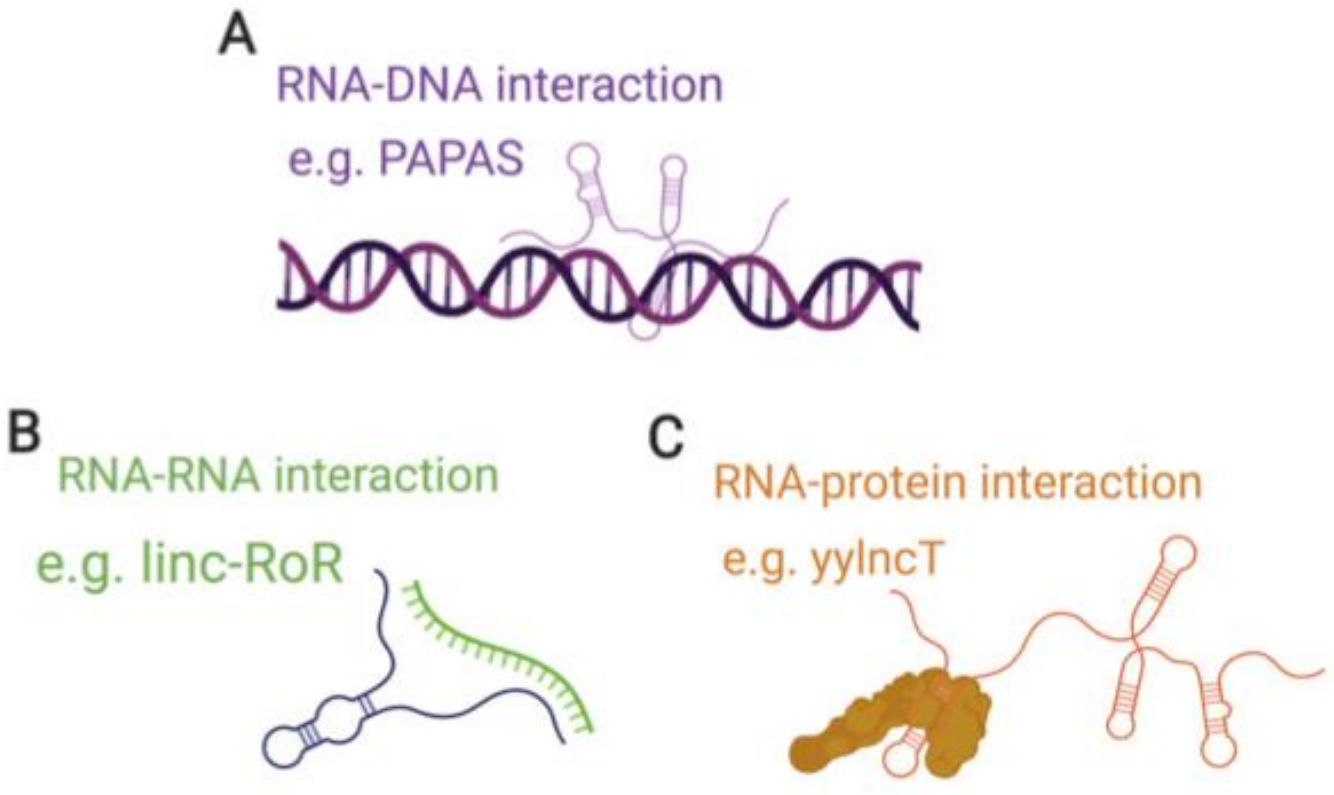
Zuo L, Wang Z, Tan Y, Chen X, Luo X.
piRNAs and Their Functions in the Brain.
Int J Hum Genet. 2016 Mar-Jun;16(1-2):53-60. doi: 10.1080/09723757.2016.11886278.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4976825/

Wakisaka KT, Imai Y.
The dawn of piRNA research in various neuronal disorders.
Front Biosci (Landmark Ed). 2019 Jun 1;24:1440-1451. PMID: 31136989.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31136989/

Ghosheh Y, Seridi L, Ryu T, Takahashi H, Orlando V, Carninci P, Ravasi T.
Characterization of piRNAs across postnatal development in mouse brain.
Sci Rep. 2016 Apr 26;6:25039. doi: 10.1038/srep25039.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4844963/

[176] Huang X, Wong G.
An old weapon with a new function: PIWI-interacting RNAs in neurodegenerative diseases.
Transl Neurodegener. 2021 Mar 8;10(1):9. doi: 10.1186/s40035-021-00233-6.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7938595/

Qiu W, Guo X, Lin X, Yang Q, Zhang W, Zhang Y, Zuo L, Zhu Y, Li CR, Ma C, Luo X.
Transcriptome-wide piRNA profiling in human brains of Alzheimer's disease.
Neurobiol Aging. 2017 Sep;57:170-177. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2017.05.020. Epub 2017 Jun 3.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5542056/



I principali meccanismi che governano le interazioni del lncRNA. È stato scoperto che gli lncRNA interagiscono con (A) DNA, tramite il legame di Hoogstein per formare strutture a tripla elica, (B) RNA, tramite accoppiamento di basi Watson-Crick-Franklin (idrogeno) o proteine (C). Queste interazioni sono alla base di tutte le funzioni effettrici indotte dagli lncRNA studiati fino ad oggi

https://eprints.whiterose.ac.uk/157607/1/path.5405.pdf

Roy J, Sarkar A, Parida S, Ghosh Z, Mallick B.
Small RNA sequencing revealed dysregulated piRNAs in Alzheimer's disease and their probable role in pathogenesis.
Mol Biosyst. 2017 Feb 28;13(3):565-576. doi: 10.1039/c6mb00699j.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28127595/

Kim KW, Tang NH, Andrusiak MG, Wu Z, Chisholm AD, Jin Y. A
Neuronal piRNA Pathway Inhibits Axon Regeneration in C. elegans.
Neuron. 2018 Feb 7;97(3):511-519.e6. doi: 10.1016/j.neuron.2018.01.014. Epub 2018 Jan 27.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5866297/

Schulze M, Sommer A, Plötz S, Farrell M, Winner B, Grosch J, Winkler J, Riemenschneider MJ.
Sporadic Parkinson's disease derived neuronal cells show disease-specific mRNA and small RNA signatures with abundant deregulation of piRNAs.
Acta Neuropathol Commun. 2018 Jul 10;6(1):58. doi: 10.1186/s40478-018-0561-x.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6038190/

Molte di queste funzioni alla fine influenzano l'espressione genica in diversi contesti biologici e fisiopatologici,[177] come le malattie neurologiche [178] e cardiovascolari [179], le risposte immunitarie [180], e il cancro [181].

---

[177] Tsagakis I, Douka K, Birds I, Aspden JL.
Long non-coding RNAs in development and disease: conservation to mechanisms.
J Pathol. 2020 Apr;250(5):480-495. doi: 10.1002/path.5405. Epub 2020 Mar 16.
https://eprints.whiterose.ac.uk/157607/1/path.5405.pdf

Kopp F.
Molecular functions and biological roles of long non-coding RNAs in human physiology and disease.
J Gene Med. 2019 Aug;21(8):e3104. doi: 10.1002/jgm.3104. Epub 2019 Jul 1.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31177599/

[178] Roberts TC, Morris KV, Wood MJ.
The role of long non-coding RNAs in neurodevelopment, brain function and neurological disease.
Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2014 Sep 26;369(1652):20130507. doi: 10.1098/rstb.2013.0507.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4142028/

Riva P, Ratti A, Venturin M.
The Long Non-Coding RNAs in Neurodegenerative Diseases: Novel Mechanisms of Pathogenesis.
Curr Alzheimer Res. 2016;13(11):1219-1231. doi: 10.2174/1567205013666160622112234.
https://air.unimi.it/retrieve/handle/2434/438122/689392/Riva%20et%20al%202016%20R2%20CAR%20Submitted.pdf

Wan P, Su W, Zhuo Y.
The Role of Long Noncoding RNAs in Neurodegenerative Diseases.
Mol Neurobiol. 2017 Apr;54(3):2012-2021. doi: 10.1007/s12035-016-9793-6. Epub 2016 Feb 24.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26910817/

[179] Yeh CF, Chang YE, Lu CY, Hsuan CF, Chang WT, Yang KC.
Expedition to the missing link: Long noncoding RNAs in cardiovascular diseases.
J Biomed Sci. 2020 Apr 2;27(1):48. doi: 10.1186/s12929-020-00647-w.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7114803/

[180] Heward JA, Lindsay MA.
Long non-coding RNAs in the regulation of the immune response.
Trends Immunol. 2014;35(9):408-419. doi:10.1016/j.it.2014.07.005
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7106471/

Aune TM, Spurlock CF 3rd.
Long non-coding RNAs in innate and adaptive immunity.
Virus Res. 2016 Jan 2;212:146-60. doi: 10.1016/j.virusres.2015.07.003. Epub 2015 Jul 9.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4706828/

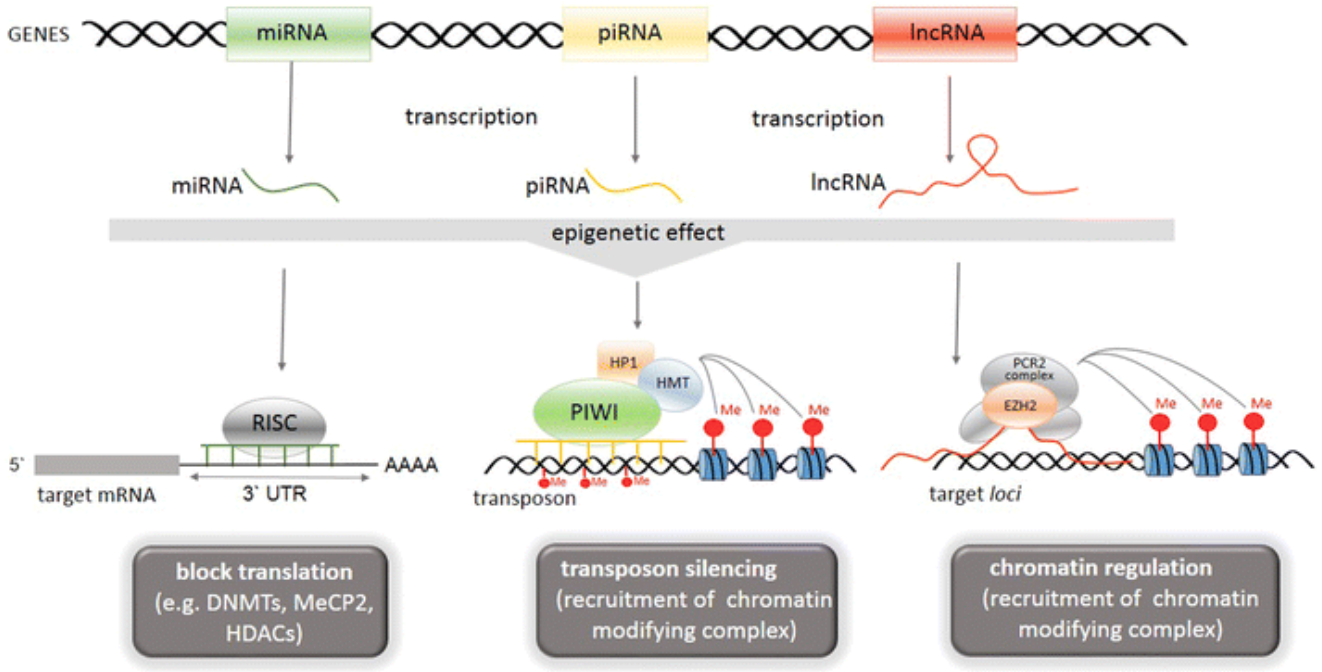
Chen YG, Satpathy AT, Chang HY.
Gene regulation in the immune system by long noncoding RNAs.
Nat Immunol. 2017 Aug 22;18(9):962-972. doi: 10.1038/ni.3771.
https://www.nature.com/articles/ni.3771

Atianand MK, Caffrey DR, Fitzgerald KA.
Immunobiology of Long Noncoding RNAs.
Annu Rev Immunol. 2017 Apr 26;35:177-198. doi: 10.1146/annurev-immunol-041015-055459. Epub 2017 Jan 11.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6449690/

[181] Carlevaro-Fita J, Lanzós A, Feuerbach L, Hong C, Mas-Ponte D, Pedersen JS; PCAWG Drivers and Functional Interpretation Group, Johnson R; PCAWG Consortium.
Cancer LncRNA Census reveals evidence for deep functional conservation of long noncoding RNAs in tumorigenesis.
Commun Biol. 2020 Feb 5;3(1):56. doi: 10.1038/s42003-019-0741-7.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7002399/

Taniue K, Akimitsu N.
The Functions and Unique Features of LncRNAs in Cancer Development and Tumorigenesis.
Int J Mol Sci. 2021 Jan 10;22(2):632. doi: 10.3390/ijms22020632.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7826647/

Do H, Kim W.
Roles of Oncogenic Long Non-coding RNAs in Cancer Development.
Genomics Inform. 2018 Dec;16(4):e18. doi: 10.5808/GI.2018.16.4.e18. Epub 2018 Dec 28.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6440676/



https://link.springer.com/article/10.1007/s12640-014-9508-6/
Effetti esercitati dai ncRNA sulle regolazioni epigenetiche. I miRNA maturi dopo l'incorporazione nel complesso RISC si legano alla sequenza complementare nella regione 3'-UTR del trascritto bersaglio. i miRNA regolano negativamente i loro bersagli in uno dei quattro modi: (1) scissione dell'mRNA, (2) repressione della traduzione, (3) deadenilazione dell'mRNA e (4) localizzazione nel corpo P dell'mRNA. piRNA associati a proteine PIWI mediano modificazioni istoniche e metilazione de novo del DNA. I lncRNA guidano i complessi di rimodellamento della cromatina in un sito specifico e fungono anche da stampo per modificare i complessi

Attività antivirale mediata dall'interferenza dell'RNA [182]

I virus hanno sviluppato molti meccanismi di contrasto, comprese le mutazioni nei loro siti bersaglio, per sfuggire al legame da parte delle sequenze di RNA corti dell'ospite.[183]

---

[182] Berkhout B.
RNAi-mediated antiviral immunity in mammals.
Curr Opin Virol. 2018 Oct;32:9-14. doi: 10.1016/j.coviro.2018.07.008. Epub 2018 Jul 14.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30015014/

Maillard PV, van der Veen AG, Poirier EZ, Reis e Sousa C.
Slicing and dicing viruses: antiviral RNA interference in mammals.
EMBO J. 2019 Apr 15;38(8):e100941. doi: 10.15252/embj.2018100941. Epub 2019 Mar 14.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6463209/

Ding SW, Han Q, Wang J, Li WX.
Antiviral RNA interference in mammals.
Curr Opin Immunol. 2018 Oct;54:109-114. doi: 10.1016/j.coi.2018.06.010. Epub 2018 Jul 17.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6196099/

Schütz S, Sarnow P.
Interaction of viruses with the mammalian RNA interference pathway.
Virology. 2006 Jan 5;344(1):151-7. doi: 10.1016/j.virol.2005.09.034.
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682205005970?via%3Dihub

[183] Berkhout B.
RNAi-mediated antiviral immunity in mammals.
Curr Opin Virol. 2018 Oct;32:9-14. doi: 10.1016/j.coviro.2018.07.008. Epub 2018 Jul 14.
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187962571830018X?via%3Dihub

Carthew RW, Sontheimer EJ.
Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs.
Cell. 2009 Feb 20;136(4):642-55. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.035.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2675692/

Il ruolo dell'RNA corto endogeno (miRNA) nella difesa dai virus nei mammiferi è stato gradualmente supportato e rafforzato da prove crescenti [184]. In questi studi, in particolare su linee cellulari umane e modelli animali, si è visto che sia i miRNA endogeni che quelli introdotti esternamente sono in grado di inibire fortemente la proliferazione e la trasmissione dei virus, a condizione che una data sequenza di miRNA corrisponda a una sequenza target sul genoma virale.[185]

---

[184] Jacque JM, Triques K, Stevenson M.
Modulation of HIV-1 replication by RNA interference.
Nature. 2002 Jul 25;418(6896):435-8. doi: 10.1038/nature00896. Epub 2002 Jun 26.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12087358/

Langlois RA, et al
MicroRNA-based strategy to mitigate the risk of gain-of-function influenza studies.
Nat Biotechnol. 2013 Sep;31(9):844-847. doi: 10.1038/nbt.2666. Epub 2013 Aug 11.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3808852/

Brettmann EA, et al
Tilting the balance between RNA interference and replication eradicates Leishmania RNA virus 1 and mitigates the inflammatory response.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Oct 25;113(43):11998-12005. doi: 10.1073/pnas.1615085113. Epub 2016 Oct 18.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5087061/

Maillard PV, van der Veen AG, Poirier EZ, Reis e Sousa C.
Slicing and dicing viruses: antiviral RNA interference in mammals.
EMBO J. 2019 Apr 15;38(8):e100941. doi: 10.15252/embj.2018100941. Epub 2019 Mar 14.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6463209/

Perez JT, Pham AM, Lorini MH, Chua MA, Steel J, tenOever BR.
MicroRNA-mediated species-specific attenuation of influenza A virus.
Nat Biotechnol. 2009 Jun;27(6):572-6. doi: 10.1038/nbt.1542. Epub 2009 May 31.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19483680/

Weng KF, et al
A cytoplasmic RNA virus generates functional viral small RNAs and regulates viral IRES activity in mammalian cells.
Nucleic Acids Res. 2014 Nov 10;42(20):12789-805. doi: 10.1093/nar/gku952. Epub 2014 Oct 28.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4227785/

Hussain M, Asgari S.
MicroRNA-like viral small RNA from Dengue virus 2 autoregulates its replication in mosquito cells.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Feb 18;111(7):2746-51. doi: 10.1073/pnas.1320123111. Epub 2014 Feb 3.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3932895/

[185] Guo Z, Li Y, Ding SW.
Small RNA-based antimicrobial immunity.
Nat Rev Immunol. 2019 Jan;19(1):31-44. doi: 10.1038/s41577-018-0071-x.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30301972/

Li Y, Lu J, Han Y, Fan X, Ding SW.
RNA interference functions as an antiviral immunity mechanism in mammals.
Science. 2013 Oct 11;342(6155):231-4. doi: 10.1126/science.1241911.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3875315/

Qureshi A, Tantray VG, Kirmani AR, Ahangar AG.
A review on current status of antiviral siRNA.
Rev Med Virol. 2018 Jul;28(4):e1976. doi: 10.1002/rmv.1976. Epub 2018 Apr 15.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7169094/

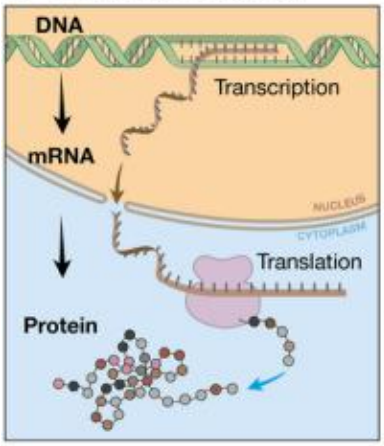
Xu YP, et al
Zika virus infection induces RNAi-mediated antiviral immunity in human neural progenitors and brain organoids.
Cell Res. 2019 Apr;29(4):265-273. doi: 10.1038/s41422-019-0152-9. Epub 2019 Feb 27.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6461993/

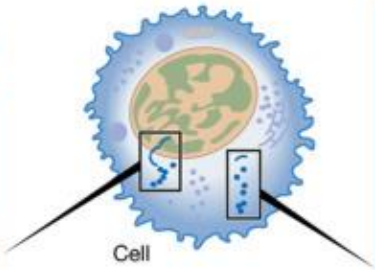
Qiu Y, et al
Flavivirus induces and antagonizes antiviral RNA interference in both mammals and mosquitoes.
Sci Adv. 2020 Feb 5;6(6):eaax7989. doi: 10.1126/sciadv.aax7989.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7002134/

RNA interference

— gene silencing by double-stranded RNA

1. The central dogma

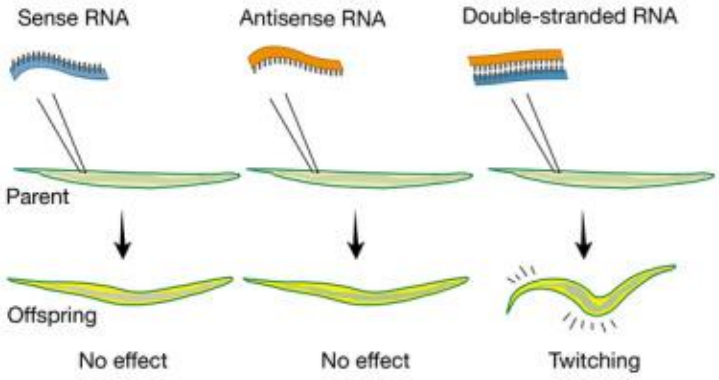




Our genome operates by sending information from double-stranded DNA in the nucleus, via single-stranded mRNA, to guide the synthesis of proteins in the cytoplasm.

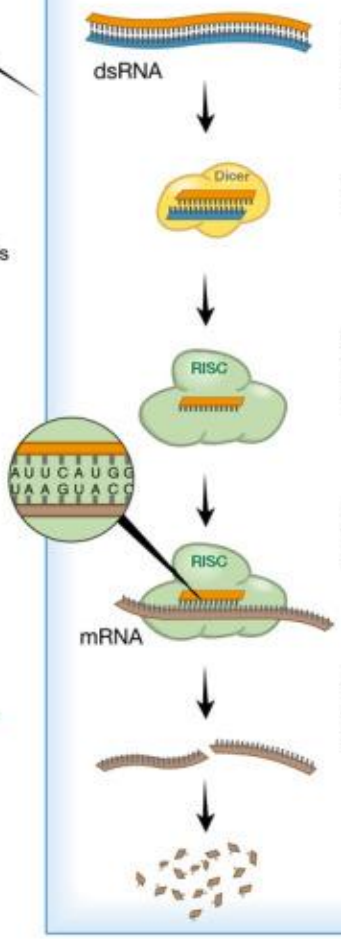
2. The experiment

RNA carrying the code for a muscle protein is injected into the worm *C. elegans*. Single-stranded RNA has no effect. But when double-stranded RNA is injected, the worm starts twitching in a similar way to worms carrying a defective gene for the muscle protein.



3. The RNAi mechanism

RNA interference (RNAi) is an important biological mechanism in the regulation of gene expression.



Double-stranded RNA (dsRNA) binds to the protein Dicer ...

... which cleaves dsRNA into smaller fragments.

One of the RNA strands is loaded into a RISC complex...

...and links the complex to the mRNA strand by basepairing.

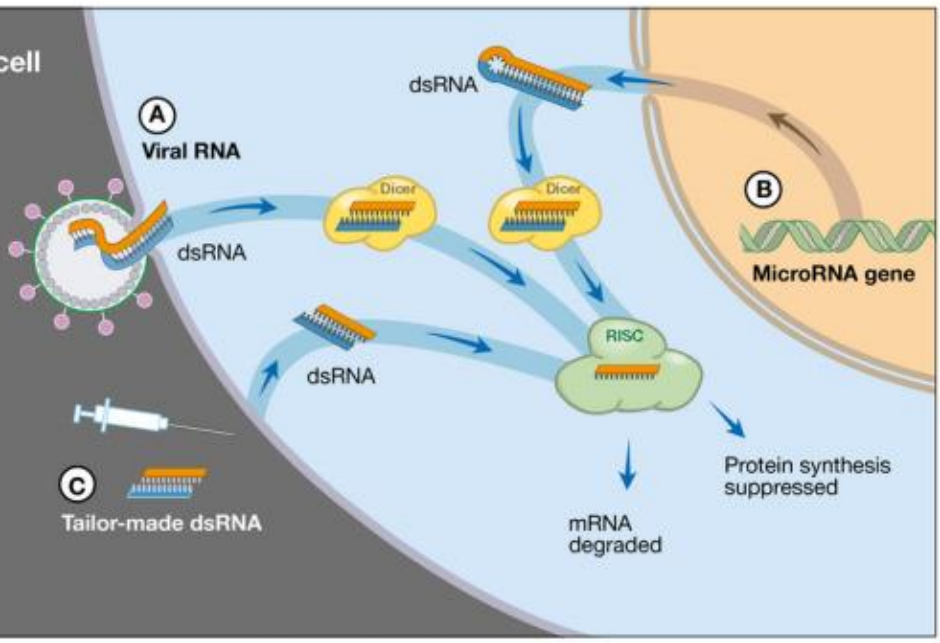
mRNA is cleaved and destroyed. No protein can be synthesized.

4. Several processes in the cell use RNAi

A. When an RNA virus infects the cell, it injects its genome consisting of double-stranded RNA. RNA interference destroys the viral RNA, preventing the formation of new viruses.

B. Synthesis of many proteins is controlled by genes encoding microRNA. After processing, microRNA prevents the translation of mRNA to protein.

C. In the research laboratory, dsRNA molecules are tailor-made to activate the RISC complex to degrade mRNA for a specific gene.



© The Nobel Committee for Physiology or Medicine Illustration: Annika Röhl

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7332969/

Altre prove a sostegno includono la scoperta di meccanismi anti-RNAi nei virus umani [186] e la necessità di alcuni componenti appartenenti all'apparato RNAi dei mammiferi nella resistenza contro i virus.[187]
Pertanto, i miRNA endogeni nei mammiferi possono funzionare come difesa contro l'infezione virale, compresi i ceppi di coronavirus. [188]

Interazione dei virus con la via di interferenza dell'RNA dei mammiferi [189]

[186] Bennasser Y, Le SY, Benkirane M, Jeang KT.
Evidence that HIV-1 encodes an siRNA and a suppressor of RNA silencing.
Immunity. 2005 May;22(5):607-19. doi: 10.1016/j.immuni.2005.03.010. Erratum in: Immunity. 2005 Jun;22(6):773.
https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S1074-7613%2805%2900105-6

[187] Adiliaghdam F, Basavappa M, Saunders TL, Harjanto D, Prior JT, Cronkite DA, Papavasiliou N, Jeffrey KL.
A Requirement for Argonaute 4 in Mammalian Antiviral Defense.
Cell Rep. 2020 Feb 11;30(6):1690-1701.e4. doi: 10.1016/j.celrep.2020.01.021.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7039342/

[188] Ding SW, Han Q, Wang J, Li WX.
Antiviral RNA interference in mammals.
Curr Opin Immunol. 2018 Oct;54:109-114. doi: 10.1016/j.coi.2018.06.010. Epub 2018 Jul 17
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6196099/

Qiu Y, et al
Human Virus-Derived Small RNAs Can Confer Antiviral Immunity in Mammals.
Immunity. 2017 Jun 20;46(6):992-1004.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2017.05.006. Erratum in: Immunity. 2018 Oct 16;49(4):780-781.
https://www.cell.com/immunity/pdfExtended/S1074-7613(17)30222-4

Meng Q, Chu Y, Shao C, Chen J, Wang J, Gao Z, Yu J, Kang Y.
Roles of host small RNAs in the evolution and host tropism of coronaviruses.
Brief Bioinform. 2021 Feb 16:bbab027. doi: 10.1093/bib/bbab027.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7929378/

Claude Pasquier, Alain Robichon
SARS-CoV-2 might manipulate against its host the immunity RNAi/Dicer/Ago system Does mitochondria collapse upon COVID-19 infection?
bioRxiv 2020.04.08.031856; doi: https://doi.org/10.1101/2020.04.08.031856
https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.04.08.031856v1.full.pdf

Henzinger H, Barth DA, Klec C, Pichler M.
Non-Coding RNAs and SARS-Related Coronaviruses.
Viruses. 2020;12(12):1374. Published 2020 Dec 1. doi:10.3390/v12121374
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7761185/

Hosseini Rad Sm A, McLellan AD.
Implications of SARS-CoV-2 Mutations for Genomic RNA Structure and Host microRNA Targeting.
Int J Mol Sci. 2020 Jul 7;21(13):4807. doi: 10.3390/ijms21134807.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7370282/

Farshad Abedi, Ramin Rezaee, A. Wallace Hayes, Somayyeh Nasiripour & Gholamreza Karimi
MicroRNAs and SARS-CoV-2 life cycle, pathogenesis, and mutations: biomarkers or therapeutic agents?
Cell Cycle, (2021) 20:2, 143-153, DOI: 10.1080/15384101.2020.1867792
https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15384101.2020.1867792

[189] Schütz S, Sarnow P.
Interaction of viruses with the mammalian RNA interference pathway.
Virology. 2006 Jan 5;344(1):151-7. doi: 10.1016/j.virol.2005.09.034.
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682205005970?via%3Dihub

Méndez C, Ahlenstiel CL, Kelleher AD.
Post-transcriptional gene silencing, transcriptional gene silencing and human immunodeficiency virus.
World J Virol. 2015;4(3):219-244. doi:10.5501/wjv.v4.i3.219
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4534814/

Mishra R, Kumar A, Ingle H, Kumar H.
The Interplay Between Viral-Derived miRNAs and Host Immunity During Infection.
Front Immunol. 2020;10:3079. Published 2020 Jan 23. doi:10.3389/fimmu.2019.03079
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6989438/

Swaminathan G, Martin-Garcia J, Navas-Martin S.
RNA viruses and microRNAs: challenging discoveries for the 21st century.
Physiol Genomics. 2013;45(22):1035-1048. doi:10.1152/physiolgenomics.00112.2013

Le interazioni dei virus con l'apparato dell'RNAi sono state notate per la prima volta durante le infezioni di piante e insetti. In particolare, è stato osservato che gli ospiti infetti usavano il silenziamento dell'RNA come immunità basata sugli acidi nucleici per distruggere l'RNA virale. Per contrastare questa difesa, diversi virus hanno sviluppato un'ampia varietà di soppressori del silenziamento dell'RNA (SRS). [190]

Contrariamente agli esempi dei virus delle piante e degli invertebrati, si è pensato inizialmente che i virus dei mammiferi non avessero bisogno di interferire con la via dell'RNAi a causa dell'ubiquità e dell'efficacia del sistema dell'interferone, che risponde all'accumulo di RNA virali a doppio filamento inducendo la sintesi di un ampio gruppo di geni che esercitano effetti inibitori sull'espressione genica virale [191].
Ad esempio, la protein chinasi PKR, quando attivata da RNA citoplasmatici a doppio filamento, porta alla fosforilazione rapida del fattore di iniziazione eucariotico eIF2 e alla successiva inibizione della traduzione dell'mRNA sia dell'ospite che virale [192].
Tuttavia, con la scoperta di Elbashir e colleghi che l'espressione di piccoli siRNA non induce il meccanismo dell'interferone dei mammiferi [193], si è posta la questione se i virus dei mammiferi potessero essere presi di mira dalla generazione di piccoli siRNA dall'apparato dell'RNAi nelle cellule di mammifero e se i virus disponessero dei mezzi per evitare un simile attacco.
Le prime risposte a queste domande sono arrivate da studi con adenovirus. È noto da molto tempo che il genoma adenovirale codifica per RNA VA (virus-associato) espressi dall'RNA polimerasi III ospite.
Gli RNA VA sono RNA altamente strutturati, lunghi circa 160 nucleotidi, che possono accumularsi fino a 10^8 molecole per cellula infetta. È stato dimostrato che l'RNA VA1 si lega al PKR, inibendo così la sua attivazione da parte di RNA virali a doppio filamento e consentendo così la traduzione di mRNA virali. [194] Successivamente, è stato scoperto che gli

---

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3841790/

tenOever, B.
RNA viruses and the host microRNA machinery.
Nat Rev Microbiol 11, 169–180 (2013). https://doi.org/10.1038/nrmicro2971
https://www.nature.com/articles/nrmicro2971

[190] Voinnet O, Pinto YM, Baulcombe DC.
Suppression of gene silencing: a general strategy used by diverse DNA and RNA viruses of plants.
Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Nov 23;96(24):14147-52. doi: 10.1073/pnas.96.24.14147. Erratum in: Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Aug 25;112(34):E4812.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC24205/

[191] Gale M Jr, Tan SL, Katze MG.
Translational control of viral gene expression in eukaryotes.
Microbiol Mol Biol Rev. 2000 Jun;64(2):239-80. doi: 10.1128/mmbr.64.2.239-280.2000.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC98994/

Katze MG, He Y, Gale M Jr. Viruses and interferon: a fight for supremacy.
Nat Rev Immunol. 2002 Sep;2(9):675-87. doi: 10.1038/nri888.
https://www.nature.com/articles/nri888

[192] Jagus R, Joshi B, Barber GN.
PKR, apoptosis and cancer.
Int J Biochem Cell Biol. 1999 Jan;31(1):123-38. doi: 10.1016/s1357-2725(98)00136-8.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10216948/

Kaufman RJ.
Stress signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum: coordination of gene transcriptional and translational controls.
Genes Dev. 1999 May 15;13(10):1211-33. doi: 10.1101/gad.13.10.1211.
http://genesdev.cshlp.org/content/13/10/1211.long

[193] Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T.
Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells.
Nature. 2001 May 24;411(6836):494-8. doi: 10.1038/35078107.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11373684/

Elbashir SM, Lendeckel W, Tuschl T.
RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs.
Genes Dev. 2001 Jan 15;15(2):188-200. doi: 10.1101/gad.862301.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC312613/

[194] Mathews MB, Shenk T.
Adenovirus virus-associated RNA and translation control.
J Virol. 1991;65(11):5657-5662. doi:10.1128/JVI.65.11.5657-5662.1991

RNA VA1 vengono esportati dal nucleo al citoplasma dal fattore Exportin 5 [195], lo stesso recettore di esportazione dei pre-microRNA [196].
Dati recenti hanno dimostrato che gli RNA VA1 possono inibire la traslocazione citoplasmatica di pre-microRNA competendo per l'esportazione nucleare dipendente da Exportin 5 [197].
Inoltre, è stato riportato che sia VA1 che gli RNA VA2 sopprimono in modo competitivo l'attività DICER.
DICER può elaborare gli RNA VA legati, con la generazione di siRNA associati ai complessi RISC durante l'infezione litica [198]. I target cellulari o virali naturali per VA-siRNA sono ancora sconosciuti, ma è probabile che gli RNA VA aiutino il dirottamento virale negli ospiti infetti prevenendo l'attivazione di PKR e inibendo diversi passaggi della via dell'RNAi dell'ospite.
Questi risultati hanno sollevato la questione se altre proteine codificate da virus che inattivano PKR inibiscano anche la via dell'RNAi dell'ospite, e in effetti le proteine del virus influenzale NS1 e del virus vaccinia E3L, entrambi inibitori di PKR [199], sono state le prime proteine scoperte codificate dai virus dei mammiferi che hanno dimostrato di essere attive contro il meccanismo RNAi degli invertebrati.[200]
E' degno di nota che vari studi sul profilo dell'espressione di miRNA dopo le vaccinazioni hanno dimostrato l'alterazione della loro espressione nel siero.[201] Ad esempio, Xiong et al. hanno scoperto che un aumento del miRNA-155 * sierico da 4 a 6 settimane dopo la vaccinazione contro l'epatite B era associato a un'assenza di risposta al vaccino (definita come livelli di anticorpi anti-HBsAg inferiori a 10 mIU / ml) [202].

---

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC250225/pdf/jvirol00054-0015.pdf

[195] Gwizdek C, Ossareh-Nazari B, Brownawell AM, Doglio A, Bertrand E, Macara IG, Dargemont C.
Exportin-5 mediates nuclear export of minihelix-containing RNAs.
J Biol Chem. 2003 Feb 21;278(8):5505-8. doi: 10.1074/jbc.C200668200. Epub 2002 Dec 30.
https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021-9258(20)86528-4

[196] Bohnsack MT, Czaplinski K, Gorlich D.
Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs.
RNA. 2004 Feb;10(2):185-91. doi: 10.1261/rna.5167604.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1370530/

Lund E, Güttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U.
Nuclear export of microRNA precursors.
Science. 2004 Jan 2;303(5654):95-8. doi: 10.1126/science.1090599. Epub 2003 Nov 20.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14631048/

Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR.
Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs.
Genes Dev. 2003;17(24):3011-3016. doi:10.1101/gad.1158803
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC305252/

[197] Lu S, Cullen BR.
Adenovirus VA1 noncoding RNA can inhibit small interfering RNA and MicroRNA biogenesis.
J Virol. 2004;78(23):12868-12876. doi:10.1128/JVI.78.23.12868-12876.2004
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC524998/

[198] Andersson MG, Haasnoot PC, Xu N, Berenjian S, Berkhout B, Akusjärvi G.
Suppression of RNA interference by adenovirus virus-associated RNA.
J Virol. 2005;79(15):9556-9565. doi:10.1128/JVI.79.15.9556-9565.2005
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1181602/

[199] García-Sastre A.
Mechanisms of inhibition of the host interferon alpha/beta-mediated antiviral responses by viruses.
Microbes Infect. 2002 May;4(6):647-55. doi: 10.1016/s1286-4579(02)01583-6.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12048034/

[200] Li WX, Li H, Lu R, Li F, Dus M, Atkinson P, Brydon EW, Johnson KL, García-Sastre A, Ball LA, Palese P, Ding SW.
Interferon antagonist proteins of influenza and vaccinia viruses are suppressors of RNA silencing.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Feb 3;101(5):1350-5. doi: 10.1073/pnas.0308308100. Epub 2004 Jan 26.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC337056/

[201] Drury RE, Pollard AJ, O'Connor D.
The effect of H1N1 vaccination on serum miRNA expression in children: A tale of caution for microRNA microarray studies.
PLoS One. 2019 Aug 20;14(8):e0221143. doi: 10.1371/journal.pone.0221143.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6701777/

[202] Xiong Y, Chen S, Liu L, Zhao Y, Lin W, Ni J.
Increased serum microRNA-155 level associated with nonresponsiveness to hepatitis B vaccine.
Clin Vaccine Immunol. 2013;20(7):1089-1091. doi:10.1128/CVI.00044-13

De Candia et al. hanno rilevato livelli elevati di miR-150 * negli adulti e nei bambini un mese dopo la vaccinazione antinfluenzale e che questo aumento era correlato ai titoli anticorpali dell'emoaglutinina [203]. Il lavoro in vitro ha supportato questi risultati, con i linfociti $CD4^+$ e B che secernevano miR-150 nel terreno di coltura cellulare all'attivazione mitogenica.

** **miR-150** [204]: miR-150 funziona come un importante regolatore nel determinare il destino delle cellule staminali/progenitrici ematopoietiche sia nelle linee linfoidi che mieloidi, nonché nella risposta al danno ematopoietico. Un'espressione aberrante di miR-150 è frequentemente osservata in vari tipi di tumori ematopoietici, in particolare, è sottoregolata nella LMC, AML e linfoma, mentre la sua sovraregolazione è stata segnalata in MDS e LLC.*
Inoltre, la sua capacità di regolazione nel processo immunitario cellulare potrebbe contribuire alla difesa dell'ospite contro gli agenti patogeni invasori e l'espressione disregolata di miR-150 nelle cellule immunitarie potrebbe provocare malattie autoimmuni quali la sclerosi sistemica (SSc), sclerosi multipla, artrite reumatoide, lupus eritematoso sistemico e sensibilità da contatto. [205]

miRNA 155 [206]*: diversi studi hanno dimostrato che miR-155 controlla la differenziazione dei linfociti T $CD4^+$ nei sottoinsiemi T helper tipo 1 (Th1), Th2 e Th17 di linfociti T helper e che influenza lo sviluppo delle cellule T regolatorie (Treg). miR-155 regola anche le cellule T $CD8^+$ ed è essenziale per la normale differenziazione delle cellule B e la produzione di anticorpi. Un'alterazione della sua espressione è riscontrabile in varie malattie che vanno dalle neoplasie ematologiche, tumori e infezioni virali alle malattie autoimmuni.*

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3697454/
[203] de Candia P, et al.
Intracellular modulation, extracellular disposal and serum increase of MiR-150 mark lymphocyte activation.
PLoS One. 2013 Sep 26;8(9):e75348. doi: 10.1371/journal.pone.0075348.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3805464/

[204] He, Y., Jiang, X. & Chen, J.
The role of miR-150 in normal and malignant hematopoiesis.
Oncogene 33, 3887–3893 (2014). https://doi.org/10.1038/onc.2013.346
https://www.nature.com/articles/onc2013346

[205] Huang XL, Zhang L, Li JP, Wang YJ, Duan Y, Wang J.
MicroRNA-150: A potential regulator in pathogens infection and autoimmune diseases.
Autoimmunity. 2015;48(8):503-10. doi: 10.3109/08916934.2015.1072518. Epub 2015 Aug 14
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26287504/
[206] Mahesh G, Biswas R.
MicroRNA-155: A Master Regulator of Inflammation.
J Interferon Cytokine Res. 2019;39(6):321-330. doi:10.1089/jir.2018.0155
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6591773/

Seddiki N, Brezar V, Ruffin N, Lévy Y, Swaminathan S.
Role of miR-155 in the regulation of lymphocyte immune function and disease.
Immunology. 2014;142(1):32-38. doi:10.1111/imm.12227
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3992045/

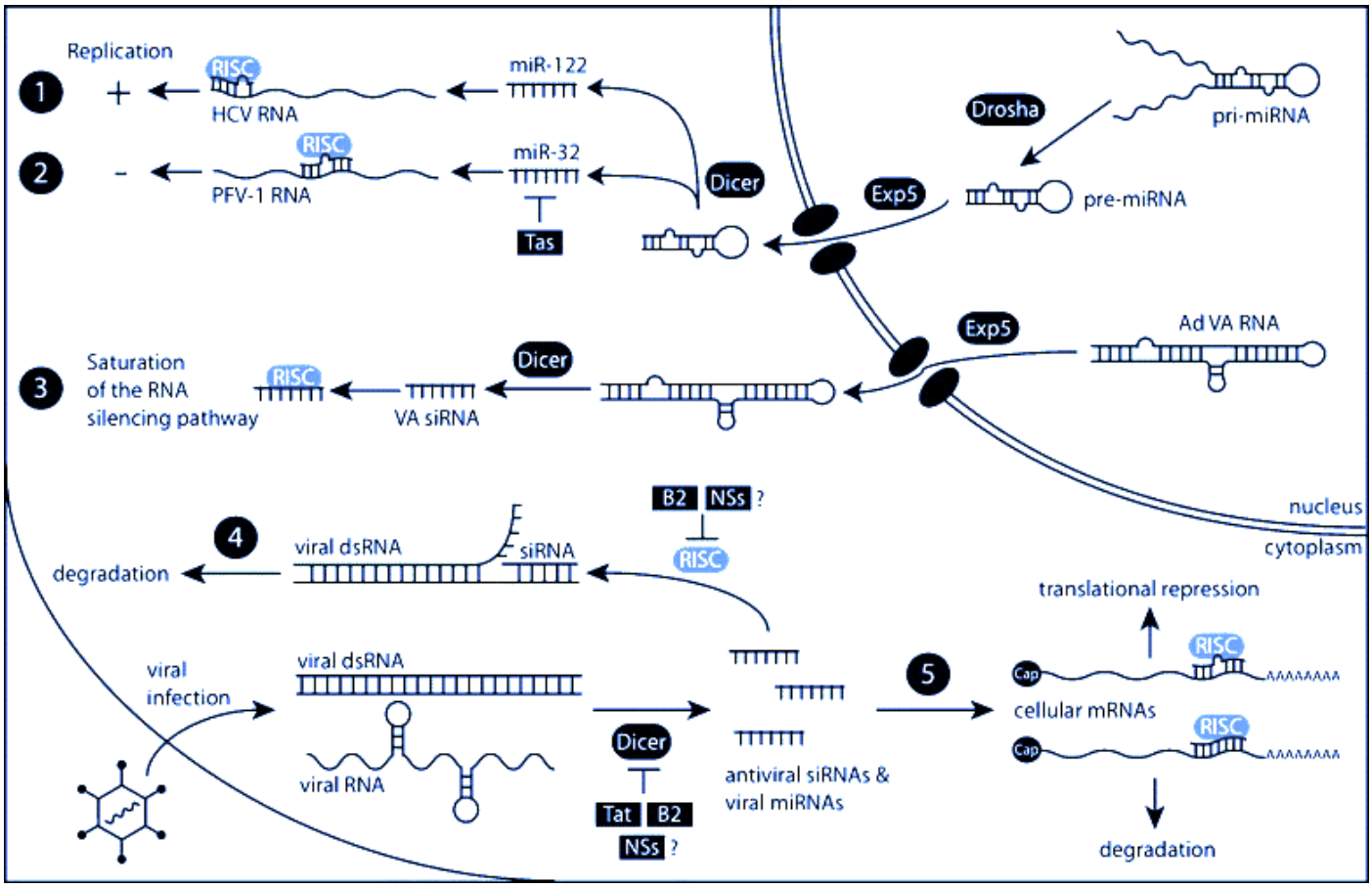
Expression of miR-155 in different diseases. Main references are indicated

Disease	Mouse	Human
Haematological malignancies	B-cell lymphoma[39,40]	B-cell lymphoma (Hodgkin's,[18,36,37] Burkitt's,[37] DLBCL[34,36] CLL[34]
Cancers	Melanoma,[47] breast cancer,[48] ovarian cancer[49]	
Viral infections	LCMV,[47] influenza virus[21]	HIV,[50] HBV,[53] HCV[54]
Autoimmune disease	CIA,[27] EAE[2]	RA,[55] MS,[59] SLE,[57] UC[57]

CIA, collagen-induced arthritis; CLL, chronic lymphocytic leukaemia; DLBCL, diffuse large cell B-cell lymphoma; EAE, experimental autoimmune encephalomyelitis; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; HIV, human immunodeficiency virus; LCMV, lymphocytic choriomeningitis virus; MS, multiple sclerosis; RA, rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus erythematosus; UC, ulcerative colitis.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3992045/

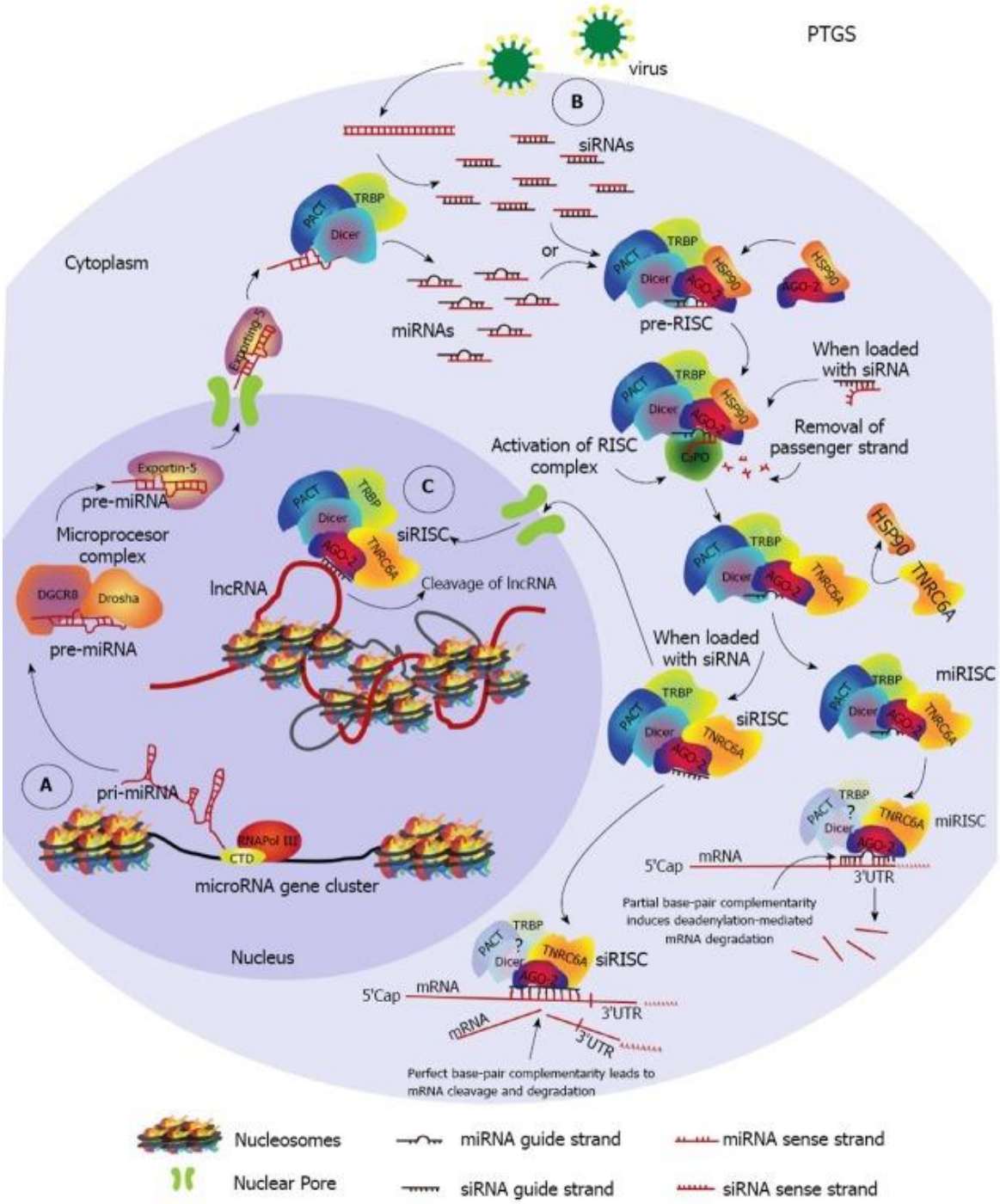
Nelle figure seguenti sono indicati i meccanismi d'interazione tra alcuni virus e il processo dell'interferenza dell'RNA:



https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682205005970?via%3Dihub
Interazioni dei virus con il meccanismo di interferenza dell'RNA. (1) Il microRNA specifico del fegato miR-122 si lega alla regione non codificante 5' dell'RNA dell'HCV e promuove la replicazione virale. (2) MiR-32 si lega all'RNA PFV-1 e abbassa le quantità di RNA virale. La proteina virale Tas inibisce l'attività dei microRNA. (3) L'adenovirus produce grandi quantità di VA RNA, che vengono trasportati tramite Exportin 5 (Exp5), elaborati da Dicer e incorporati in RISC, determinando la saturazione dell'intero percorso dell'RNAi. (4) Il dsRNA virale induce la produzione di siRNA virali da parte di Dicer, con conseguente degradazione degli RNA virali.

HIV-1 Tat, NoV B2 e LACV NSs contrastano questa difesa. (5) Virus come EBV, KHSV e SV40 codificano i propri microRNA utilizzati per modulare l'espressione genica dell'ospite o l'espressione virale.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4534814/
Vie di silenziamento genico post-trascrizionale citoplasmatico e nucleare.
A: Un microRNA primario (pri-miRNA) viene trascritto dalla RNA Polimerasi III (RNA Pol III) da un cluster di geni miRNA. Il pri-miRNA viene quindi elaborato dal complesso del microprocessore nel precursore-miRNA (pre-miRNA) che viene esportato nel citoplasma dall'exportin-5. Nel citoplasma, il dicer in complesso con la proteina legante il Tar-RNA (TRBP) e l'attivatore di trascrizione della proteina chinasi R (PACT), processa il pre-miRNA in miRNA duplex. I duplex di MiRNA vengono caricati nelle proteine 1-4 di argonaute (AGO) con l'aiuto della proteina da shock termico 90 (HSP90), formando il complesso di silenziamento indotto da pre-RNA di miRNA (pre-miRISC). Il percorso è mostrato per AGO-2. Il complesso pre-RISC viene attivato dopo la rimozione della linea passeggeri dal duplex da parte di C3PO, diventando il miRISC. TNRC6A diventa parte del complesso. MiRISC trova una regione bersaglio all'interno del 3'UTR di un mRNA e induce la degradazione dell'mRNA dipendente dalla deadenilazione;
B: Durante le infezioni virali, gli intermedi di replicazione virale dell'RNA a doppio filamento (dsRNA) vengono elaborati da DICER / TRBP / PACT e vengono caricati in AGO-2 per formare il complesso siRISC dopo la rimozione del filamento passeggero. La completa complementarità tra il siRNA del filamento guida e la regione bersaglio induce la scissione dell'mRNA target. I miRNA possono anche indurre la scissione dell'mRNA se questa condizione è soddisfatta;
C: Un percorso di silenziamento genico post-trascrizionale nucleare può verificarsi quando un siRISC attivato viene importato nel nucleo e identifica un bersaglio all'interno di un RNA nucleare come un RNA lungo non codificante (lncRNA) con conseguente scissione della molecola di RNA.



Interferenza genica e SARS-Cov-2

Il materiale genetico virale innesca l'attivazione delle risposte immunitarie innate dell'ospite e questo materiale è riconosciuto da diversi recettori di riconoscimento del pattern (PRR), come i recettori Nod-like (NLR), i RIG-like (RLR) e, soprattutto, i Toll-like (TLR) [207].
L'interazione del materiale genetico con ciascuno di questi recettori dipende dal fatto che il materiale sia DNA o RNA e se l'RNA è a filamento singolo o doppio [208].

È noto che i virus respiratori interagiscono principalmente con RLR (come RIG-I e MDA5 a livello citoplasmatico) [209] e con TLR (come TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9 a livello endosomico, nonché TLR2 e TLR4 sulla superficie della membrana cellulare) [210], che culminano in due vie di segnalazione.
La prima innesca l'attivazione del fattore di trascrizione NF-κB, che avvia la trascrizione delle citochine pro-infiammatorie, mentre la seconda è legata all'attivazione dei fattori regolatori dell'interferone (IRF), che promuovono l'espressione genica dell'interferone di tipo I e III [211] e i miRNA modulano entrambi questi percorsi. [212]

---

[207] Gordon S.
Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response.
Cell. 2002 Dec 27;111(7):927-30. doi: 10.1016/s0092-8674(02)01201-1.
https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867402012011

Zhang Y, Li Y.
Regulation of innate receptor pathways by microRNAs.
Sci China Life Sci. 2013 Jan;56(1):13-8. doi: 10.1007/s11427-012-4428-2. Epub 2012 Dec 27.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23269554/

[208] Hotz C, Roetzer LC, Huber T, Sailer A, Oberson A, Treinies M, Heidegger S, Herbst T, Endres S, Bourquin C.
TLR and RLR Signaling Are Reprogrammed in Opposite Directions after Detection of Viral Infection.
J Immunol. 2015 Nov 1;195(9):4387-95. doi: 10.4049/jimmunol.1500079. Epub 2015 Sep 21.
https://www.jimmunol.org/content/195/9/4387.long

[209] Gantier MP.
New perspectives in MicroRNA regulation of innate immunity.
J Interferon Cytokine Res. 2010 May;30(5):283-9. doi: 10.1089/jir.2010.0037.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20477549/

[210] Aoshi T, Koyama S, Kobiyama K, Akira S, Ishii KJ.
Innate and adaptive immune responses to viral infection and vaccination.
Curr Opin Virol. 2011 Oct;1(4):226-32. doi: 10.1016/j.coviro.2011.07.002. Epub 2011 Jul 30.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22440781/

Gantier MP, Sadler AJ, Williams BR.
Fine-tuning of the innate immune response by microRNAs.
Immunol Cell Biol. 2007 Aug-Sep;85(6):458-62. doi: 10.1038/sj.icb.7100091. Epub 2007 Jul 10.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17621315/

[211] Li Y, Shi X.
MicroRNAs in the regulation of TLR and RIG-I pathways.
Cell Mol Immunol. 2013 Jan;10(1):65-71. doi: 10.1038/cmi.2012.55. Epub 2012 Dec 24.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4003181/

[212] Leon-Icaza, S.A., Zeng, M. & Rosas-Taraco, A.G.
microRNAs in viral acute respiratory infections: immune regulation, biomarkers, therapy, and vaccines.
ExRNA 1, 1 (2019). https://doi.org/10.1186/s41544-018-0004-7
https://exrna.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41544-018-0004-7

L'espressione di miRNA da parte dell'ospite ha un effetto fondamentale sul controllo della patogenesi virale attraverso l'interferenza con i linfociti T e le reazioni immunitarie alle infezioni virali, con effetti positivi o deleteri.
Ad esempio **miR-155** contribuisce alle risposte antivirali delle cellule T in un modello di encefalomielite da coronavirus [213], sia con un effetto protettivo antinfiammatorio con l'accumulo ottimale di cellule T, attività citolitica, secrezione di citochine e traffico verso il sistema nervoso centrale, che patogenico qualora la sua sovraespressione induca un effetto neuroinfiammatorio disregolato. [214]

Il **miR-32** è il principale esempio descritto di miRNA cellulare mirato al genoma dell'RNA virale che riduce la replicazione virale all'interno delle cellule [215].
Inoltre, è stato dimostrato che due proteine (L e P) del VSV sono bersagli di miR-24 e miR-93, mentre miR-29a agisce sulla proteina Nef dell'HIV per inibirne la replicazione, e alcuni miRNA, inclusi miR-1, miR-30, miR-128, miR-196, miR-296, miR-351, miR-431 e miR-448, agiscono sulle proteine dell'HCV, come le proteine C e NS5A, sopprimendo la traduzione/replicazione attraverso l'attivazione della cascata del segnale degli IFN.[216]

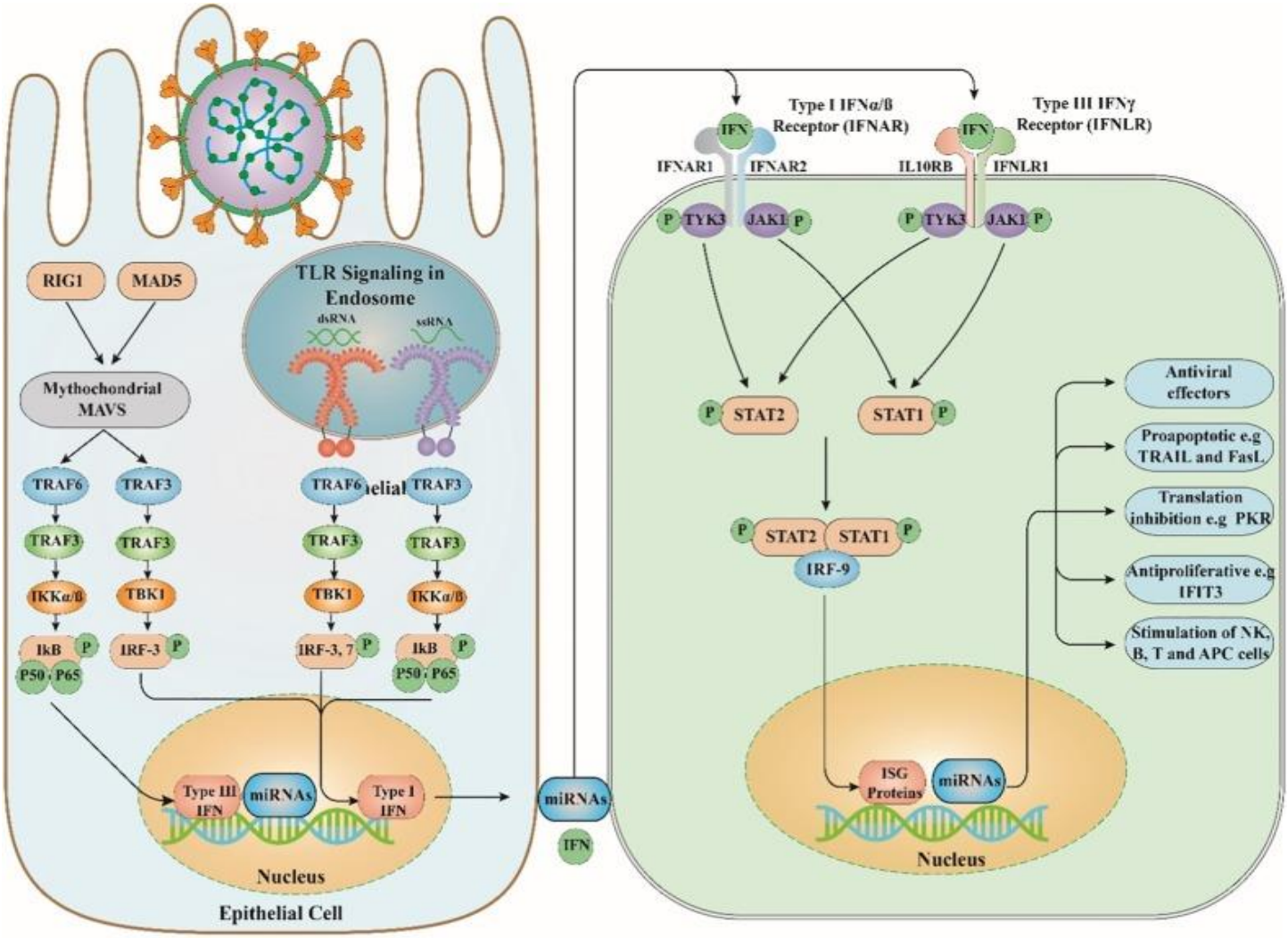
[213] Dickey LL, Worne CL, Glover JL, Lane TE, O'Connell RM.
MicroRNA-155 enhances T cell trafficking and antiviral effector function in a model of coronavirus-induced neurologic disease.
J Neuroinflammation. 2016;13(1):240. Published 2016 Sep 7. doi:10.1186/s12974-016-0699-z
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5015201/

[214] Lopez-Ramirez MA, et al
MicroRNA-155 negatively affects blood-brain barrier function during neuroinflammation.
FASEB J. 2014 Jun;28(6):2551-65. doi: 10.1096/fj.13-248880. Epub 2014 Mar 6.
https://core.ac.uk/reader/30698080?utm_source=linkout

[215] Lecellier CH, Dunoyer P, Arar K, Lehmann-Che J, Eyquem S, Himber C, Saïb A, Voinnet O.
A cellular microRNA mediates antiviral defense in human cells.
Science. 2005 Apr 22;308(5721):557-60. doi: 10.1126/science.1108784.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15845854/
[216] Otsuka M, Jing Q, Georgel P, New L, Chen J, Mols J, Kang YJ, Jiang Z, Du X, Cook R, Das SC, Pattnaik AK, Beutler B, Han J.
Hypersusceptibility to vesicular stomatitis virus infection in Dicer1-deficient mice is due to impaired miR24 and miR93 expression.
Immunity. 2007 Jul;27(1):123-34. doi: 10.1016/j.immuni.2007.05.014. Epub 2007 Jul 5
https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S1074-7613%2807%2900325-1

Ahluwalia JK, Khan SZ, Soni K, Rawat P, Gupta A, Hariharan M, Scaria V, Lalwani M, Pillai B, Mitra D, Brahmachari SK.
Human cellular microRNA hsa-miR-29a interferes with viral nef protein expression and HIV-1 replication.
Retrovirology. 2008 Dec 23;5:117. doi: 10.1186/1742-4690-5-117.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2635386/

Pedersen IM, Cheng G, Wieland S, Volinia S, Croce CM, Chisari FV, David M.
Interferon modulation of cellular microRNAs as an antiviral mechanism.
Nature. 2007 Oct 18;449(7164):919-22. doi: 10.1038/nature06205.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2748825/



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7664359/
La risposta immunitaria antivirale e il ruolo dei miRNA. TLR, recettore Toll-like; RIG1, gene I inducibile dall'acido retinoico; MAD5, proteina 5 associata alla differenziazione del melanoma; Proteina di segnalazione antivirale mitocondriale; TRAF3, fattore3 associato al recettore del TNF; TRAF6, fattore associato al recettore del TNF6; IKK, IκB chinasi; Chinasi 1 legante il TANK; IRF3, fattore di regolazione dell'interferone 3; IFN, interferone; IFNAR1, recettore 1 dell'interferone-α / β; STAT1, Trasduttore di segnale e attivatore di trascrizione 1; STAT2, Trasduttore di segnale e attivatore di trascrizione 2; IRF9, fattore di regolazione dell'interferone 9; ISG, gene stimolato dall'interferone; miRNA, microRNA.

MicroRNA e SARS-CoV-2

Ad oggi sono già numerosi gli studi sull'espressione e il meccanismo d'azione dei miRNA coinvolti nell'infezione da SARS-Cov-2 per chiarire la patogenesi e l'infettività del virus. [217]

[217] Abu-Izneid T, AlHajri N, Mohammed Ibrahim A, et al.
Micro-RNAs in the regulation of immune response against SARS COV-2 and other viral infections
[published online ahead of print, 2020 Dec 2]. J Adv Res. 2020;10.1016/j.jare.2020.11.013. doi:10.1016/j.jare.2020.11.013
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7708232/

Mu, J., Xu, J., Zhang, L. et al.
SARS-CoV-2-encoded nucleocapsid protein acts as a viral suppressor of RNA interference in cells.
Sci. China Life Sci. 63, 1–4 (2020). https://doi.org/10.1007/s11427-020-1692-1
https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11427-020-1692-1.pdf

Khan MA, Islam ABMMK.
SARS-CoV-2 Proteins Exploit Host's Genetic and Epigenetic Mediators for the Annexation of Key Host Signaling Pathways.
Front Mol Biosci. 2021;7:598583. Published 2021 Jan 27. doi:10.3389/fmolb.2020.598583
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7872968/

Demongeot J, Seligmann H.
SARS-CoV-2 and miRNA-like inhibition power.

Attualmente, numerosi paesi hanno in corso l'epidemia da SARS-CoV-2 e una tale prevalenza rende il virus incline a subire mutazioni e a sviluppare varianti nelle diverse popolazioni [218].

Diverse linee di evidenza hanno dimostrato che i patogeni virali potrebbero eludere la sorveglianza del sistema immunitario utilizzando i miRNA dell'ospite [219].

Med Hypotheses. 2020;144:110245. doi:10.1016/j.mehy.2020.110245
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7471724/

Sardar R, Satish D, Birla S, Gupta D.
Integrative analyses of SARS-CoV-2 genomes from different geographical locations reveal unique features potentially consequential to host-virus interaction, pathogenesis and clues for novel therapies.
Heliyon. 2020 Sep;6(9):e04658. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04658. Epub 2020 Aug 20.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7439967/

Arora S, Singh P, Dohare R, Jha R, Ali Syed M.
Unravelling host-pathogen interactions: ceRNA network in SARS-CoV-2 infection (COVID-19).
Gene. 2020;762:145057. doi:10.1016/j.gene.2020.145057
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7428439/

Sardar R, Satish D, Birla S, Gupta D.
Dataset of mutational analysis, miRNAs targeting SARS-CoV-2 genes and host gene expression in SARS-CoV and SARS-CoV-2 infections.
Data Brief. 2020 Oct;32:106207. doi: 10.1016/j.dib.2020.106207. Epub 2020 Aug 21.
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S235234092031101X

Arisan ED, Dart A, Grant GH, et al.
The Prediction of miRNAs in SARS-CoV-2 Genomes: hsa-miR Databases Identify 7 Key miRs Linked to Host Responses and Virus Pathogenicity-Related KEGG Pathways Significant for Comorbidities.
Viruses. 2020;12(6):614. Published 2020 Jun 4. doi:10.3390/v12060614
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7354481/

Lange S, Arisan ED, Grant GH, Uysal-Onganer P.
MicroRNAs for Virus Pathogenicity and Host Responses, Identified in SARS-CoV-2 Genomes, May Play Roles in Viral-Host Co-Evolution in Putative Zoonotic Host Species.
Viruses. 2021 Jan 16;13(1):117. doi: 10.3390/v13010117. PMID: 33467206; PMCID: PMC7830670.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7830670/

Chan AP, Choi Y, Schork NJ.
Conserved Genomic Terminals of SARS-CoV-2 as Coevolving Functional Elements and Potential Therapeutic Targets.
mSphere. 2020 Nov 25;5(6):e00754-20. doi: 10.1128/mSphere.00754-20.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7690956/

Gabriela A Merino, et al.
Novel SARS-CoV-2 encoded small RNAs in the passage to humans,
Bioinformatics,2020;btaa1002, https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa1002
https://academic.oup.com/bioinformatics/advance-article/doi/10.1093/bioinformatics/btaa1002/6007256

Mirzaei R, et al
The emerging role of microRNAs in the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection.
Int Immunopharmacol. 2021 Jan;90:107204. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107204. Epub 2020 Nov 13.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7664359/

Srivastava R, Daulatabad SV, Srivastava M, Janga SC.
Role of SARS-CoV-2 in Altering the RNA-Binding Protein and miRNA-Directed Post-Transcriptional Regulatory Networks in Humans.
Int J Mol Sci. 2020 Sep 25;21(19):7090. doi: 10.3390/ijms21197090.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7582926/

Aydemir MN, Aydemir HB, Korkmaz EM, Budak M, Cekin N, Pinarbasi E.
Computationally predicted SARS-COV-2 encoded microRNAs target NFKB, JAK/STAT and TGFB signaling pathways.
Gene Rep. 2021 Mar;22:101012. doi: 10.1016/j.genrep.2020.101012. Epub 2020 Dec 31.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7773562/

[218] Khan MA, Sany MRU, Islam MS, Islam ABMMK.
Epigenetic Regulator miRNA Pattern Differences Among SARS-CoV, SARS-CoV-2, and SARS-CoV-2 World-Wide Isolates Delineated the Mystery Behind the Epic Pathogenicity and Distinct Clinical Characteristics of Pandemic COVID-19. Front Genet. 2020;11:765. Published 2020 Jul 10. doi:10.3389/fgene.2020.00765
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7381279/

[219] Mishra R, Kumar A, Ingle H, Kumar H.
The Interplay Between Viral-Derived miRNAs and Host Immunity During Infection.
Front Immunol. 2020;10:3079. Published 2020 Jan 23. doi:10.3389/fimmu.2019.03079
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6989438/

Khan et al. [218] hanno analizzato il profilo dei miRNA dell'ospite e i regolatori epigenetici dei diversi livelli di espressione dei miRNA tra SARS-CoV e SARS-CoV-2. Hanno applicato procedure computazionali per predirre possibili miRNA virali e dell'ospite e i loro potenziali compiti in vari percorsi operativi. Hanno anche distinto più possibili miRNA dell'ospite (con funzione antivirale) in grado di agire sul virus della SARS e i suoi miRNA che colpiscono i geni dell'ospite.

Il confronto tra i profili di miRNA dell'ospite associati a genomi distinti del SARS-CoV-2, relativi a 24 nazioni sulla base della mortalità normalizzata, ha evidenziato alcuni cluster di miRNA correlati con tassi di mortalità elevati.
I risultati suggeriscono che entrambi i miRNA virali del SARS-CoV-1 e SARS-CoV-2 possono colpire un'ampia gamma di vie di segnalazione associate al sistema immunitario, ma solo alcuni miRNA del SARS-CoV-2 possono agire in maniera univoca su una serie di segnali immuno-associati, che permettono al virus l'evasione immunitaria necessaria per la persistenza continua all'interno dell'ospite senza che si manifestino i sintomi del COVID-19.
Inoltre, vari percorsi cellulari cruciali possono essere modulati dal SARS-CoV-2, e questo può provocare ampie anormalità in casi di comorbidità, come disturbi cardiovascolari, diabete e difficoltà respiratorie. Questo evento suggerisce che i miRNA possono essere considerati come modulatori epigenetici critici nello sviluppo di complicanze nei casi con COVID-19, e lo studio di Khan et al. dimostra che i miRNA sia dell'ospite che del virus (SARS-CoV-2) possono contribuire a eventi patologici.

Sebbene le condizioni della malattia causate da SARS-CoV e SARS-CoV-2 siano più o meno simili, diverse caratteristiche peculiari (ad esempio, lunga incubazione, maggiore latenza, infezione asintomatica, dolore intenso, grave danno polmonare, ecc. [220]) della COVID-19 la rendono più difficile da gestire rispetto all'infezione da SARS-CoV.
A causa delle differenze nelle sequenze del genoma tra questi due virus, c'è una differenza significativa tra i miRNA cellulari e i geni virali colpiti. I miRNA cellulari, oltre al ruolo fondamentale nell'eliminazione dei trascritti virali, possono anche modulare alcune vie dell'ospite che presumibilmente possono essere utilizzate dal virus infettante per evitare la risposta immunitaria dell'ospite.

I possibili effetti dei miRNA virali e dell'ospite sono:

(1) le differenze genomiche tra SARS-CoV e SARS-CoV-2 possono portare a variazioni nel legame del miRNA ospite e di conseguenza differenze sulla patogenicità, segni e sintomi di queste malattie e potrebbero spiegare il periodo di incubazione relativamente più lungo del SARS-CoV-2;
(2) dall'altra parte, ci sono differenze nei miRNA virali che possono regolare le espressioni di diversi set di geni dell'ospite, il che a sua volta può essere vantaggioso per il virus o l'ospite;
(3) a causa di un rapido tasso di mutazione, le variazioni osservate tra gli isolati di SARS-CoV-2 in diverse regioni del mondo possono comportare variazioni nelle capacità dell'ospite di colpire il virus con i suoi miRNA. Questo, a sua volta, potrebbe svolgere un ruolo significativo nei vari gradi di gravità della malattia, sintomi e tasso di mortalità nelle diverse regioni.

Sebbene l'azione primaria indotta dai miRNA dell'ospite sia quella di silenziare l'RNA virale, potrebbero anche modulare alcuni fattori dell'ospite che forniscono un vantaggio alla patogenesi virale. Infatti, i miRNA dell'ospite possono essere come armi a doppio taglio, in quanto a volte possono facilitare l'evasione immunitaria virale agendo

---

Islam MS, Khan MA, Murad MW, Karim M, Islam ABMMK.
In silico analysis revealed Zika virus miRNAs associated with viral pathogenesis through alteration of host genes involved in immune response and neurological functions.
J Med Virol. 2019 Sep;91(9):1584-1594. doi: 10.1002/jmv.25505. Epub 2019 Jun 6.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31095749/

[220] Ceccarelli M, Berretta M, Venanzi Rullo E, Nunnari G, Cacopardo B.
Differences and similarities between Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)-CoronaVirus (CoV) and SARS-CoV-2. Would a rose by another name smell as sweet?
Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2020 Mar;24(5):2781-2783. doi: 10.26355/eurrev_202003_20551
https://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/2781-2783.pdf

su alcune importanti risposte immunitarie dell'ospite all'infezione virale [221], come la segnalazione IFN-gamma [222], TGF-beta [223], dell'interleuchina [224], IGF1 [225], TRAIL [226], ecc.
È interessante notare che i miRNA dell'ospite indotti durante l'infezione da SARS-CoV-2 possono in particolare sottoregolare la segnalazione di diversi recettori Toll-Like (TLR) [224], che sono considerati le molecole stimolatrici primarie per l'induzione delle risposte antivirali dell'ospite (cioè la produzione di interferoni e altre citochine infiammatorie).
Inoltre, la segnalazione di altri recettori coinvolti nelle risposte antivirali come la segnalazione uPA-UPAR [227], TRAF6 [228], S1P1 [229], del recettore degli estrogeni [230], del recettore attivato dalla proteasi (PAR) [231], della proteina morfogenetica ossea (BMP) [232], ecc. possono essere disregolati dai miRNA dell'ospite con conseguente soppressione immunitaria.

---

[221] Bruscella P, Bottini S, Baudesson C, Pawlotsky JM, Feray C, Trabucchi M.
Viruses and miRNAs: More Friends than Foes.
Front Microbiol. 2017 May 15;8:824. doi: 10.3389/fmicb.2017.00824.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5430039/

[222] Kang S, Brown HM, Hwang S.
Direct Antiviral Mechanisms of Interferon-Gamma.
Immune Netw. 2018 Oct 17;18(5):e33. doi: 10.4110/in.2018.18.e33.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6215902/

[223] Mogensen TH, Paludan SR.
Molecular pathways in virus-induced cytokine production.
Microbiol Mol Biol Rev. 2001 Mar;65(1):131-50. doi: 10.1128/MMBR.65.1.131-150.2001.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC99022/

[224] Kimura H, Yoshizumi M, Ishii H, Oishi K, Ryo A.
Cytokine production and signaling pathways in respiratory virus infection.
Front Microbiol. 2013 Sep 17;4:276. doi: 10.3389/fmicb.2013.00276.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3774987/

[225] Li G, Zhou L, Zhang C, Shi Y, Dong D, Bai M, Wang R, Zhang C.
Insulin-Like Growth Factor 1 Regulates Acute Inflammatory Lung Injury Mediated by Influenza Virus Infection.
Front Microbiol. 2019 Nov 26;10:2541. doi: 10.3389/fmicb.2019.02541.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6887893/

[226] Cummins N, Badley A.
The TRAIL to viral pathogenesis: the good, the bad and the ugly.
Curr Mol Med. 2009 May;9(4):495-505. doi: 10.2174/156652409788167078.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3149795/

[227] Alfano M, Sidenius N, Blasi F, Poli G.
The role of urokinase-type plasminogen activator (uPA)/uPA receptor in HIV-1 infection.
J Leukoc Biol. 2003 Nov;74(5):750-6. doi: 10.1189/jlb.0403176. Epub 2003 Aug 21.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12960238/

[228] Konno H, et al
TRAF6 establishes innate immune responses by activating NF-kappaB and IRF7 upon sensing cytosolic viral RNA and DNA.
PLoS One. 2009 May 25;4(5):e5674. doi: 10.1371/journal.pone.0005674.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2682567/

[229] Oldstone MB, Teijaro JR, Walsh KB, Rosen H.
Dissecting influenza virus pathogenesis uncovers a novel chemical approach to combat the infection.
Virology. 2013 Jan 5;435(1):92-101. doi: 10.1016/j.virol.2012.09.039.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3523270/

[230] Kovats S.
Estrogen receptors regulate innate immune cells and signaling pathways.
Cell Immunol. 2015 Apr;294(2):63-9. doi: 10.1016/j.cellimm.2015.01.018. Epub 2015 Feb 7
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4380804/

[231] Antoniak S, et al
PAR-1 contributes to the innate immune response during viral infection.
J Clin Invest. 2013 Mar;123(3):1310-22. doi: 10.1172/JCI66125. Epub 2013 Feb 8.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3582138/

[232] Eddowes LA, Al-Hourani K, Ramamurthy N, et al.
Antiviral activity of bone morphogenetic proteins and activins.
Nat Microbiol. 2019;4(2):339-351. doi:10.1038/s41564-018-0301-9
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6590058/

I miRNA codificati dal SARS-CoV-2 possono invece agire su percorsi come l'autofagia, la segnalazione IFN-I, wnt, la mTOR, ecc., mentre i geni target sottoregolati dai miRNA di SARS-CoV-2 sono coinvolti nella via di segnalazione del Ca^{2+} considerata un importante attivatore di molte vie di segnalazione [233].
Tutti questi effetti suggeriscono una spiegazione del perché le infezioni da SARS-CoV-2 potrebbero essere fatali per coloro che sono immunosoppressi.[234]

La ricerca ha evidenziato anche che i miRNA del SARS-CoV-2 possono mirare a diverse importanti funzioni e percorsi cellulari specifici d'organo, quali:

- la via del segnale dell'insulina: l'alterazione di questo percorso potrebbe complicare la malattia per i pazienti COVID-19 con problemi diabetici esistenti [235].
- le vie del segnale correlate allo sviluppo del cuore, con conseguenze simili alla miocardite virale [236], rendendo la malattia più fatale per i pazienti con complicanze cardiovascolari esistenti.
- vie del segnale associate a geni del tessuto nervoso centrale, e ciò potrebbe spiegare segni neurologici come mal di testa, vomito e nausea.

I miRNA del SARS-CoV-2 agiscono anche sulla segnalazione dell'HIF-1, associata a molte infezioni virali, in quanto HIF-1 svolge un ruolo importante nella sopravvivenza cellulare in condizioni ipossiche. [237] I pazienti COVID-19 soffrono della mancanza di ossigeno a causa di complicazioni respiratorie e questo percorso potrebbe svolgere un ruolo cruciale nel mitigare la condizione, ma la sua disregolazione mediata dai miRNA virali potrebbe comportare gravi conseguenze.

Infine, i miRNA dell'ospite indotti da SARS-CoV-2 possono anche sottoregolare lo sviluppo e la regolazione dei processi metabolici dei chetoni cellulari renali, ecc., aumentando il carico sui reni [238], che potrebbe essere fatale per pazienti con diabete e complicanze renali.

---

[233] Zhou Y, Frey TK, Yang JJ.
Viral calciomics: interplays between Ca2+ and virus.
Cell Calcium. 2009 Jul;46(1):1-17. doi: 10.1016/j.ceca.2009.05.005. Epub 2009 Jun 16.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3449087/

[234] D'Antiga L.
Coronaviruses and Immunosuppressed Patients: The Facts During the Third Epidemic.
Liver Transpl. 2020 Jun;26(6):832-834. doi: 10.1002/lt.25756. Epub 2020 Apr 24.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32196933/

[235] Shimizu F, Hooks JJ, Kahn CR, Notkins AL.
Virus-induced decrease of insulin receptors in cultured human cells.
J Clin Invest. 1980 Nov;66(5):1144-51. doi: 10.1172/JCI109944.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC371553/pdf/jcinvest00695-0276.pdf

236 Dennert R, Crijns HJ, Heymans S.
Acute viral myocarditis.
Eur Heart J. 2008 Sep;29(17):2073-82. doi: 10.1093/eurheartj/ehn296. Epub 2008 Jul 9.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2519249/

[237] Santos SAD, Andrade DR Júnior.
HIF-1alpha and infectious diseases: a new frontier for the development of new therapies.
Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2017 Dec 21;59:e92. doi: 10.1590/S1678-9946201759092.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5738998/

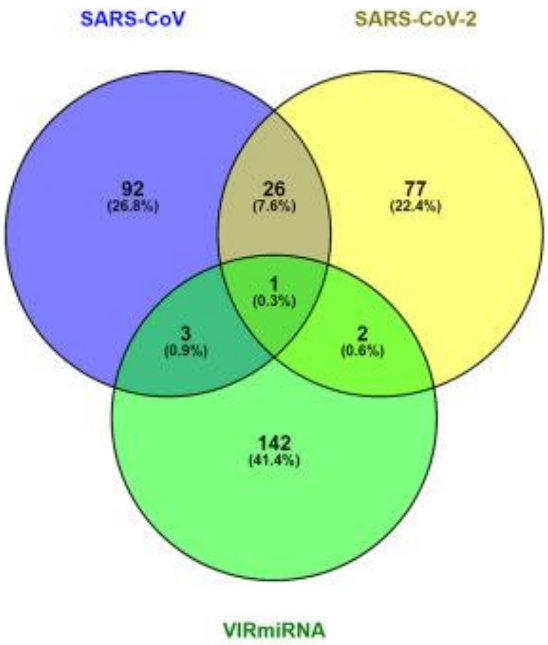
[238] Kanikarla-Marie P, Jain SK.
Hyperketonemia and ketosis increase the risk of complications in type 1 diabetes.
Free Radic Biol Med. 2016 Jun;95:268-77. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.020. Epub 2016 Mar 29.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4867238/

A

Present | Absent

SARS-CoV	SARS-CoV-2	
hsa-miR-1307-3p	3UTR	3UTR
hsa-miR-1304-5p	ORF1ab	ORF1ab
hsa-miR-138-5p	ORF1ab	ORF1ab
hsa-miR-193a-5p	ORF1ab	ORF1ab
hsa-miR-2277-3p	ORF1ab	ORF1ab
hsa-miR-3154	ORF1ab	ORF1ab
hsa-miR-323a-5p	ORF1ab	ORF1ab
hsa-miR-365a-5p	ORF1ab	ORF1ab
hsa-miR-4502	ORF1ab	ORF1ab
hsa-miR-494-5p	ORF1ab	ORF1ab
hsa-miR-6515-5p	ORF1ab	ORF1ab
hsa-miR-6812-5p	ORF1ab	ORF1ab
hsa-miR-6838-5p	ORF1ab	ORF1ab
hsa-miR-6721-5p	ORF1ab	M
hsa-miR-6759-5p	ORF1ab	S
hsa-miR-6817-5p	ORF1ab	N
hsa-miR-4436a	3a	ORF7a
hsa-miR-939-5p	3a	ORF1ab
hsa-miR-6820-5p	ORF6	M
hsa-miR-6732-5p	ORF7b	ORF3a
hsa-miR-7850-5p	ORF8b	S
hsa-miR-6876-5p	ORF9a/N	N
hsa-miR-1202	ORF9b	ORF1ab
hsa-miR-3935	M	ORF1ab
hsa-miR-4259	S	N
hsa-miR-4732-5p	S	ORF8
hsa-miR-624-5p	S	ORF1ab

C



B

Present | Absent

SARS-COV	SARS-CoV-2	
hsa-miR-3150b-3p	5UTR	
hsa-miR-1304-3p	3UTR	
hsa-let-7a-5p	ORF1ab	
hsa-miR-1204	ORF1ab	
hsa-miR-1258	ORF1ab	
hsa-miR-1276	ORF1ab	
hsa-miR-1471	ORF1ab	
hsa-miR-154-5p	ORF1ab	
hsa-miR-185-5p	ORF1ab	
hsa-miR-196a-5p	ORF1ab	
hsa-miR-19b-1-5p	ORF1ab	
hsa-miR-222-5p	ORF1ab	
hsa-miR-2682-5p	ORF1ab	
hsa-miR-30c-1-3p	ORF1ab	
hsa-miR-3152-5p	ORF1ab	
hsa-miR-323b-5p	ORF1ab	
hsa-miR-34b-5p	ORF1ab	
hsa-miR-3650	ORF1ab	
hsa-miR-365b-5p	ORF1ab	
hsa-miR-371a-3p	ORF1ab	
hsa-miR-375-3p	ORF1ab	
hsa-miR-425-3p	ORF1ab	
hsa-miR-432-5p	ORF1ab	
hsa-miR-4453	ORF1ab	
hsa-miR-4515	ORF1ab	
hsa-miR-4669	ORF1ab	
hsa-miR-4695-5p	ORF1ab	
hsa-miR-4703-3p	ORF1ab	
hsa-miR-4709-3p	ORF1ab	
hsa-miR-4711-5p	ORF1ab	
hsa-miR-4725-3p	ORF1ab	
hsa-miR-4726-5p	ORF1ab	
hsa-miR-4733-3p	ORF1ab	
hsa-miR-4748	ORF1ab	
hsa-miR-4769-5p	ORF1ab	
hsa-miR-4771	ORF1ab	
hsa-miR-4772-3p	ORF1ab	
hsa-miR-4778-3p	ORF1ab	
hsa-miR-4796-3p	ORF1ab	
hsa-miR-497-3p	ORF1ab	
hsa-miR-511-5p	ORF1ab	
hsa-miR-513c-5p	ORF1ab	
hsa-miR-5193	ORF1ab	
hsa-miR-519b-3p	ORF1ab	
hsa-miR-5739	ORF1ab	
hsa-miR-6511b-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6513-3p	ORF1ab	
hsa-miR-6514-3p	ORF1ab	

SARS-COV	SARS-CoV-2	
hsa-miR-8057	5UTR	
hsa-let-7c-3p	ORF1ab	
hsa-miR-103a-1-5p	ORF1ab	
hsa-miR-12127	ORF1ab	
hsa-miR-1229-5p	ORF1ab	
hsa-miR-17-5p	ORF1ab	
hsa-miR-182-5p	ORF1ab	
hsa-miR-1843	ORF1ab	
hsa-miR-197-5p	ORF1ab	
hsa-miR-20b-5p	ORF1ab	
hsa-miR-3120-5p	ORF1ab	
hsa-miR-3190-3p	ORF1ab	
hsa-miR-3191-3p	ORF1ab	
hsa-miR-3202	ORF1ab	
hsa-miR-3666	ORF1ab	
hsa-miR-3689a-5p	ORF1ab	
hsa-miR-3689b-5p	ORF1ab	
hsa-miR-3689e	ORF1ab	
hsa-miR-378c	ORF1ab	
hsa-miR-3914	ORF1ab	
hsa-miR-3934-5p	ORF1ab	
hsa-miR-3976	ORF1ab	
hsa-miR-4436b-3p	ORF1ab	
hsa-miR-4520-5p	ORF1ab	
hsa-miR-4524b-5p	ORF1ab	
hsa-miR-4722-5p	ORF1ab	
hsa-miR-4758-5p	ORF1ab	
hsa-miR-498-5p	ORF1ab	
hsa-miR-4999-5p	ORF1ab	
hsa-miR-549a-3p	ORF1ab	
hsa-miR-5582-5p	ORF1ab	
hsa-miR-5586-5p	ORF1ab	
hsa-miR-5591-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6076	ORF1ab	
hsa-miR-6134	ORF1ab	
hsa-miR-628-3p	ORF1ab	
hsa-miR-637	ORF1ab	
hsa-miR-656-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6736-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6738-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6740-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6741-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6769b-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6772-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6818-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6831-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6834-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6837-3p	ORF1ab	

SARS-COV	SARS-CoV-2	
hsa-miR-654-3p	ORF1ab	
hsa-miR-654-5p	ORF1ab	
hsa-miR-655-3p	ORF1ab	
hsa-miR-6731-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6757-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6780a-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6793-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6804-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6815-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6838-3p	ORF1ab	
hsa-miR-6875-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6878-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6884-5p	ORF1ab	
hsa-miR-7112-3p	ORF1ab	
hsa-miR-7154-3p	ORF1ab	
hsa-miR-7158-5p	ORF1ab	
hsa-miR-7161-5p	ORF1ab	
hsa-miR-877-3p	ORF1ab	
hsa-miR-9851-5p	ORF1ab	
hsa-miR-4747-5p	3a	
hsa-miR-6504-5p	3a	
hsa-miR-4524a-5p	ORF6	
hsa-miR-3131	ORF7b	
hsa-miR-6739-3p	ORF7b	
hsa-miR-8055	ORF8b	
hsa-miR-216a-3p	ORF9a/N	
hsa-miR-3192-5p	ORF9a/N	
hsa-miR-337-3p	ORF9a/N	
hsa-miR-655-5p	ORF9a/N	
hsa-miR-198	ORF9b	
hsa-miR-7160-5p	ORF9b	
hsa-miR-550a-3-5p	M	
hsa-miR-550a-5p	M	
hsa-miR-550b-2-5p	M	
hsa-miR-652-3p	M	
hsa-miR-382-5p	S	
hsa-miR-3934-3p	S	
hsa-miR-4659a-5p	S	
hsa-miR-4659b-5p	S	
hsa-miR-486-5p	S	
hsa-miR-5572	S	
hsa-miR-6081	S	
hsa-miR-6127	S	
hsa-miR-622	S	
hsa-miR-6775-5p	S	
hsa-miR-6830-3p	S	
hsa-miR-7843-5p	S	

SARS-COV	SARS-CoV-2	
hsa-miR-6853-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6861-5p	ORF1ab	
hsa-miR-6893-5p	ORF1ab	
hsa-miR-7-5p	ORF1ab	
hsa-miR-8060	ORF1ab	
hsa-miR-8080	ORF1ab	
hsa-miR-8082	ORF1ab	
hsa-miR-892c-5p	ORF1ab	
hsa-miR-96-3p	ORF1ab	
hsa-miR-3132	ORF3a	
hsa-miR-6751-5p	ORF3a	
hsa-miR-3135b	ORF7a	
hsa-miR-4684-3p	ORF7a	
hsa-miR-12129	ORF8	
hsa-miR-2392	ORF8	
hsa-miR-23b-5p	ORF8	
hsa-miR-5047	ORF8	
hsa-miR-12119	N	
hsa-miR-208a-5p	N	
hsa-miR-3155a	N	
hsa-miR-506-3p	N	
hsa-miR-6882-3p	N	
hsa-miR-8066	N	
hsa-miR-92a-2-5p	N	
hsa-miR-11401	S	
hsa-miR-125a-3p	S	
hsa-miR-4510	S	
hsa-miR-5683	S	
hsa-miR-597-3p	S	
hsa-miR-6792-5p	S	
hsa-miR-744-3p	S	

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7381279/

I miRNA dell'ospite che influiscono sul SARS-CoV e il SARS-CoV-2. (A) miRNA dell'ospite comuni e loro geni bersaglio in SARS-CoV e SARS-CoV-2. (B) miRNA dell'ospite e i loro geni bersaglio che agiscono in modo univoco sul SARS-CoV o sul SARS-CoV-2. (C) Diagramma di Venn che mostra i miRNA dell'ospite comuni e unici per SARS-CoV e SARS-CoV-2 e miRNA dell'ospite che dalle prove sperimentali agiscono come miRNA antivirali.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7381279/

Analisi di arricchimento e confronto tra target di miRNA host indotti da infezioni SARS-CoV e SARS-CoV-2. (A) Rappresentazione della mappa termica dei percorsi arricchiti coinvolti nella difesa dell'ospite ottenuta utilizzando il software Funrich. (B) Percorsi arricchiti che potrebbero agire come meccanismi provirali ottenuti

utilizzando il software Funrich. Arricchimento di geni target miRNA host downregolati in SARS-CoV e SARS-CoV-2 utilizzando gitools. (C) Modulo GO Processo Biologico. (D) Modulo GO Molecular Function. (E) Moduli di percorso KEGG. Il significato dell'arricchimento in termini di valore p corretto (<0,05) è rappresentato in una scala del valore P codificata a colori per tutte le mappe di calore. Il colore verso il rosso indica un significato più alto e il colore verso il giallo indica meno significato, mentre il grigio significa non significativo. Vengono visualizzati solo i termini arricchiti significativi selezionati.

miRNA ed evazione virale

Qingren et al hanno sviluppato un metodo per identificare potenziali siti sensibili all'RNAi nel genoma di coronavirus umani tra cui il SARS-Cov-2, e hanno scoperto che i ceppi di coronavirus adattati all'uomo hanno perso bersagli sensibili all'RNAi nei loro genomi, con conseguente riduzione del livello di difesa basata sull'RNAi innescata dai miRNA umani. [239]

Pertanto, la pressione selettiva dei miRNA dell'ospite potrebbe essere un fattore critico che limita la gamma dei coronavirus dell'ospite e influisce profondamente sull'evoluzione del coronavirus anche dopo la trasmissione nell'uomo. L'analisi approfondita ha anche convalidato un limite precedentemente sconosciuto nell'energia libera minima (circa −25 kcal / mol che corrisponde a circa 1-2% di abbondanza di CoVT-miRNA- coronavirus targeting miRNA) per il duplex di miRNA::target per indurre un'efficace soppressione mediata dall'RNAi contro coronavirus.

È importante notare che la popolazione di miRNA espressi nel tessuto polmonare è variabile tra gli individui e può essere influenzata da una varietà di fattori tra cui età, sesso, fumo, immunità, infiammazione e altre condizioni patogene [240].
Tale variabilità del CoVT-miRNA nell'ambiente del polmone umano può aiutare a spiegare la suscettibilità apparentemente diversa e le manifestazioni cliniche dei coronavirus tra gli individui [241].
Ulteriori indagini, inclusi esperimenti di genetica inversa, sequenziamento NGS dei miRNA nei pazienti e dei genomi di diversi ceppi di coronavirus possono aiutare a stabilire in modo definitivo i contributi funzionali specifici dei miRNA dell'ospite nel controllo del trofismo dell'ospite e nel processo di infezione.

Gli autori hanno ulteriormente confermato, utilizzando un'analisi filogenetica, che la perdita di siti target sensibili all'RNAi potrebbe essere un fattore importante del processo di salto di specie nell'ospite e le mutazioni adattative che portano alla perdita del bersaglio potrebbero essere delle semplici mutazioni puntiformi.
Infatti, alcuni siti bersaglio sensibili all'RNAi possono essere eliminati da mutazioni come una transizione a singolo nucleotide (cioè interscambio di purine (A ↔ G) o pirimidine (C ↔ U)). Questo tipo di mutazione puntiforme, specialmente se avviene nella regione ibridata alla sequenza "seed" di miRNA, ha il potenziale per abolire l'effetto inibitorio del corrispondente miRNA, come dimostrato sperimentalmente in studi precedenti.[242]

Esaminando il SARS-CoV-2, e confrontando i siti target previsti nel ceppo Wuhan-Hu-1 (il genoma di riferimento per SARS-CoV-2) con RaTG13, il ceppo finora più vicino con un'identità genomica complessiva del 96,1%, è stato possibile

[239] Meng Q, Chu Y, Shao C, et al.
Roles of host small RNAs in the evolution and host tropism of coronaviruses
[published online ahead of print, 2021 Feb 16]. Brief Bioinform. 2021;bbab027. doi:10.1093/bib/bbab027
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7929378/

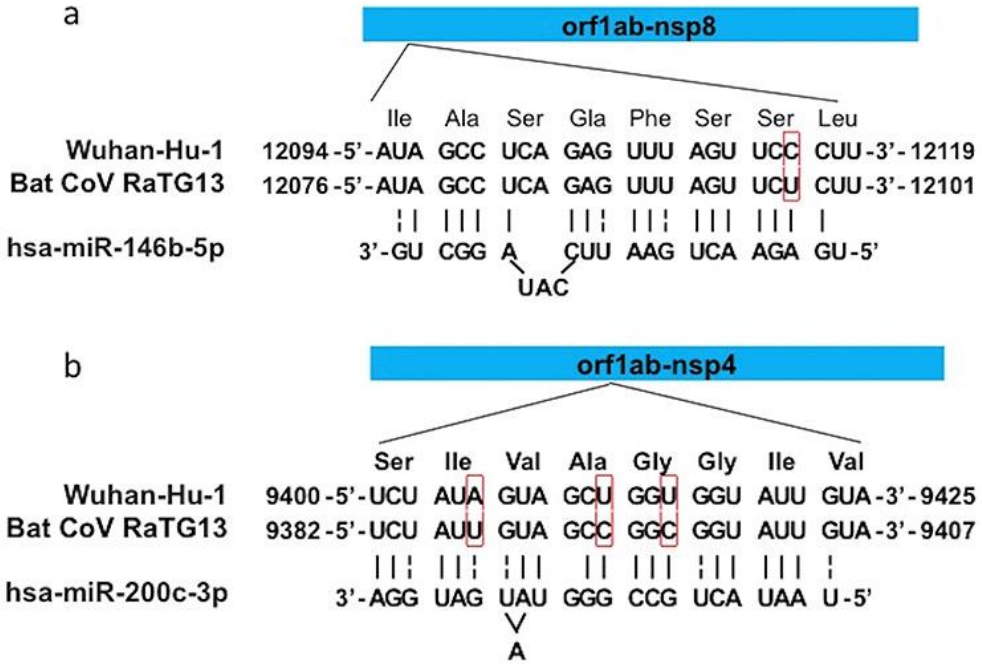
[240] Lee EJ, Baek M, Gusev Y, Brackett DJ, Nuovo GJ, Schmittgen TD.
Systematic evaluation of microRNA processing patterns in tissues, cell lines, and tumors.
RNA. 2008 Jan;14(1):35-42. doi: 10.1261/rna.804508. Epub 2007 Nov 19.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2151027/

Ludwig N, Leidinger P, Becker K, Backes C, Fehlmann T, Pallasch C, Rheinheimer S, Meder B, Stähler C, Meese E, Keller A.
Distribution of miRNA expression across human tissues.
Nucleic Acids Res. 2016 May 5;44(8):3865-77. doi: 10.1093/nar/gkw116. Epub 2016 Feb 25.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4856985/

[241] Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, Qiu Y, Wang J, Liu Y, Wei Y, Xia J, Yu T, Zhang X, Zhang L.
Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study.
Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):507-513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7. Epub 2020 Jan 30. PMID: 32007143;
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7135076/

[242] Sun Y, Zhang Y, Zhang X.
Synonymous SNPs of viral genes facilitate virus to escape host antiviral RNAi immunity.
RNA Biol. 2019 Dec;16(12):1697-1710. doi: 10.1080/15476286.2019.1656026. Epub 2019 Aug 30.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6844561/

identificare un totale di 21 e 23 siti target sui due genomi, con 12 condivisi da entrambi, la maggior parte dei quali sono bersagli di CoVT-miRNA polmonari a bassa abbondanza.
In particolare, i primi due bersagli dei miRNA più abbondanti in RaTG13 sono entrambi assenti dal genoma di Wuhan-Hu-1. La perdita di questi due siti in SARS-CoV-2 ha il potenziale per portare all'evasione del ceppo Wuhan-Hu-1 dall'attacco dell'RNAi innescato dai due abbondanti CoVT-miRNA polmonari umani.
Inoltre, per il sito 1 nel genoma di Wuhan-Hu-1, una singola transizione U → C nel sito di legame del nucleo 7-mer del miRNA determina la perdita prevista del bersaglio. Per il sito 2, due C complementari nel genoma RaTG13 sono sostituite da due U in Wuhan-Hu-1, formando coppie G-U che indeboliscono sostanzialmente le coppie G-C originali. Un'ulteriore trasversione U → A ha abolito una precedente coppia G-U, compromettendo insieme la forza del miRNA::target duplex.



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7929378/
Esempi di mutazioni che portano alla perdita di siti target sensibili all'RNAi. Sito target per miR-146b-5p (Sito 1) (a) e miR-200c-3p (Sito 2) (b) in SARS-CoV-2

Come già discusso, le due evidenze biologiche a sostegno dell'attività antivirale dell'interferenza dell'RNA (RNAi) sono la biogenesi del siRNA virale (v-siRNA) da parte dell'ospite e la codifica della proteina soppressore dell'RNAi da parte del genoma virale. L'esito della malattia, quindi, è l'equilibrio tra queste due forze opposte, vale a dire i fattori dell'RNAi dell'ospite e la controdifesa dei soppressori dell'RNAi virale.

Il genoma dell'RNA di SARS-CoV-2 è lungo circa 30K nt e un genoma di tali dimensioni potrebbe avere il potenziale per codificare più soppressori per rafforzare il suo carattere patogeno. Sebbene le proteine RNAi-soppressore non abbiano alcun motivo generale, un sottoinsieme di queste è caratterizzato da ripetizioni di motivi GW (Glicina-Triptofano) o WG nelle loro sequenze di amminoacidi. Le proteine che hanno tali ripetizioni spesso interagiscono con le proteine AGO2 e le trasportano nei corpi P, bloccando così le funzioni RISC.

Karjee et al [243] hanno cercato questi motivi nei vari ORF del genoma virale SARS-CoV-2. Due ORF si sono distinti per essere trascritti in proteine candidate. L'intera RdRP del virus e l'ORF 1ab contengono rispettivamente tre motivi GW e due WG.
Allo stesso modo, anche la proteina spike ha tre ripetizioni GW. Pertanto, questi ORF potrebbero servire come potenziali soppressori dell'RNAi; tuttavia, questa ipotesi necessita di una convalida sperimentale.

[243] Karjee, S., Mukherjee, S.K.
RNAi suppressor: The hidden weapon of SARS-CoV.
J Biosci 45, 99 (2020). https://doi.org/10.1007/s12038-020-00071-0
https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s12038-020-00071-0.pdf

E' interessante inoltre tenere presente che il dominio C-terminale della proteina N di SARS-CoV-2 ha la regione basica tra i residui da 248 a 280 che forma un solco carico positivamente con una probabile regione di legame per l'RNA [244].
Recentemente, il gruppo di Zhou ha affermato che la proteina N del SARS-CoV-2 possiede attività RNAi-soppressore, impiegando il test di inversione del silenziamento.[245]
La scoperta che la proteina N del SARS-CoV-2 sopprime l'RNAi nelle cellule è coerente con l'osservazione precedente, in cui anche la proteina N del SARS-CoV ha mostrato attività VSR (Viral Suppressor of RNA Silencing) [246], il che implica che l'uso della proteina N come VSR è una strategia comune per i coronavirus per antagonizzare l'RNAi antivirale.
Inoltre, i residui Lys 258 e Lys 262 che si sono dimostrati critici per l'attività VSR di SARS-CoV-N sono stati conservati anche all'interno della proteina N di SARS-CoV-2.

Oltre alla proteina N, uno studio precedente ha rilevato che il SARS-CoV 7a potrebbe sopprimere l'RNAi nelle cellule di mammifero [247], suggerendo che i coronavirus possono antagonizzare l'RNAi codificando più VSR.
Considerando l'elevata omologia delle sequenze amminoacidiche delle proteine 7a tra SARS-CoV-2 e SARS-CoV, è possibile che SARS-CoV-2 7a possa contenere anche l'attività VSR.

La codifica di più VSR può offrire a questi virus patogeni ulteriori vantaggi per un'efficace inibizione dell'RNAi, evidenziando l'importanza dell'RNAi antivirale per le cellule ospiti nella difesa dell'infezione virale.
Come già accennato, la proteina N del coronavirus contiene un'attività di legame dell'RNA aspecifica[248].
Zhou et al hanno infatti scoperto che SARS-CoV-2 N è in grado di associarsi con il dsRNA nelle cellule. Questi risultati, secondo cui SARS-CoV-2-N sopprime l'RNAi sequestrando i dsRNA, sono coerenti con i risultati precedenti in base ai quali la proteina N del coronavirus è direttamente coinvolta nella replicazione dell'RNA virale.[249]
Inoltre, il legame con l'RNA da parte di SARS-CoV-N si è dimostrato critico per il suo antagonismo nell'induzione dell'interferone [250].
Durante il ciclo di vita virale, la proteina N del coronavirus incapsula gli RNA genomici virali per proteggere il genoma e co-entrare nella cellula ospite con gli RNA genomici virali, indicando che N è importante per la replicazione dell'RNA virale, specialmente nella fase di inizio.

---

[244] Chen CY, Chang CK, Chang YW, Sue SC, Bai HI, Riang L, Hsiao CD, Huang TH.
Structure of the SARS coronavirus nucleocapsid protein RNA-binding dimerization domain suggests a mechanism for helical packaging of viral RNA.
J Mol Biol. 2007 May 11;368(4):1075-86. doi: 10.1016/j.jmb.2007.02.069. Epub 2007 Mar 2.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7094638/

[245] Mu J, Xu J, Zhang L, Shu T, Wu D, Huang M, Ren Y, Li X, Geng Q, Xu Y, Qiu Y, Zhou X.
SARS-CoV-2-encoded nucleocapsid protein acts as a viral suppressor of RNA interference in cells.
Sci China Life Sci. 2020 Sep;63(9):1-4. doi: 10.1007/s11427-020-1692-1. Epub 2020 Apr 10.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7154568/pdf/11427_2020_Article_1692.pdf

[246] Cui L, Wang H, Ji Y, Yang J, Xu S, Huang X, Wang Z, Qin L, Tien P, Zhou X, Guo D, Chen Y.
The Nucleocapsid Protein of Coronaviruses Acts as a Viral Suppressor of RNA Silencing in Mammalian Cells.
J Virol. 2015 Sep;89(17):9029-43. doi: 10.1128/JVI.01331-15. Epub 2015 Jun 17.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4524063/

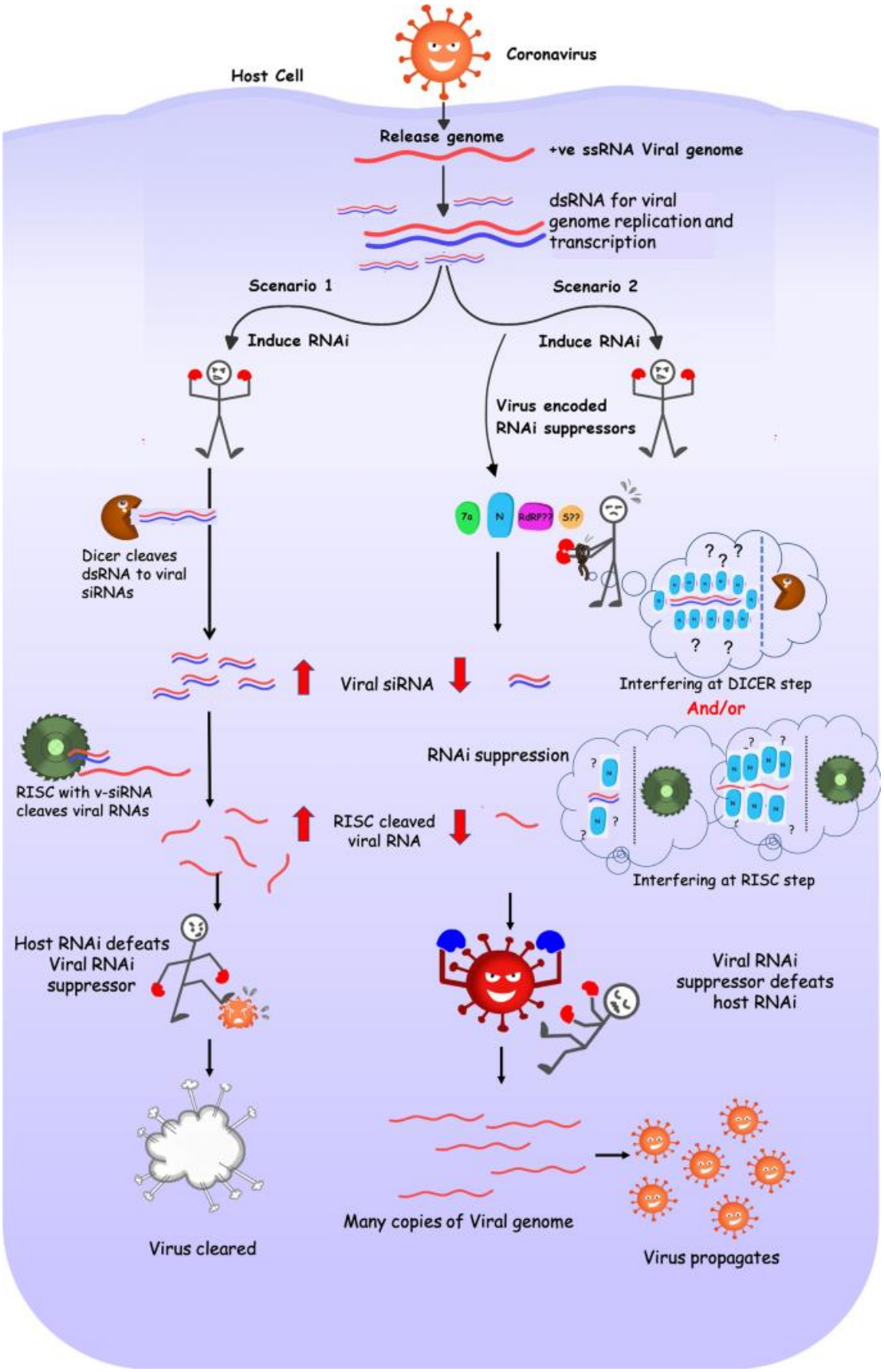
[247] Karjee S, Minhas A, Sood V, Ponia SS, Banerjea AC, Chow VT, Mukherjee SK, Lal SK.
The 7a accessory protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus acts as an RNA silencing suppressor.
J Virol. 2010 Oct;84(19):10395-401. doi: 10.1128/JVI.00748-10. Epub 2010 Jul 14.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2937820/

[248] Takeda M, Chang CK, Ikeya T, Güntert P, Chang YH, Hsu YL, Huang TH, Kainosho M.
Solution structure of the c-terminal dimerization domain of SARS coronavirus nucleocapsid protein solved by the SAIL-NMR method.
J Mol Biol. 2008 Jul 18;380(4):608-22. doi: 10.1016/j.jmb.2007.11.093. Epub 2007 Dec 5.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7094413/

[249] Almazán F, Galán C, Enjuanes L.
The nucleoprotein is required for efficient coronavirus genome replication.
J Virol. 2004 Nov;78(22):12683-8. doi: 10.1128/JVI.78.22.12683-12688.2004.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC525053/

[250] Lu X, Pan J, Tao J, Guo D.
SARS-CoV nucleocapsid protein antagonizes IFN-β response by targeting initial step of IFN-β induction pathway, and its C-terminal region is critical for the antagonism.
Virus Genes. 2011 Feb;42(1):37-45. doi: 10.1007/s11262-010-0544-x. Epub 2010 Oct 26.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7088804/

In sintesi, SARS-CoV-2 può agire come un VSR nelle cellule sia nelle fasi di inizio che in quelle effettrici dell'RNAi, rappresentando quindi probabilmente un fattore chiave di evasione immunitaria del SARS-CoV-2 e contribuendo alla patogenicità di questo nuovo coronavirus.



https://link.springer.com/article/10.1007/s12038-020-00071-0
Rappresentazione schematica dell'esito della malattia con il meccanismo di difesa dell'ospite RNAi e soppressori dell'RNAi della contro difesa virale

miRNA come marcatori del COVID-19

È interessante notare che i miRNA possono essere utilizzati come marcatori per distinguere le forme complicate di polmoniti da COVID-19 dai casi di ARDS da influenza. In uno studio esplorativo Garg et al [251] hanno valutato i livelli alterati di miR cardiovascolari e infiammatori circolanti in pazienti COVID-19 gravi che richiedono ventilazione invasiva per identificare biomarcatori per il danno miocardico e la gravità della malattia.
Il razionale per il disegno di questo studio era l'associazione ben descritta di miR-55 con l'infiammazione, miR-208a e miR-499 con il danno miocardico/cardiomiocitario e miR-21 e miR-126 con i fibroblasti cardiaci e la disfunzione delle cellule endoteliali, rispettivamente. [252]
Ad eccezione di miR-126, tutti i miR erano costantemente sovraregolati nel gruppo COVID-19 rispetto ai controlli sani, sia nella coorte di ricerca che di convalida.
In linea con il quadro clinico della malattia, i miRNA infiammatori, come miR-155 [253] e i miRNA specifici del muscolo cardiaco, chiamati anche *mio-miRNA* come miR-208a [254] e miR-499 [255] erano significativamente sovraregolati nei pazienti COVID-19.
È interessante notare che i livelli alterati di *miR-155* e *miR-499* potrebbero ulteriormente distinguere i gruppi COVID-19 e ARDS da influenza, anche se entrambe le malattie sono fenotipicamente molto simili. I livelli marcatamente elevati di infiammazione miR-155-associati nel COVID-19 potrebbero infatti essere indicativi dell'endotelialite COVID-19-specifica. [256] All'interno del gruppo COVID-19, i pazienti con *miR-208a* e *miR-499* più alti avevano anche livelli più alti di procalcitonina e lattato.
È interessante notare che il *miR-21* [257], associato alla fibrosi, è risultato aumentato nel COVID-19 acuto rispetto ai controlli sani e ai pazienti con ARDS da influenza. La sovraregolazione di miR-21, miR-155, miR-208a e miR-499 nei sopravvissuti al COVID-19 potrebbero quindi essere utilizzati come marcatori predittivi di danno miocardico cronico e infiammazione. E' da notare inoltre che, nonostante i livelli di troponina fossero più alti nel gruppo ARDS da influenza, miR-208a e miR-499 specifici per il miocardio erano più sovraregolati nel COVID-19.

In questo contesto, un recente studio di risonanza magnetica cardiovascolare (CMR) in pazienti recentemente guariti dall'infezione da SARS-CoV-2 ha fornito risultati allarmanti. In 78 pazienti su 100 sono state riscontrate anomalie CMR e 60 pazienti presentavano un'infiammazione miocardica in corso, mentre i livelli di troponina ad alta sensibilità erano

---

[251] Garg A, et al
Circulating cardiovascular microRNAs in critically ill COVID-19 patients.
Eur J Heart Fail. 2021 Jan 9. doi: 10.1002/ejhf.2096.
https://www.zora.uzh.ch/id/eprint/197347/1/document.14.20.pdf

[252] Hartmann D, et al
MicroRNA-Based Therapy of GATA2-Deficient Vascular Disease.
Circulation. 2016 Dec 13;134(24):1973-1990. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.022478.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27780851/

[253] Mahesh G, Biswas R.
MicroRNA-155: A Master Regulator of Inflammation.
J Interferon Cytokine Res. 2019 Jun;39(6):321-330. doi: 10.1089/jir.2018.0155. Epub 2019 Mar 20.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6591773/

[254] van Rooij E, Sutherland LB, Qi X, Richardson JA, Hill J, Olson EN.
Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA.
Science. 2007 Apr 27;316(5824):575-9. doi: 10.1126/science.1139089. Epub 2007 Mar 22.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17379774/

[255] van Rooij E, Quiat D, Johnson BA, et al.
A family of microRNAs encoded by myosin genes governs myosin expression and muscle performance.
Dev Cell. 2009;17(5):662-673. doi:10.1016/j.devcel.2009.10.013
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2796371/

[256] Ackermann M, et al
Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19.
N Engl J Med. 2020 Jul 9;383(2):120-128. doi: 10.1056/NEJMoa2015432. Epub 2020 May 21.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7412750/

[257] van Rooij E, Quiat D, Johnson BA, Sutherland LB, Qi X, Richardson JA, Kelm RJ Jr, Olson EN.
A family of microRNAs encoded by myosin genes governs myosin expression and muscle performance.
Dev Cell. 2009 Nov;17(5):662-73. doi: 10.1016/j.devcel.2009.10.013.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2796371/

aumentati solo nel 5% della coorte, indicando che la troponina non è un indicatore utile dei processi di rimodellamento miocardico nel COVID-19. È importante sottolineare che questi risultati erano indipendenti dalle condizioni preesistenti e dalla gravità e dal decorso generale del COVID-19. [258]

Ciò evidenzia la necessità di biomarcatori facilmente accessibili, come i miRNA circolanti, che possono fornire informazioni predittive sulle potenziali conseguenze cardiovascolari a lungo termine. Nel complesso, gli autori ritengono che il significato di questo studio sia rafforzato dal fatto che i pazienti, sia nel gruppo COVID-19 che nel gruppo Influenza-ARDS, avevano uno spettro simile di malattie cardiache preesistenti prima del ricovero, ma la concentrazione di miRNA era significativamente diversa nell'ARDS grave.
Ciò conferma che, a differenza dell'influenza, che innesca principalmente una risposta polmonare, l'infezione da COVID-19 innesca il coinvolgimento multiorgano con infiammazione, danno delle cellule endoteliali e coinvolgimento cardiaco.

Interferenza genica e vaccini ad acidi nucleici

È importante segnalare che i vaccini ad acidi nucleici geneticamente modificati (vaccini OGM ottenuti mediante l'impiego della tecnologia del DNA ricombinante), ma anche i vaccini che contengono il virus attenuato (in quanto costituito dal materiale genetico del virus intero e funzionante ma con mutazioni acquisite mediante passaggio in coltura o mediante ingegnerizzazione), possono causare interferenza genica con gli altri trascritti presenti nella cellula, e modificare in maniera patologica il suo metabolismo.

Nell'Assessment report del Comirnaty è riportato a pag. 20-21 e 32-33 che
"*L'unica impurità correlata al prodotto trattata è l'RNA a doppio filamento, derivato dalla reazione di trascrizione in vitro. I risultati dei lotti di principi attivi dimostrano che il livello di RNA a doppio filamento è basso, accettabile e coerente.*
Oltre all'RNA a doppio filamento, ci sono RNA troncati*, indicati anche come specie frammentata.*
L'RNA troncato si riflette nella specifica AS (principio attivo) in termini di integrità dell'RNA. Tuttavia, la caratterizzazione di BNT162b2 AS non è attualmente ritenuta completa in relazione a uno specifico parametro.
Ciò è particolarmente importante se si considera che l'attuale AS e i criteri di accettazione del prodotto finito consentono una proporzione di specie frammentate. Il richiedente deve fornire dati aggiuntivi per caratterizzare ulteriormente le specie di mRNA troncato e modificato presenti nel prodotto finito. Devono essere forniti dati rilevanti sulla caratterizzazione di proteine / peptidi per le specie predominanti.
Lo stampo di DNA residuo *è un'impurità correlata al processo derivata dallo stampo di DNA linearizzato aggiunto alla reazione di trascrizione in vitro. Lo stampo di DNA residuo viene misurato come definito nella specifica del principio attivo. I livelli sono controllati da un limite di specifica considerato adeguatamente basso*."
"*(…) Le specie di RNA troncato sono considerate come impurità correlate al prodotto che ci si può aspettare a causa del principio della reazione di trascrizione in vitro (cioè dell'attività della polimerasi direzionale) e dell'idrolisi (teorica) durante la produzione. (…)*
L'azienda non si aspetta che le trascrizioni troncate formulate nel prodotto finito rappresentino un problema di sicurezza o efficacia, poiché a loro avviso non è prevista alcuna espressione di proteine dalle trascrizioni troncate.
Inoltre, gli studi clinici con il materiale del processo 1 non hanno rivelato fino ad oggi importanti problemi di sicurezza.
Si prevede che le specie di RNA BNT162b2 troncate prive del cappuccio 5 'o della coda poli (A) siano rapidamente mirate alla degradazione nel citoplasma o mostrerebbero una diminuzione o una perdita di efficienza di traduzione.
I dati preliminari di caratterizzazione sulle specie di frammenti isolati suggeriscono che le specie di frammenti includono prevalentemente il cappuccio da 5' ma mancano della coda di poli (A), supportando l'ipotesi che la maggior parte dei

[258] Puntmann VO, et al
Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).
JAMA Cardiol. 2020 Nov 1;5(11):1265-1273. doi: 10.1001/jamacardio.2020.3557. Erratum in: JAMA Cardiol. 2020 Nov 1;5(11):1308.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7385689/

Parwani P, Ordovas KG.
Beyond the AJR: "Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)".
AJR Am J Roentgenol. 2020 Dec 23. doi: 10.2214/AJR.20.25140.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33355486/

frammenti deriverebbe da una terminazione prematura nella reazione IVT. Tuttavia, poiché la caratterizzazione complessiva delle specie troncate è ancora limitata, è necessario fornire un'analisi aggiuntiva delle specie troncate, un'ulteriore caratterizzazione delle proteine tradotte, una caratterizzazione aggiuntiva delle impurità legate ai lipidi e delle potenziali specie di RNA lipidico per sostenere che non stanno influenzando le prestazioni cliniche in termini di sicurezza e / o efficacia. L'attuale specifica consente la presenza di un certo livello di specie di mRNA troncato, tuttavia i dati di lotti recenti hanno mostrato livelli di specie troncate al di sotto di tale livello. Finora negli studi clinici non sono stati identificati problemi di sicurezza correlati in soggetti che hanno ricevuto vaccini contenenti fino a un certo livello di specie troncate. Pertanto, l'attuale specifica è considerata accettabile subordinatamente alla presentazione di dati aggiuntivi nel quadro di un obbligo specifico (SO1). (…)
Sulla base dei dati disponibili, la specifica proposta per la sostanza attiva è accettabile rispetto agli attributi scelti per i test di rilascio di routine. Tuttavia, la lunghezza delle code poli (A) nella sostanza attiva BNT162b2 è fondamentale per la stabilità dell'RNA e l'efficienza traslazionale e pertanto dovrebbe essere introdotta nei test di rilascio della sostanza attiva nel quadro di un obbligo specifico (SO2).”

Nel prodotto finito del vaccino Pfizer o Moderna che viene iniettato possono quindi essere presenti le seguenti contaminazioni: *RNA troncati* provenienti dal processo di trascrizione in vitro, non codificanti e privi della coda poliA e *tracce di DNA stampo* linearizzato.
Il produttore ad oggi ipotizza che tali frammenti, per la bassa quantità e per il fatto che non sono in grado di essere tradotti in proteine, non possano avere alcun impatto sulla sicurezza, basandosi sulla valutazione delle reazioni avverse riscontrate durante gli studi clinici.

Sulla base di quanto discusso nella sezione sull’interferenza genica, è plausibile invece che questi frammenti siano in grado d’interagire con il pool di RNA non codificanti e con gli mRNA presenti nel citoplasma e di modificare l’espressione delle proteine cellulari con conseguenze patologiche imprevedibili ma possibili, come l’induzione di tumori, malattie degenerative, autoimmuni/infiammatorie ect.
Non è quindi accettabile la mancanza di dati provenienti da studi specifici sull’espressione genica e proteica post-vaccinale, in quanto la presenza di questo materiale genetico contaminante è un fattore di rischio reale, sul quale era necessario indagare prima di procedere con le vaccinazioni di massa.
Gli studi clinici non sono stati strutturati con lo scopo di indagare l’impatto della vaccinazione sull’espressione genica e proteica, e quindi l’assunto del produttore non è garanzia di sicurezza del prodotto; inoltre, le potenziali reazioni avverse associate a questo tipo di contaminazioni, potrebbero essere a lungo termine e quindi non rilevabili durante uno studio clinico in cui si valuta solo la reattogenicità a breve-medio termine del vaccino.