

I RETROVIRUS UMANI

La famiglia dei **R.** sono ribovirus di forma sferica, provvisti di involucro pericapsidico, il cui genoma è formato da **2 molecole di RNA di polarità positiva**. Le due molecole, **poliadenilate** all'estremo **3'**, sono tenute insieme, a livello delle estremità **5'** in un dimero speculare, a circa un centinaio di nucleotidi **dall'estremità 5'**, la **molecola di RNA** genomico è appaiata con una piccola molecola di RNA di origine cellulare, la cui funzione è quella di funzionare da primer per la trascrittasi inversa, infatti nei retrovirus il processo di replicazione avviene secondo un meccanismo peculiare. **Le molecole di RNA** genomico sono **retro-trascritte**, ad opera di una **DNA-polimerasi RNA-dipendente (trascrittasi inversa)** presente nel virione, in altrettante molecole di **DNA bcatenario (provirus)** che si integrano nel genoma cellulare dell'ospite, da dove vengono poi trascritte ad opera della **RNA-polimerasi** della cellula. Il genoma dei R. contiene almeno 3 geni, necessari e sufficienti alla replicazione completa, con la formazione di progenie virale. I tre geni si susseguono, dall'estremo **5'**, nella sequenza: **gag, pol ed env**. Il **gene gag** codifica le proteine strutturali del core (capsidiche e nucleo-capsidiche) virale, il **gene pol** codifica le proteine enzimatiche (trascrittasi inversa, proteasi, endonucleasi/integrasi) virale ed il **gene env** codifica le proteine che, una volta glicosilate, formano le glicoproteine virus-specifiche dell'envelope pericapsidico virale. La famiglia R. è divisa in tre sottofamiglie: **oncovirinae, lentivirinae e spumavirinae**. **Gli oncovirus** comprendono i retrovirus dotati di potere oncogeno a loro volta divisibili in oncovirus esogeni ed endogeni. **I lentivirus**, comprendono retrovirus che provocano un lungo periodo di incubazione spesso in grado di infettare le cellule linfonodi preposte alla risposta immune. I **retrovirus** patogeni per l'uomo sono rappresentati dal virus responsabile **della sindrome dell'immunodeficienza acquisita (AIDS)**, rappresentati dai virus denominati **HIV**, rispettivamente **di tipo 1 e di tipo 2**.

Il genoma di HIV

Il genoma di HIV oltre ai geni (gag, pol, env) comprende almeno altre 6 geni i cui prodotti hanno funzione regolatorie/accessorie nel ciclo di replicazione virale.

Le proteine strutturali ed enzimatiche ed il loro assemblaggio nel virione.

I geni **gag-pol** sono co-tradotti inizialmente in una **poliproteina** che viene poi scissa in una proteina di **55 kd o p55**, e negli enzimi virus specifici: **proteasi, trascrittasi inversa, ed endonucleasi/integrasi**. La **proteina p55**, a sua volta, viene scissa in una proteina di **17kd (p17)**, legandosi alla faccia interna della zona di membrana cellulare da cui deriverà il peplos virale, rappresentata la **matrice virale (MA)**, in una proteina di **24 kd (p24)** che forma l'involucro del core ed uno degli antigeni virali più rappresentativi, ed in una proteina di **9kd (p9)** che si lega alle **molecole di RNA**. Il **gene env** è tradotto inizialmente in una **poliproteina (p88)** che viene glicosilata e scissa nelle **2 glicoproteine gp41 e gp120**, di cui la prima è inserita attraverso l'involucro lipidico pericapsidico, mentre l'altra **gp120** è ancorata con la porzione COOH- all'estremo NH2 terminale di **gp41**, è esposta alla superficie del virione.

Le proteine regolatrici ed accessorie

Il genoma di HIV contiene altre 6 sequenze codificatrici che danno luogo ad altrettante proteine con funzione regolatrice nel ciclo di replicazione virale.

- La **proteina Tat** è una proteina che una volta sintetizzata, rientra nel nucleo cellulare e funziona da transattivatore della trascrizione del genoma provirale. Non solo sembra favorire il reclutamento di fattori trascrizionali attivati a livello del promotore provirale, ma lega anche alcuni adattatori trascrizionali.

- **La proteina Rev** rientra nel nucleo ed interagendo con specifiche sequenze presenti nella regione env degli RNA-messaggeri, li protegge dalla elaborazione (splicing), consentendo l'esportazione dal nucleo degli RNA di maggiori dimensioni e bloccando, la produzione degli RNA-mess multi-spliced e, di conseguenza, la sintesi della gran parte delle stesse proteine regolatrici.
- **La proteina Nef** agisce legandosi alle molecole di CD4 e HLA-I di cui facilita il trasporto verso i lisosomi, favorendone la degradazione.
- **La proteina Vif**, è una proteina che viene incorporata nel virione di cui favorisce l'infettività e sembra avere una funzione durante l'assemblaggio del core virale.
- **La proteina Vpr**: sembra avere un ruolo importante nel favorire il trasporto intranucleare del complesso nucleoproteico.

Il ciclo replicativo di HIV

Il principale recettore cellulare specifico per **HIV**, molecola **CD4** che è presente alla superficie dei **linfociti T-helper** e che funziona da ligando specifico per le molecole di MHC di classe II. La molecola CD4, è presente anche alla superficie dei monociti presenti nel sangue circolante, nei macrofagi tissutali, nelle cellule dendritiche follicolari dei linfonodi. I linfociti **TH-CD4+** ed altre **cellule CD4+** rappresentano le principali popolazioni cellulari sensibili all'infezione da **HIV**. Non c'è dubbio che **CD4** sia il recettore fondamentale, per il quale la glicoproteina **gp120** presenta l'envelope virale e, presenta un'elevatissima affinità. È necessaria comunque, insieme a **CD4**, la presenza di co-recettori, per consentire l'infezione. In particolare, alla superficie dei macrofagi, il corecettore è rappresentato dalla molecola **CCR5**, e la sua presenza è essenziale per l'infettività degli stipiti **macrofagotropi**. Gli stipiti di **HIV1 linfotropi**, invece, utilizzano come co-recettori la molecola di superficie CXCR4, che è recettore per la **chemochinina SDF-1**. La contemporanea interazione tra gp120, da un lato, e **CD4 ad un co-recettore**, dall'altro, provoca una serie di alterazioni conformazionali nelle glicoproteina dell'antirecettore, che si traduce nella fusione **dell'envelope virale** con la membrana della cellula e la liberazione nel citoplasma cellulare del nucleo-capside virale. A questo punto, si verifica la **retrotrascrizione** del genoma virale nel DNA provirale a l'integrazione del **provirus** nel genoma della cellula. Il genoma provirale integrato, contiene, una serie di siti in grado di legare numerosi **fattori trascrizionali** cellulari attivati, consentendo così l'attacco della RNA-polimerasi II cellulare e l'avvio del processo trascrittivo. All'inizio del processo trascrittivo, vengono esportati nel citoplasma solo gli RNA-messaggeri (**multi-spiced**) di piccole dimensioni delle proteine regolatrici (**soprattutto Tat e Rev**). **Tat** aumenta notevolmente il ritmo di trascrizione e la produzione di molecole di RNA di dimensioni maggiori. Quando si è prodotta una quantità sufficiente di **Rev**, si ha il blocco dei processi di **multi-splicing** (con il blocco della sintesi delle proteine regolatrici stesse) e l'esportazione citoplasmatica **degli RNA-genomici** e degli RNA-mess per le poli-proteine **strutturali/enzimatiche** che, si assemblano nel virione che acquisisce l'involucro pericapsidico e viene esportato nell'ambiente extracellulare, per gemmazione dalla superficie cellulare.

Gli antigeni di HIV

Tutte le proteine, strutturali e non, che si producono nel corso della replicazione di HIV, sono antigeniche ed in grado di stimolare una risposta immune. Le proteine strutturali più rilevanti, sono rappresentate dalle glicoproteina di superficie **gp120 e gp41** nonché dai relativi precursori **p55 e gp160**. Gli anticorpi dotati di potere neutralizzante sono, ovviamente, quelli diretti nei confronti dell'antirecettore virale gp120, la cui efficacia è però grandemente pregiudicata dalla notevole ipervariabilità gnomica di **HIV** proprio a livello del gene **env** con la produzione di varianti in numero notevole ed in grado di sfuggire all'azione degli **anticorpi anti-gp120** preesistenti.

Patogenesi dell'AIDS

L' infezione da **HIV1** rappresenta la tappa iniziale di un processo che, si traduce in un periodo di tempo variabile da **7-10 anni**. L'infezione è sempre la conseguenza della trasmissione di tracce, anche inavvertite , di sangue o altri liquidi biologici, da un soggetto infetto ad un soggetto sano, attraverso rapporti sessuali o per via parenterale. L'infezione si trasmette anche dalla madre infetta al feto, per via trans-placentare o per successivo allattamento. L'infezione primaria può essere asintomatica o, più frequentemente, dopo un periodo di incubazione di **3-6 settimane** si traduce in malattia acuta, febbrile, senza una sintomatologia patognomonica che si esaurisce spontaneamente nel giro di alcuni giorni. L'infezione primaria si accompagna ad un elevato titolo di virus nel sangue periferico e nel giro di una settimana si produce una intensa risposta immunitaria che provoca la scomparsa o, una notevole riduzione della viremia, mentre il virus viene sequestrato negli organi linfoidi soprattutto all'interno delle **cellule dendritiche follicolari**. Inizia così la fase di latenza clinica che può durare diversi anni. Alla latenza clinica, però non corrisponde una latenza virale completa. In un certo numero di cellule, soprattutto a livello dei linfonodi, si osserva una continua replicazione virale. I soggetti infetti da **HIV1** , presentano un **progressivo calo** del numero di **CD4+** circolanti. Quando la proliferazione virale a livello linfonodale raggiunge valori critici, cominciano ad essere presenti anche i primi sintomi morbosi. La sintomatologia inizia in genere con la comparsa di una linfadenopatia persistente che caratterizza il cosiddetto **stadio LAS**. Subito dopo inizia il cosiddetto **stadio ARC**, caratterizzato da calo ponderale, febbre , diarrea ed astenia, che si accompagna ad una ulteriore netta diminuzione del numero dei linfociti T-helper circolanti, con anemia ed altre emocitopenie periferiche, **ipergammaglobulinemia**. In coincidenza , in genere, con la diminuzione dei linfociti **T-helper** al di sotto dei **3-400/mm³** inizia la fase di **AIDS** conclamata in cui il virus, non più contenuto dalla reazione linfonodale, è presente massicciamente nel sangue, mentre la sintomatologia descritta in precedenza si complica con l'insorgenza di infezioni, in gran parte da microrganismi opportunisti e da virus che evolvono con inusitata gravità, in molti casi associata alla comparsa di affezioni neoplastiche (**es. sarcoma di Kaposi**). La compromissione delle capacità di risposta immune (immunodeficienza) è l'aspetto patogenico più rilevante la responsabilità delle gravi e incontrollabili infezioni microbiche e virali. Tale compromissione, a sua volta, trova il suo momento patogenetico fondamentale nella notevole riduzione del numero dei **linfociti T-helper**. Pur essendo i linfociti T4 uno dei bersagli principali dell'infezione **da HIV1**, il numero **di T4** infetti da virus non supera mai il **20-30 %** della popolazione totale e non è, quindi, facile comprendere come si arrivi ad una loro pressoché totale distruzione. Tra i diversi meccanismi proposti per spiegare la distruzione della popolazione linfocitaria **T4**, una buona evidenza sperimentale è a favore della possibilità che linfociti T4 non-infetti siano reclutati, in conseguenza dell'induzione della morte cellulare programmata attraverso l'innescamento di segnali cellulari conseguenti alla interazione fra **glicoproteina gp120** , liberata in gran quantità dalle cellule infette da HIV1, e la membrana delle cellule circostanti, **CD4-positive**. Oltre alla gp120, anche la proteina transattivante **Tat**, liberata nell'ambiente, inducendo **apoptosi**, e liberazione di **citochine** in modo abnorme e provocando quindi una disgregazione dei **sistemi omeostatici** che controllano la proliferazione e la differenziazione cellulare nonché i rapporti tra i diversi compartimenti cellulari. Gli stessi meccanismi sembrano responsabili della compromissione della vitalità e della capacità di differenziamento delle cellule ematopoietiche progenitrici, delle varie **emocitopenie periferiche**. Senza dimenticare le lesioni del sistema nervoso.

La diagnosi di laboratorio

La sieropositività , ovvero la mera rilevanza della presenza di anticorpi specifici per HIV nel siero di un individuo, consente di porre inequivocabilmente la diagnosi di infezione in atto. La ricerca di anticorpi si esegue mediante **reazioni immunoenzimatiche** nei confronti di peptici

sintetici che riproducono gli epitomi antigenici più significativi delle principali proteine strutturali dei virus HIV1-HIV2. La ricerca di anticorpi presenta però precisi limiti:

- 1) nella fase iniziale dell'infezione nella quale la quantità di anticorpi circolanti non è ancora sufficiente ad essere evidenziata dalle tecniche di rilevanza disponibili
- 2) nei neonati da madri infette da **HIV**, i quali possiedono **anticorpi sierici anti-HIV** materna
- 3) in quella percentuale di soggetti infetti in cui i risultati delle indagini sierologiche possono dare risultati di dubbia positività (i cosiddetti **borderline**) che propongono una difficile interpretazione.

La **ricerca di HIV** può essere condotta mediante isolamento del virus in coltura allestendo co-culture di cellule mononucleate del sangue periferico del soggetto in esame con cellule mononucleate del sangue periferico di donatori normali, in presenza di idonei fattori in grado di stimolare l'attivazione cellulare, e monitorando periodicamente la comparsa di antigeni virus-specifici **p24**, è una tecnica che chiede tempi relativamente lunghi.