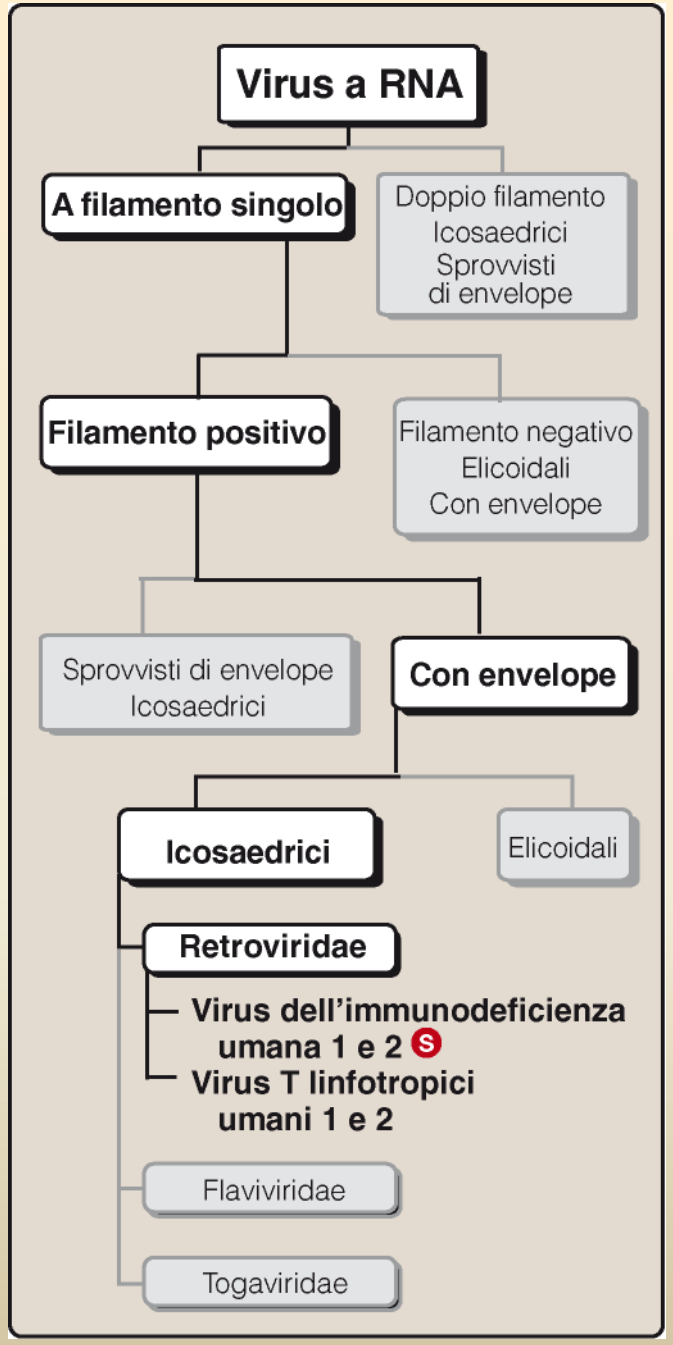


Retroviridae

Sono probabilmente il gruppo di virus più studiato in biologia molecolare.

1970- Baltimore e Temin dimostrano che codificano una DNA pol RNA dip (RT): premio Nobel

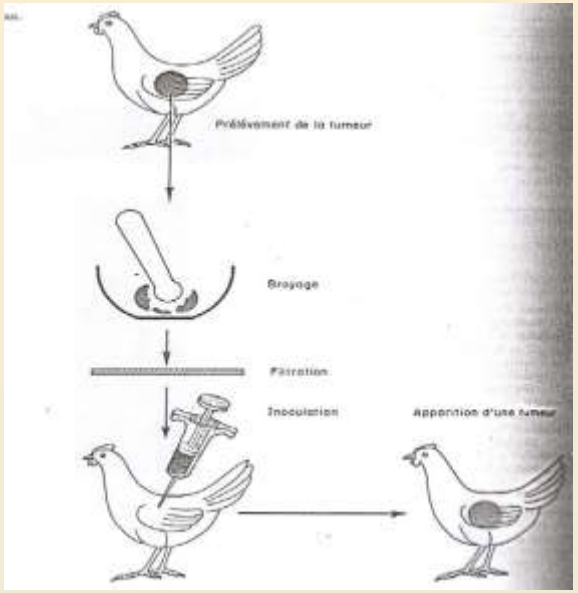
Questa scoperta contraddiceva il DOGMA centrale della biologia (DNA → RNA → proteine)

Definiti Retrovirus per questo motivo

Retroviridae

In realtà scoperti agli inizi del'900, come agenti filtrabili in grado di provocare anemie in cavalli, leucemie e sarcomi nei polli, adenocarcinomi mammari nei topi.

Il primo retrovirus ad essere isolato fu il virus del sarcoma di Rous (tumori solidi nei polli).



Nel 1975 individuati geni trasformanti v-onc (oncogeni) nonché le sequenze cellulari c-onc (proto-oncogeni) da cui tali geni derivano.

Grande famiglia, dalle proprietà patogenetiche estremamente varie:

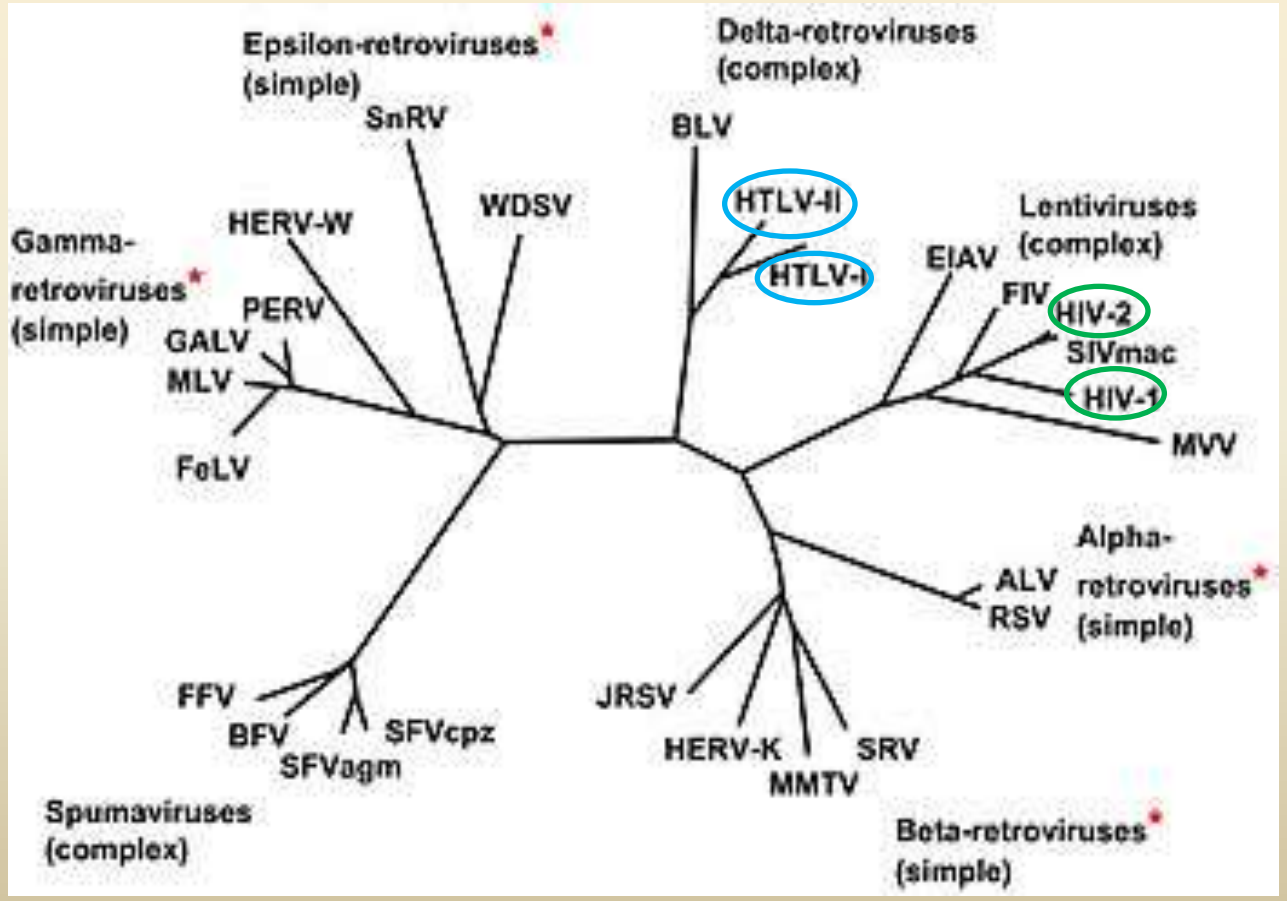
- **tumori rapidi ed aggressivi**
- **tumori con lunga latenza**
- **malattie neurologiche**
- **immunodeficienze**
- **infezioni asintomatiche.**

Retroviridae: classificazione

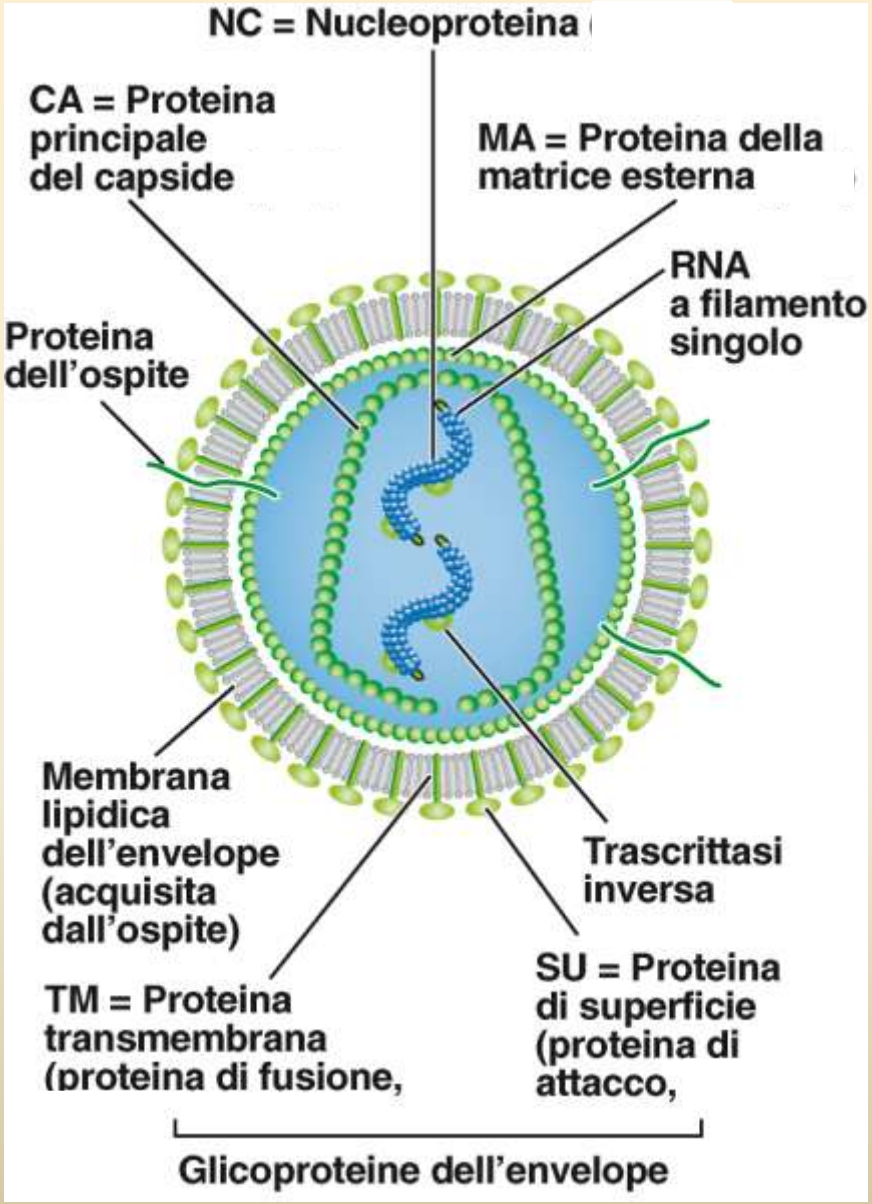
Comprendono 7 generi:

Alpha-retrovirus **(specie *Avian leukosis virus, Rous sarcoma virus*); *Beta-retrovirus*** **(specie *Mouse mammary tumour virus*); *Gamma-retrovirus*** **(specie *Murine leukemia virus*, *Feline leukemia virus*); *Delta-retrovirus*** **(specie *Bovine leukemia virus*, *HTLV*); *Epsilon-retrovirus*** **(specie *Walleye dermal sarcoma virus*); *Lentivirus*** **(specie *HIV-1*, *SIV, FIV*); *Spumavirus*** **(specie *Simian foamy virus*).**

Precedentemente suddivisi in **3 sottofamiglie** (*Oncovirinae*, *Lentivirinae*, e *Spumavirinae*), ma con le conoscenze attuali questa classificazione non è più appropriata (il termine ***oncovirus*** però è ancora comunemente usato).



Retroviridae: virione



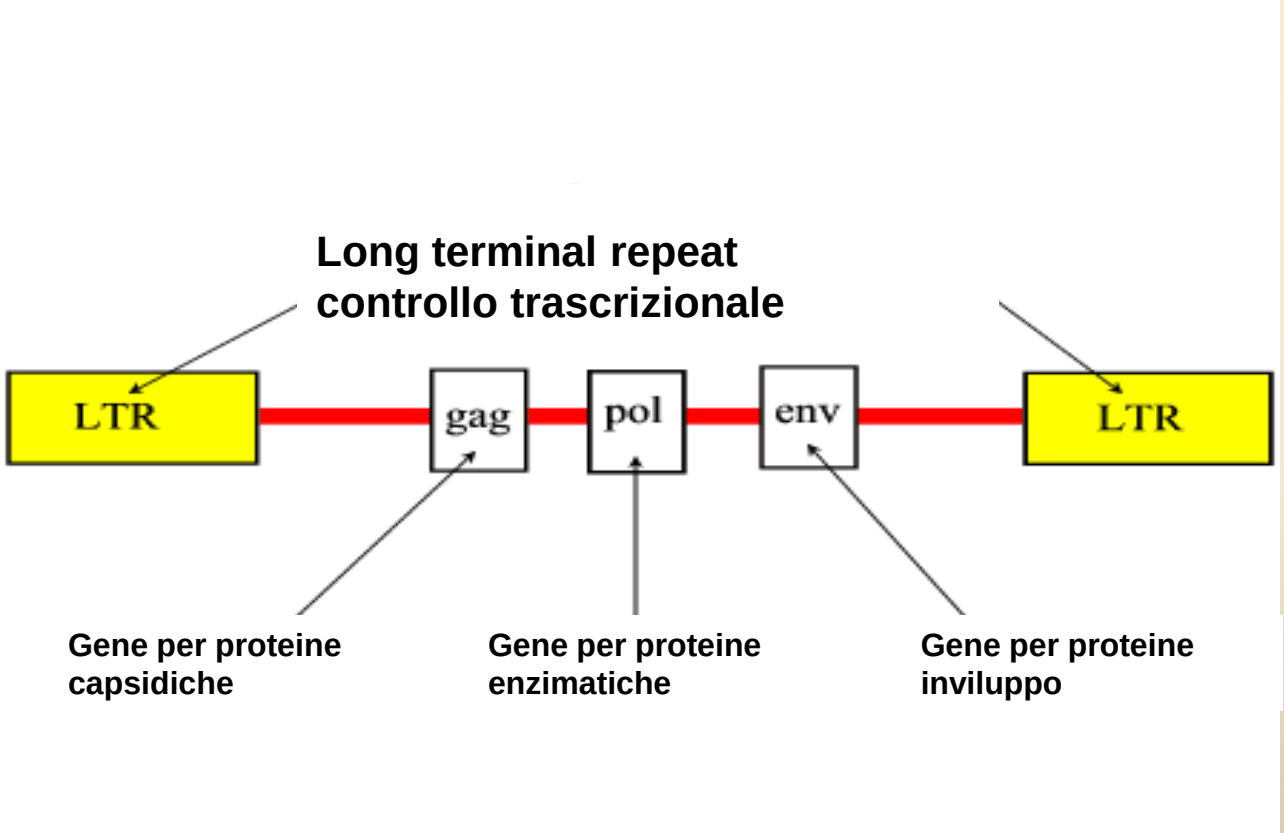
Virione: capside simmetria icosaedrica a forma tronco-conica, con envelope (80-150 nm ∅).

Genoma: 2 copie di ssRNA(+), di circa 9 kb.

Associate all'RNA genomico ci sono: RT, proteasi e integrasi.

Retroviridae: genoma

3 geni sono sempre presenti: gag (proteine strutturali interne: MA, CA, NC), pol (proteasi, RT, integrasi) e env (proteine dell'inviluppo: SU, TM). Possono essere presenti anche altri geni con funzioni di regolazione.



Geni Retroviridae:

I retrovirus semplici hanno i geni in (1)
Quelli complessi hanno anche i geni in (2)

	Gene	Proteina	Funzione
1	***gag***	Matrice (**MA**) Capside (**CA**) Nucleocapside (**NC**)	Ag di gruppo (*Group AntiGen*), codifica una poliproteina che è processata per formare le proteine strutturali interne all'inviluppo
	pol	Proteasi Trascrittasi inversa (**RT**) Integrasi	Taglio proteolitico della proteine Gag/Pol Trascrive l'RNA virale in DNA a doppia elica. Ha bassa fedeltà ⇒alto tasso di mutazioni del virus. Ha attività di RNasi ⇒ distrugge l'RNA stampo Integrazione del DNA virale nel genoma cellulare
	env	Superficie (**SU**) Transmembrana (**TM**)	Si lega al recettore cellulare Consente la fusione con la membrana cellulare
2	***tat*** **(HIV)** ***tax*** **(HTLV)**	Tat Tax	Transattivatori. Attivano la trascrizione del DNA virale ed anche di geni cellulari
	rev **(HIV)** ***rex*** **(HTLV)**	Rev Rex	Facilitano il trasporto dell'mRNA virale non spliced fuori dal nucleo per essere tradotto (gli mRNA non spliced codificano proteine strutturali ma hanno difficoltà a lasciare il nucleo)

Retroviridae: struttura genoma

Ai due estremi dell'RNA c'è una sequenza di basi ripetuta (R) che fiancheggia sequenze uniche sia all'estremo 5` (U5) che all'estremo 3` (U3).

U5 e U3 sono retrotrascritti 2 volte → il provirus è più lungo del genoma virale. U3+R+U5 = LTR (Long Terminal Repeat) → contiene i segnali per l'inizio e la trascrizione degli mRNA.

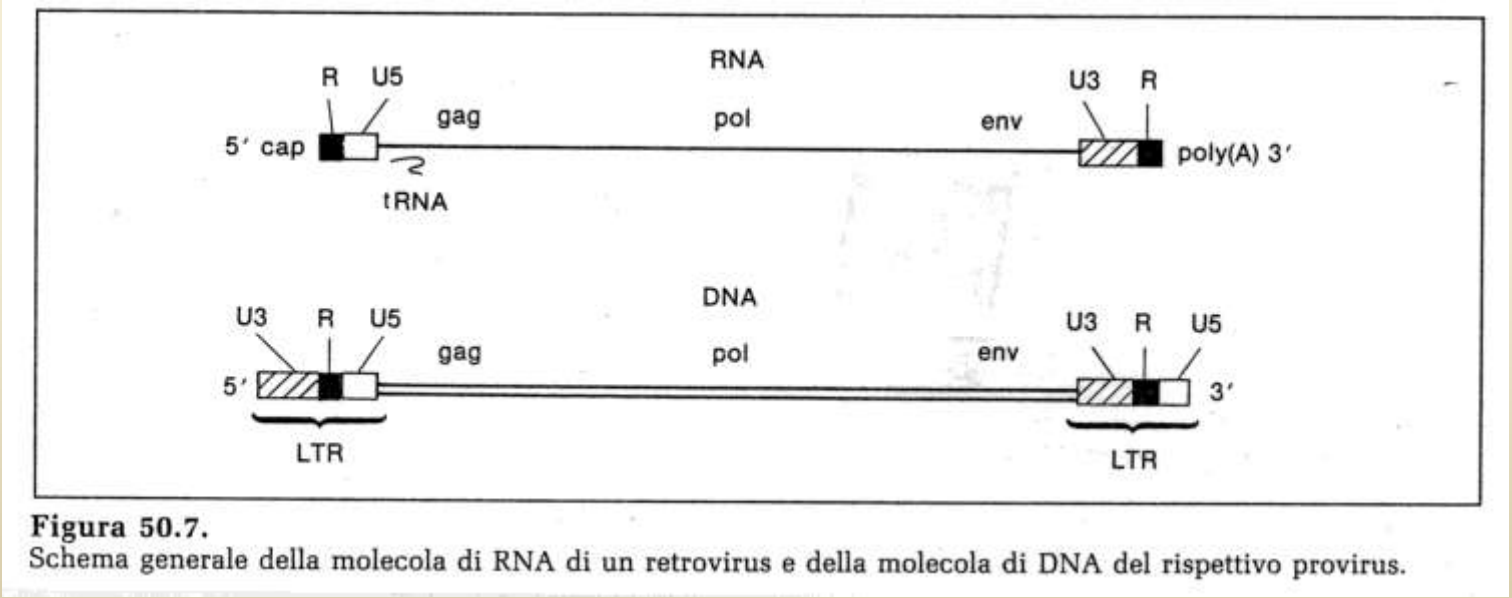


Figura 50.7.
Schema generale della molecola di RNA di un retrovirus e della molecola di DNA del rispettivo provirus.

Retrovirus: trascrizione inversa

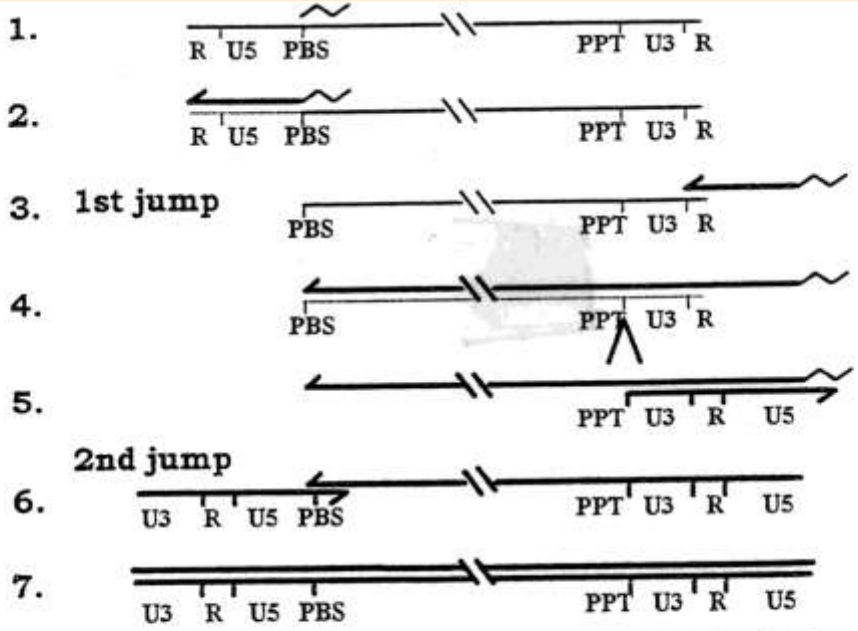


FIG. 2. Simplified illustration of reverse transcription. Each virion contains two complete genomic RNAs but, for simplicity, only one RNA shown (thin lines). The RNase H activity of reverse transcriptase degrades the template RNA (dotted lines) after synthesis of DNA (thick lines). Two template jumps, labeled 1st jump and 2nd jump, are required for completion of viral DNA synthesis. Details of steps 1 through 7 are described in text.

1 - RT è associata a un tRNA-primer in 5' al *primer binding site* (PBS)

2 - Inizia la retrotra-scrizione, si forma un corto pezzo di DNA(-) (U5-R); L'attività RNAsica di RT degrada l'RNA

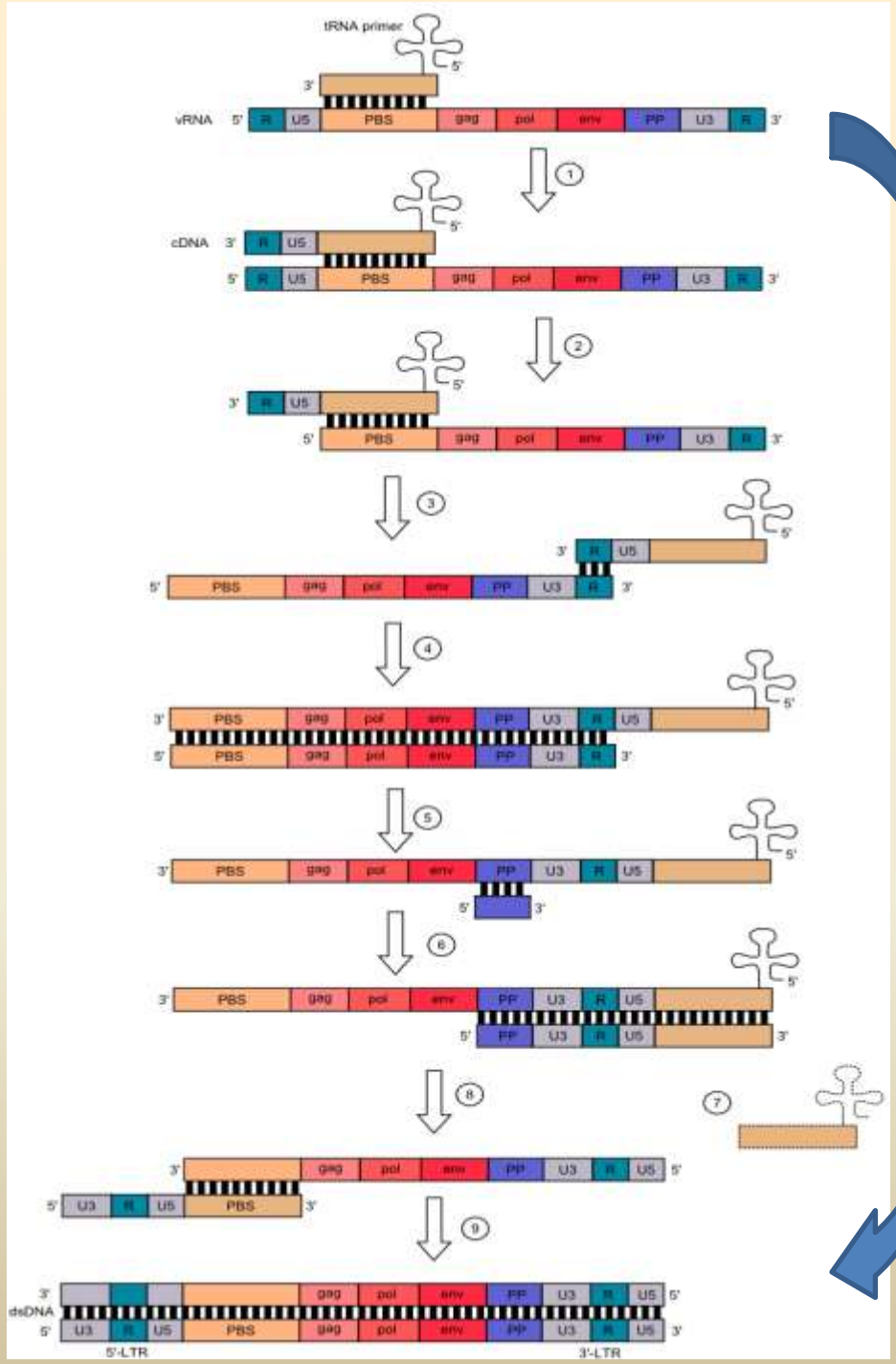
3 - RT salta al 3', l'elica di neosintesi ibrida alle sequenze complementari R

4 - Continua la sintesi del DNA(-): fino a PBS

5 - Inizia la sintesi di DNA(+): comincia a partire da una zona ricca in purine (PPT). La sintesi si ferma in 3'

6 - RT salta di nuovo, il corto DNA(+) ibrida con il PBS in 5'

7 - Continua la sintesi di DNA in entrambe le direzioni. Risultato: raddoppio U3 e U5 e formazione LTR complete ad entrambe le terminazioni.



Retrovirus: trascrizione inversa

Retrovirus: ciclo replicativo

Modalità replicative peculiari.

Nonostante la polarità, l'RNA genomico non funziona da messaggero, ma viene *retrotrascritto* dalla trascrittasi inversa (associata al virione) in una molecola complementare di DNA, da cui la RNA pol cellulare sintetizza i messaggeri virali.

Retrovirus: ciclo replicativo

1. Legame VAP (gp)-Recettore
2. Fusione pericapside con membrana.
3. Penetrazione e Uncoating parziale
4. ssRNA → RT → dsDNA con LTR alle estremità (provirus)
5. DNA entra nel nucleo e si integra, per azione dell'integrasi (gene pol)
6. DNA trascritto dalla RNA pol cellulare
7. 2 specie RNA: spliced (codifica *env* e geni regolatori) e non-spliced (intero, nuovo genoma o poliproteina *gag/pol*)

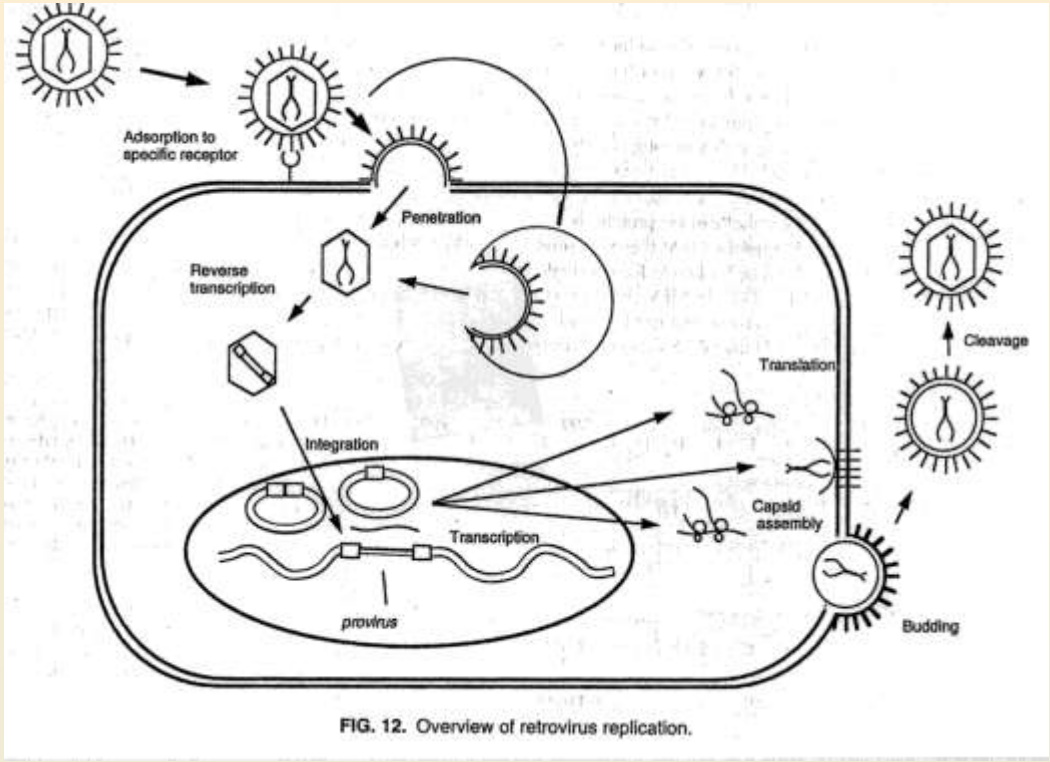
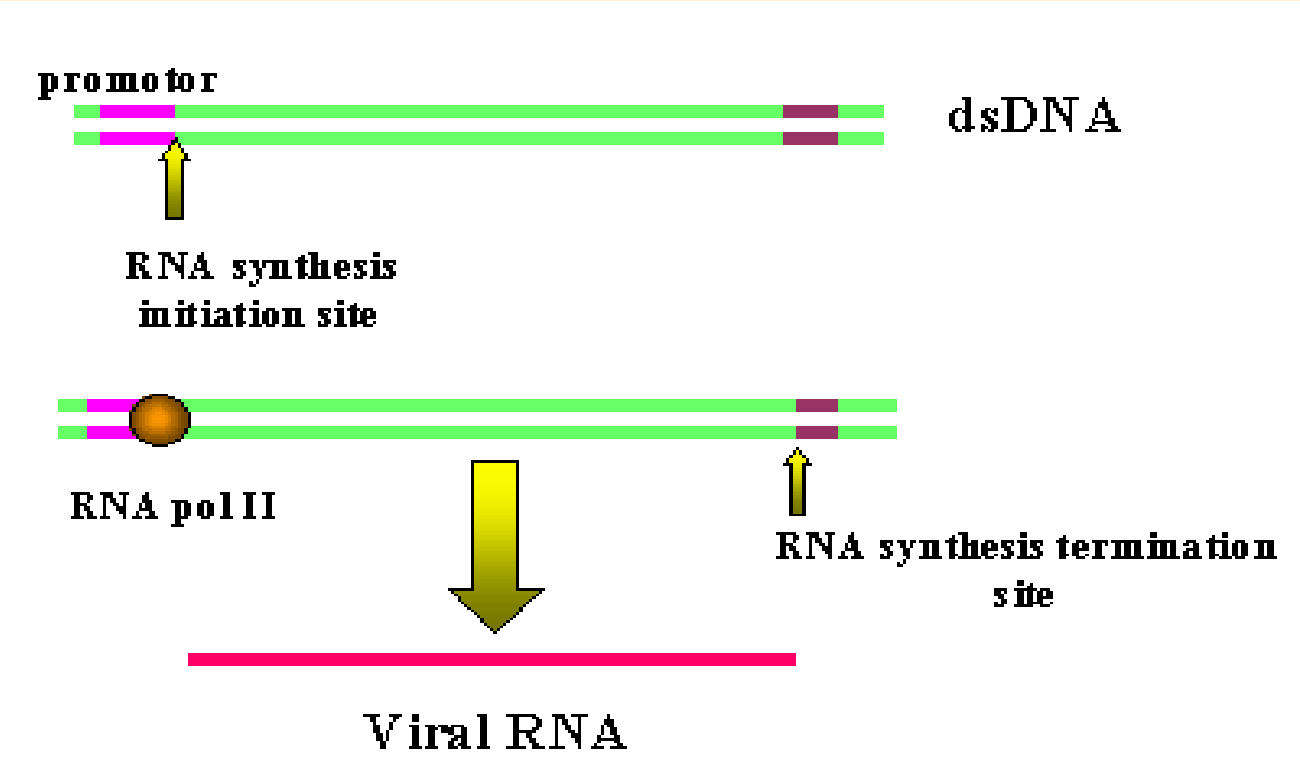


FIG. 12. Overview of retrovirus replication.

8. Le 2 proteine di membrana, codificate da *env*, attraverso RE e Golgi si inseriscono nella membrana cellulare: SU (riconosce il recettore) e TM (responsabile della fusione).
9. Taglio proteolitico delle proteine capsidiche (CA, MA, NC).
10. Le proteine capsidiche, codificate da *gag*, si assemblano attorno a genoma, RT e integrasi
11. Gemmazione attraverso la membrana, senza lisi o con lisi (soprattutto lentivirus)

Retrovirus: trascrizione



La trascrizione del DNA provirale a RNA genomico risulta nella perdita dell'LTR completa, in quanto i siti di inizio e fine riconosciuti dalla RNApol cellulare sono INTERNI alla regione R.

Retrovirus Oncogeni

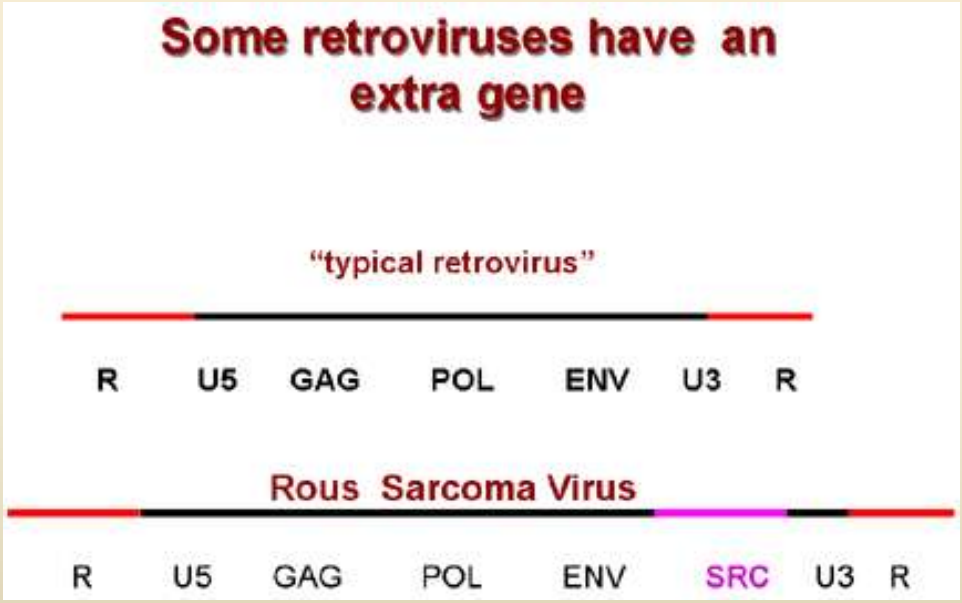
α, β, γ, δ, ε-retrovirus

Es: ***Rous sarcoma virus,***
Mouse mammary tumour virus,
Murine leukemia virus,
Feline leukemia virus,
Bovine leukemia virus,
HTLV,
ecc.

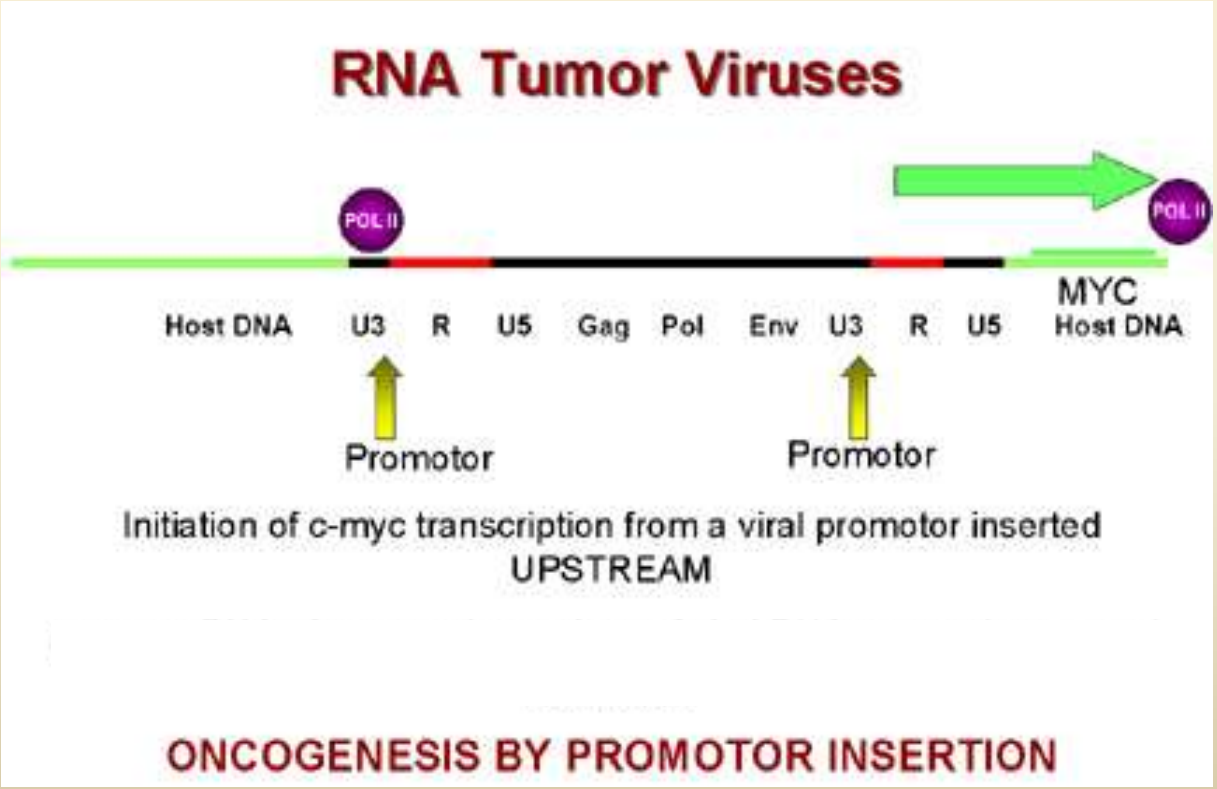
Retrovirus Oncogeni

Isolati e studiati in numerose specie animali, in cui possono provocare sia patologie neoplastiche (leucemie, linfomi, sarcomi, ecc) che non neoplastiche (glomerulonefriti, immunodepressioni, ecc.).

Alcuni di loro danno patologie neoplastiche ACUTE (con breve latenza): la loro azione oncogena è dovuta alla presenza nel loro genoma dei *v-onc*, mutati rispetto ai *c-onc* (geni che regolano lo sviluppo embrionale ed il differenziamento) → introduzione nella cellula di oncogeni sotto il controllo virale → maggiore attività.
Virus animali.
(NB-Nella cellula normale molti *c-onc* sono controllati da geni oncosoppressori (es. p53 e Rb).



Altri retrovirus invece danno patologie CRONICHE (con lunga latenza) e non possiedono *v-onc*. Il loro effetto oncogeno si esplica perché attivano un *c-onc*: o per mutagenesi inserzionale (si integrano vicino a un *c-onc*, che stimolano), o a distanza, mediante transattivatori, o per altre cause (es. possibili ricombinazioni con retrovirus endogeni).



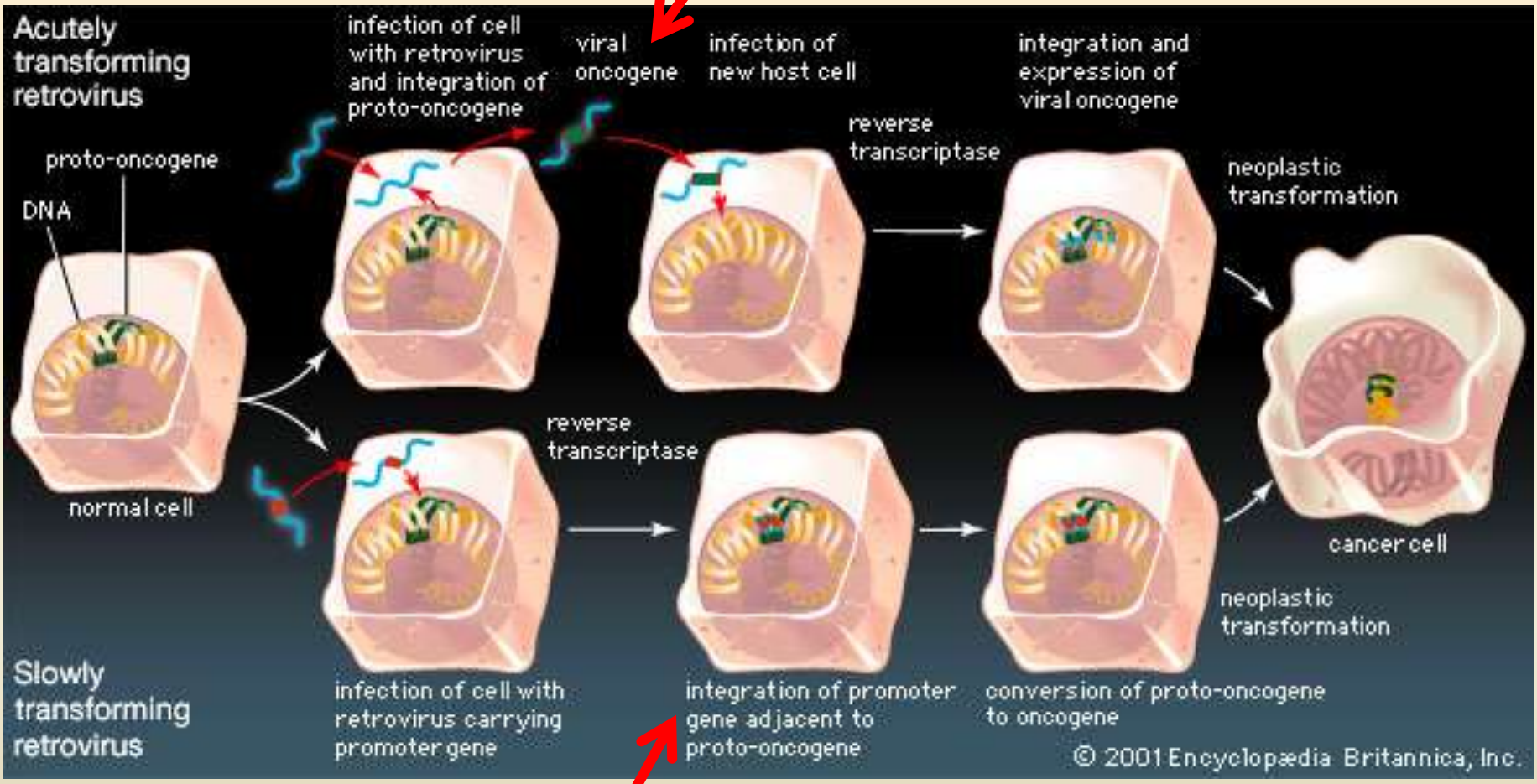
Retrovirus Oncogeni: patogenesi

1. **Alcuni retrovirus hanno acquisito un *onc* (per trasduzione?): *v-onc* → stato di "attivazione" (sotto LTR) in cellule infettate → trasformazione.**
2. **Altri non hanno *v-onc*, ma possono attivare *c-onc* cellulari. Tutte le cellule dei vertebrati hanno dei geni *c-onc*. I *c-onc* hanno la funzione di promuovere la moltiplicazione ed il differenziamento cellulari durante lo sviluppo. Hanno una attività bassa o assente nei tessuti già differenziati.**

Prodotti di *oncogeni*:

- **Fattori di crescita**
- **Recettori per fattori di crescita**
- **Protein chinasi di membrana**
- **Fattori nucleari per l'espressione di proteine**
- **Inibitori dell'apoptosi**
- **Recettori ormonali**

1. Acquisizione di v-onc



2. Attivazione di c-onc

Retrovirus umani

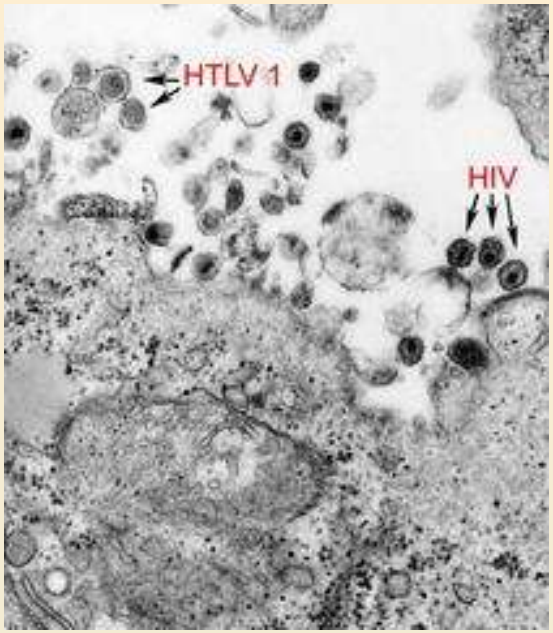
4 retrovirus infettano l'uomo:

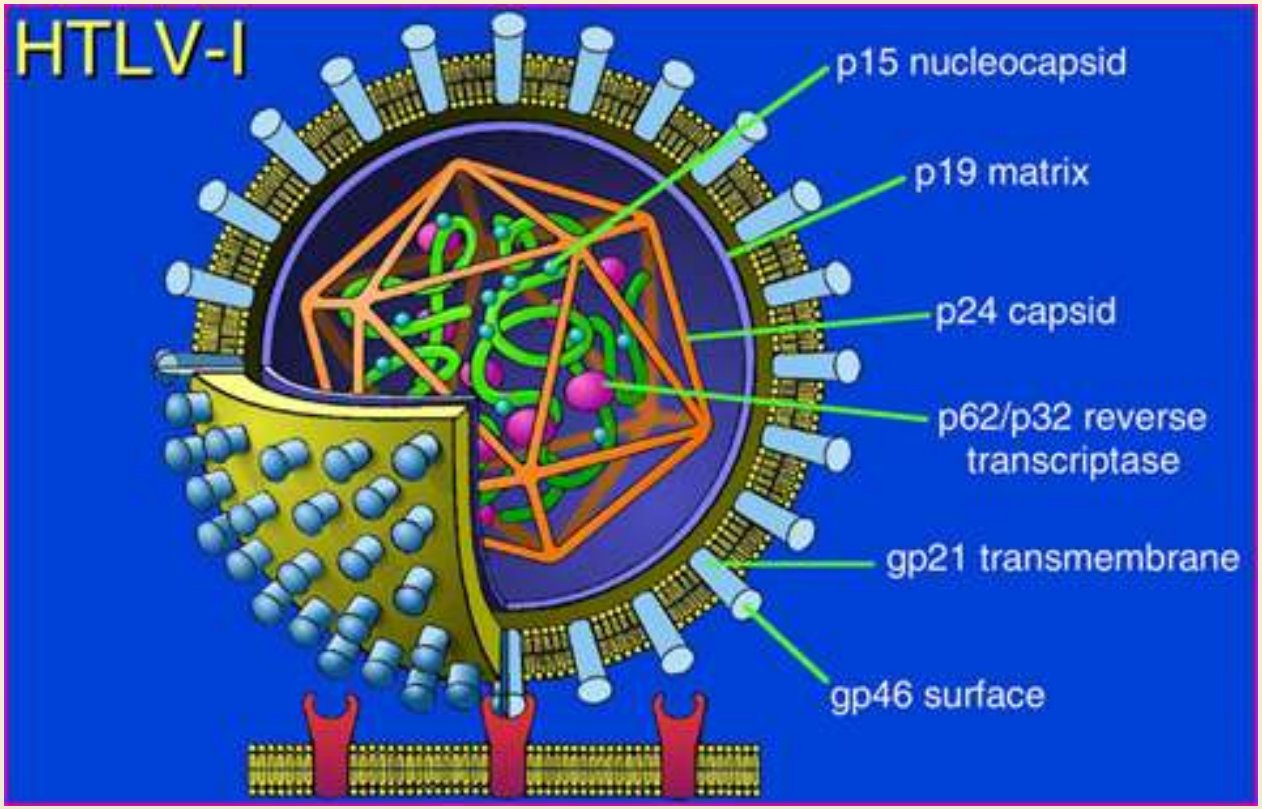
2 causano patologie leucemiche e neurologiche:

HTLV-1 e HTLV-2 (Human T Lymphotropic Virus)

e 2 (HIV-1, HIV-2) sono causa dell'AIDS.

HTLV-1: virione





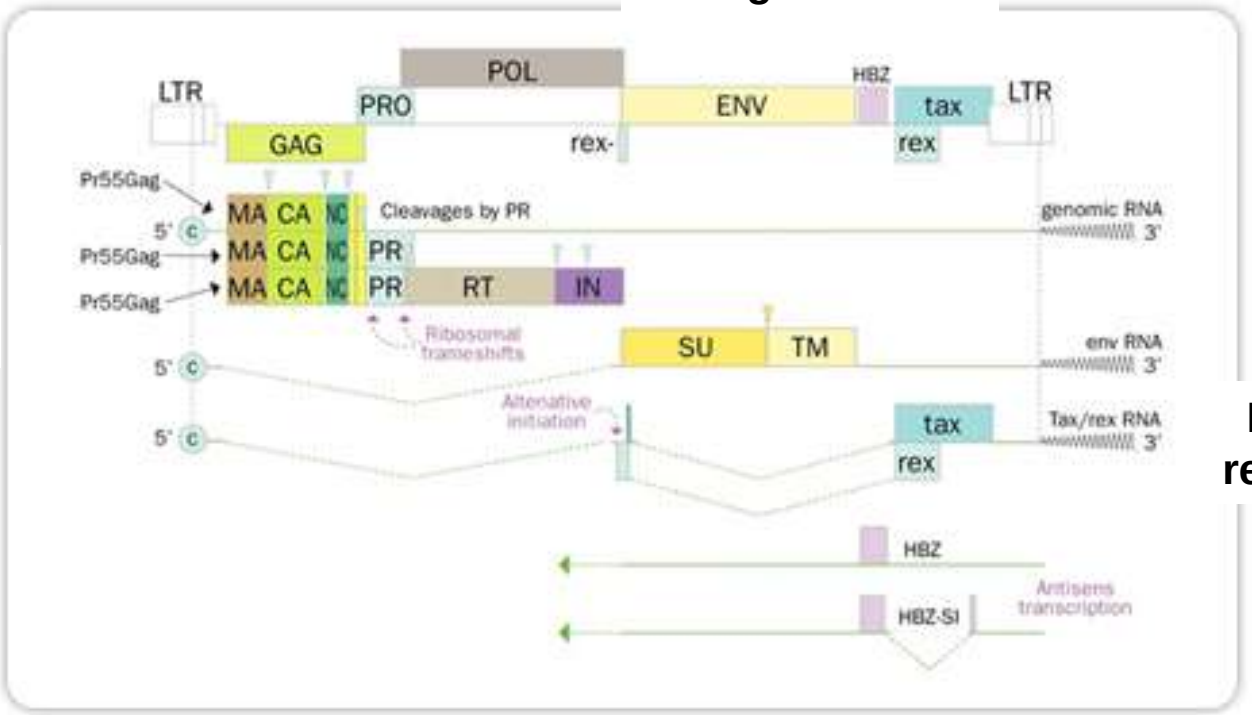
Genere Delta-retrovirus. Diametro 80-100 nm ∅. Contiene 2 copie di genoma ssRNA(+) con RT, integrasi e proteasi.

Distinto in 4 sottotipi: **A** (Cosmopolitan), **B** (Central African group), **C** (Melanesian group), **D** (New Central African group).

HTLV-1: Genoma

Regione PX

Proteine strutturali



Proteine regolatorie

Lineare, dimerico, ssRNA(+) di 8,5 kb, con 5'-cap e 3'poly-A tail. Due LTR di circa 600 nt alle terminazioni 5' e 3' (U3, R e U5). Contiene anche PBS in 5' e PPT in 3'.

Gag precursore p55: NC=p15, MA=p19, CA=p24

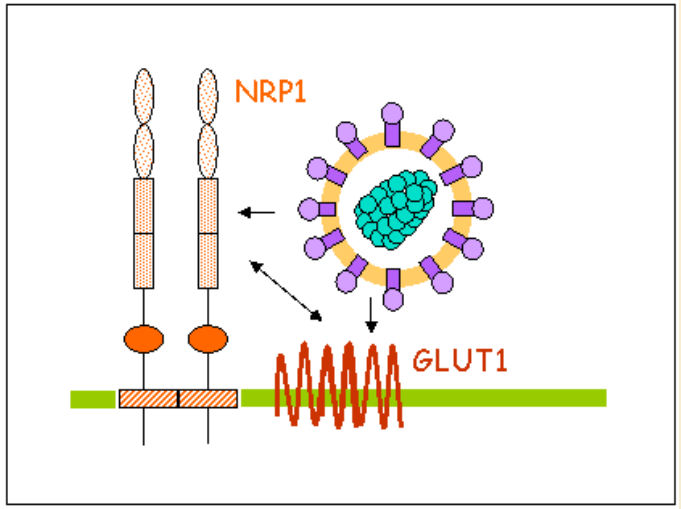
Pol: RT e altri enzimi (PRO=proteasi)

Env precursore gp61/68: SU=gp46, TM=gp21

Tax (p40) e **Rex** (p17, p21) geni spliced.

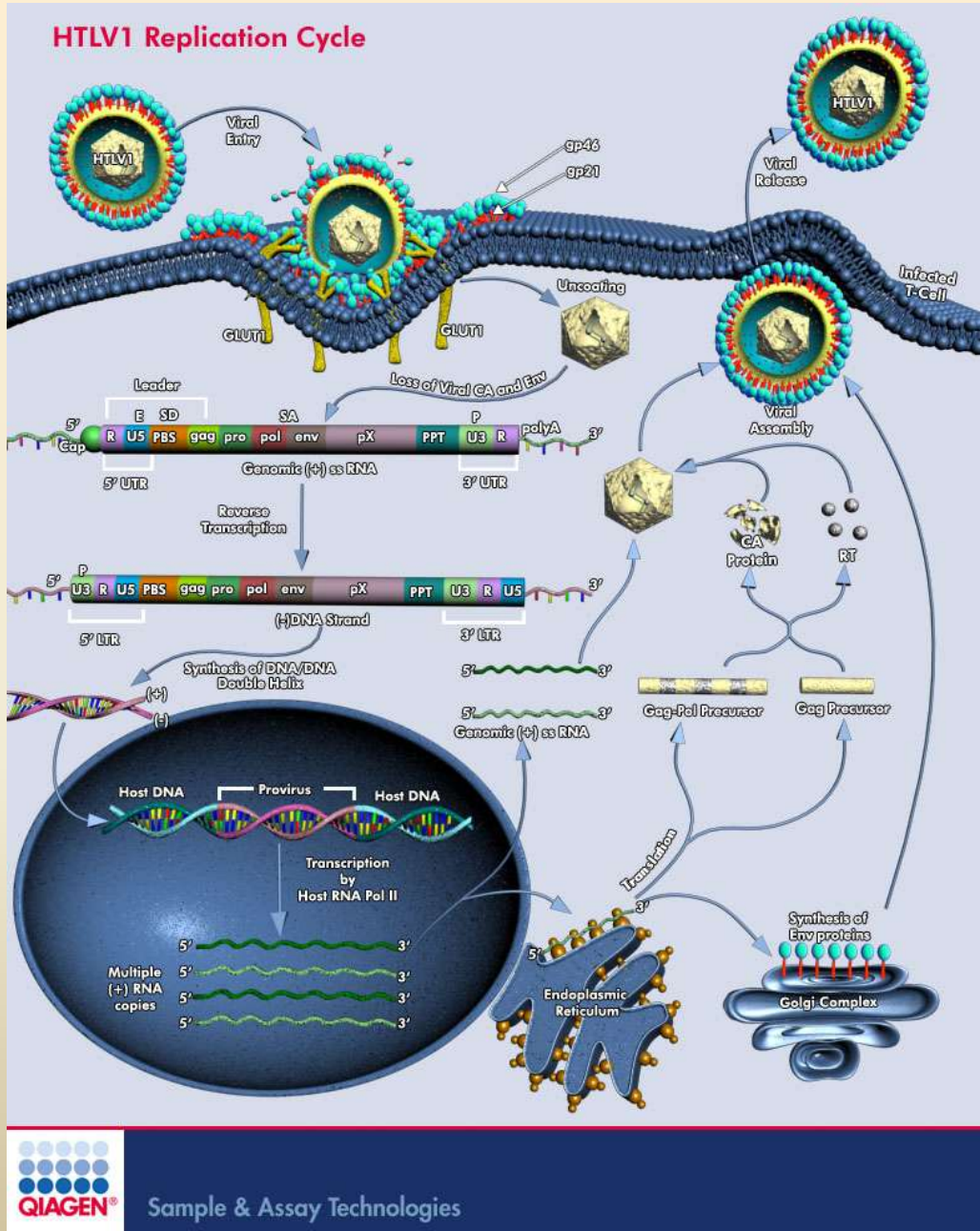
HBZ = proteina antisenso (basic leucine zipper factor) importante nella regolazione della replicazione virale.

HTLV-1: Infezione



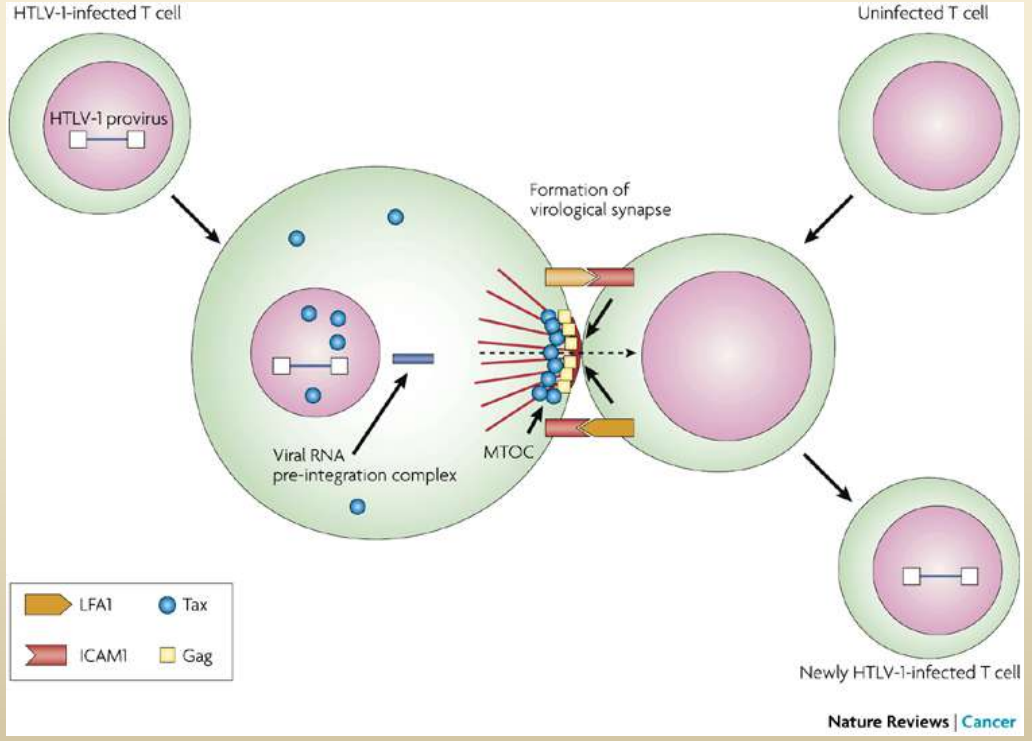
Primo recettore identificato (2003): GLUT1 (ubiquitous glucose transporter). HSPG (heparan sulfate proteoglycans) sono necessari per l'entry efficiente del virus. Anche NRP-1 (Neuropilin 1) funge da recettore per HTLV-1 (2006). GLUT1 è coinvolto anche nella trasmissione del virus cellula-cellula.
Infetta pref. linf T CD4+ (ma non è il recettore).

Ciclo replicativo tipico.



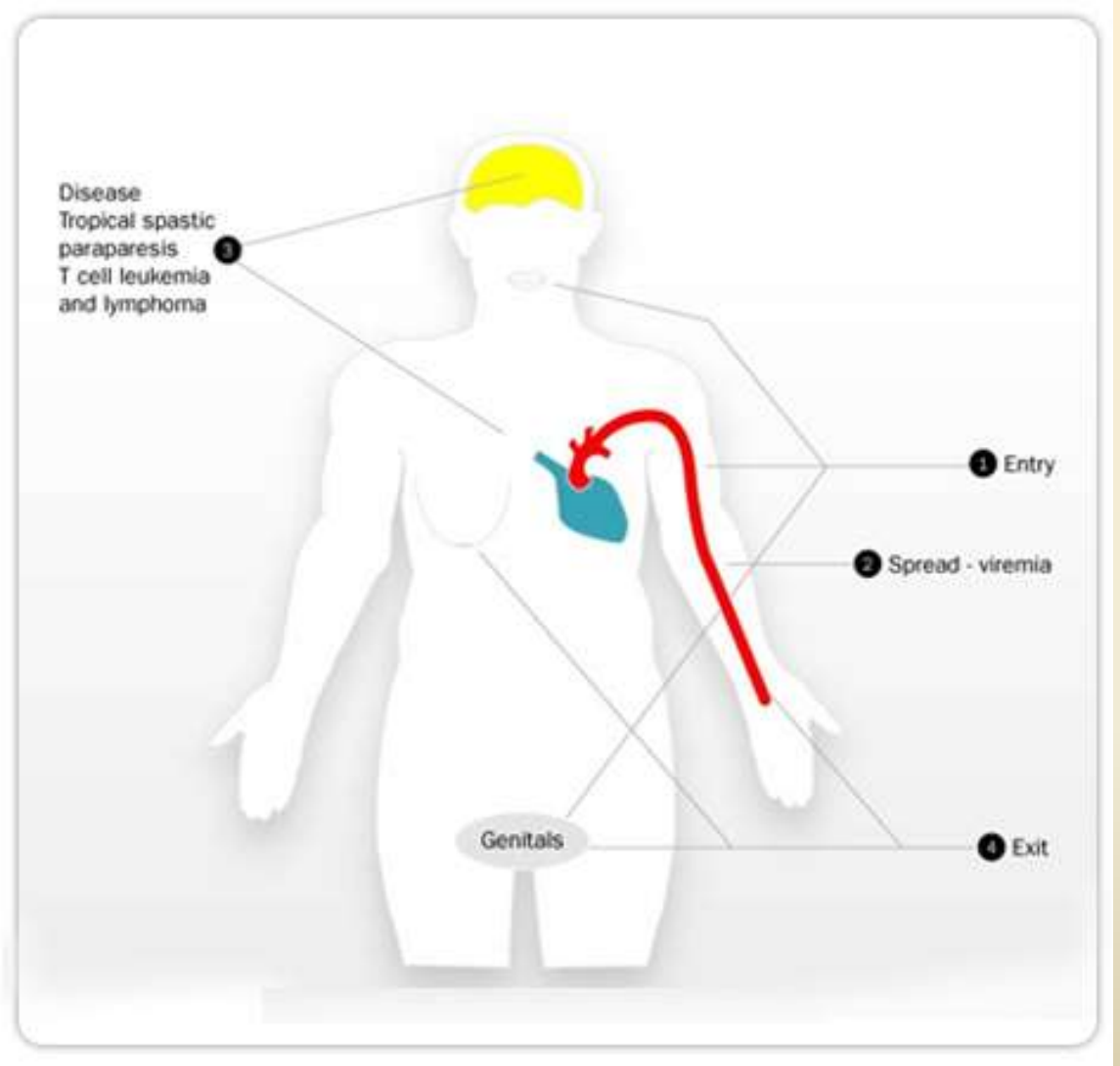
HTLV-1: trasmissione

A differenza di altri retrovirus, il virus isolato è scarsamente infettante; per l'infezione è necessario il contatto fra un linfocita infetto ed un linfocita attivato → difficile trasmissione interumana (sangue, rapporti sessuali, madre-neonato, allattamento).
Il contatto crea una "sinapsi virale" attraverso cui il genoma è trasmesso dalla 1^ alla 2^ cellula. LFA1 (Lymphocyte Funcion-associated Antigen1) e ICAM mediano la formazione del contatto. Tax contribuisce a formare il centro di organizzazione microtubulare (MTOC).



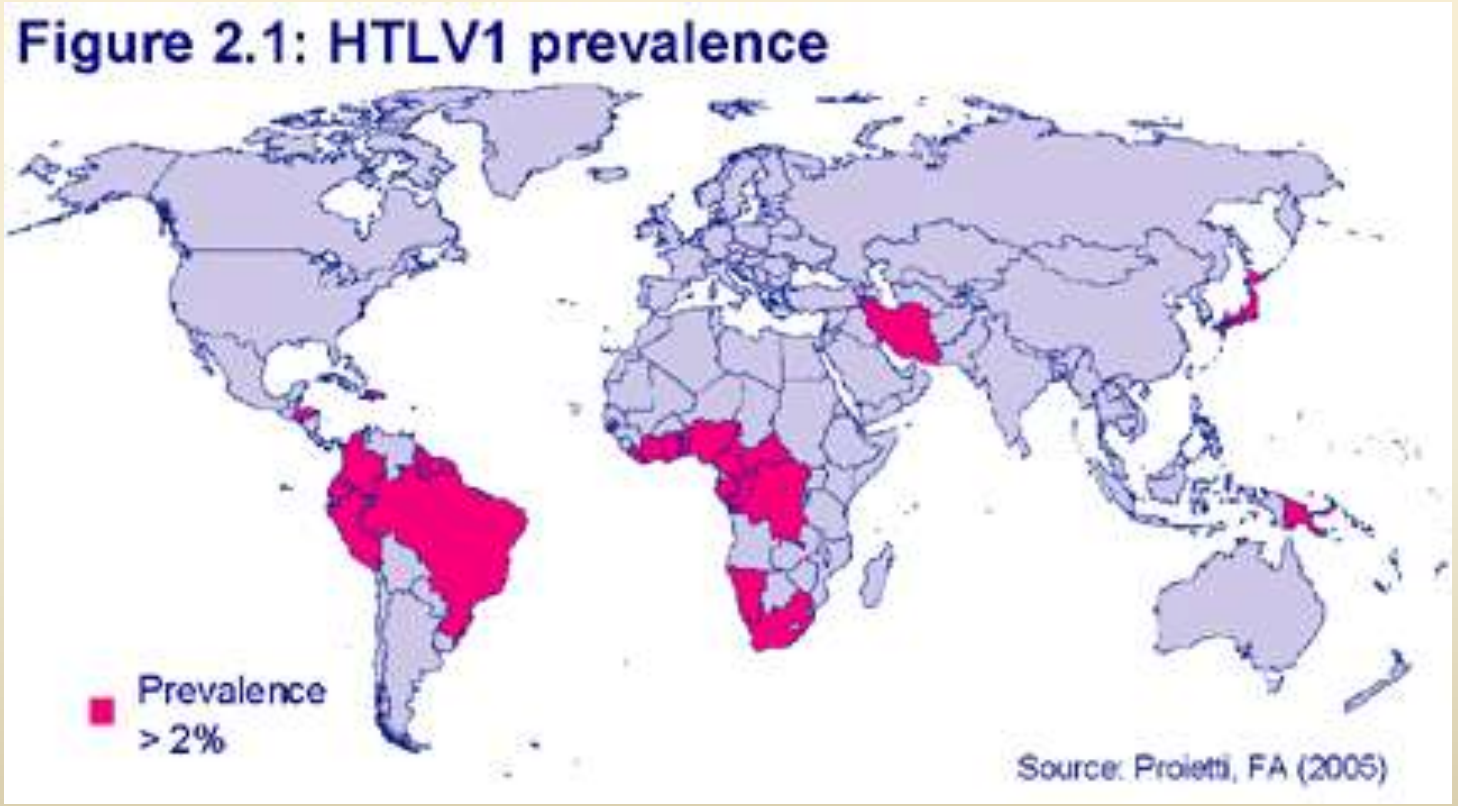
HTLV-1:importanza clinica

Associato a leucemia/linfoma a cellule T dell'adulto, malattia abbastanza rara ed aggressiva. In Giappone l'incidenza della leucemia è di 1 caso ogni 1500 adulti infettati.
Associato anche a encefalomielopatie croniche (paraparesi spastica tropicale).
Provoca inoltre infezioni asintomatiche (molto frequenti).



HTLV-1: prevalenza

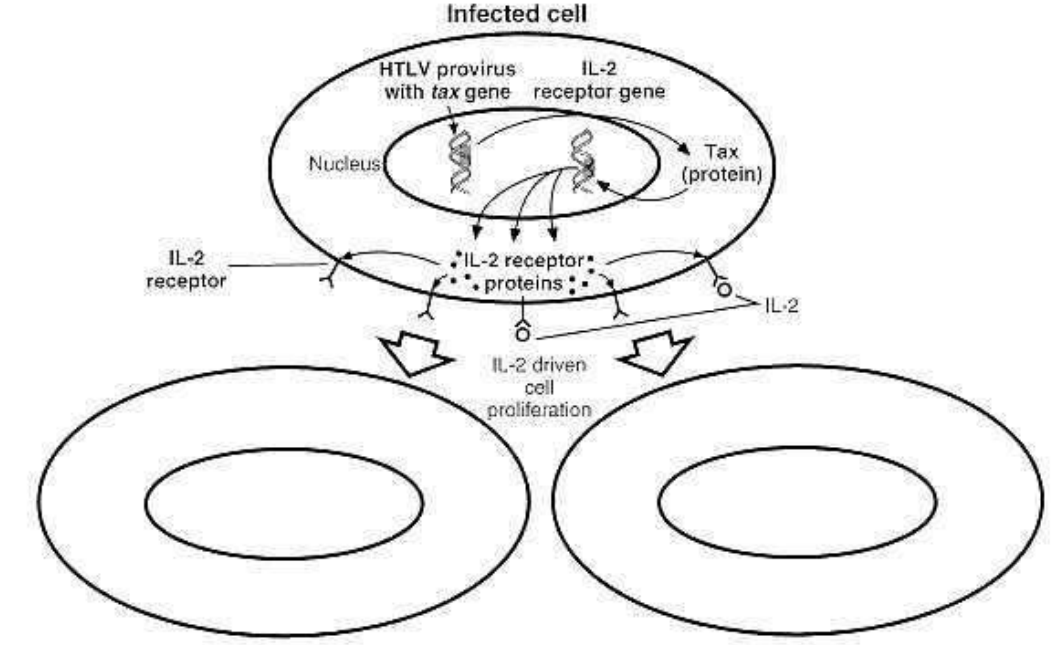
Il virus ha distribuzione geografica (Giappone, Caraibi, Africa, America centrale; sporadicamente anche in Italia meridionale e USA; abbastanza frequente e worldwide in tossicodipendenti).



HTLV-1: oncogenesi

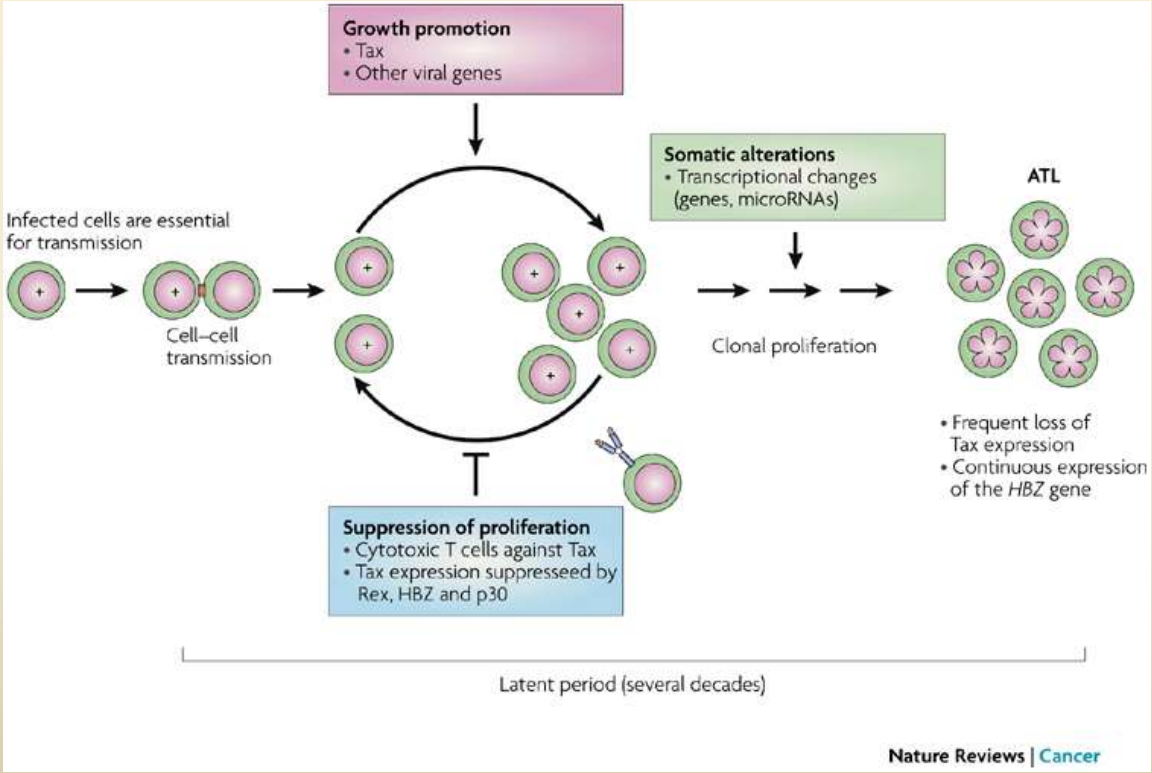
HTLV-1 *NON* ha v-onc → I pazienti hanno Ab contro il virus, il DNA provirale è integrato nel genoma delle cellule leucemiche, HTLV-1 "in vitro" immortalizza linfociti T umani

Probabile meccanismo: il virus codifica Tax (proteina transattivante) ⇒ attivazione anche di geni cellulari, fra cui IL- 2 (fattore di crescita dei linfociti), IL-2R e alcuni *c-onc* ⇒ circuito autocrino che porta a crescita incontrollata dei linfociti (IL-2 + IL-2R)

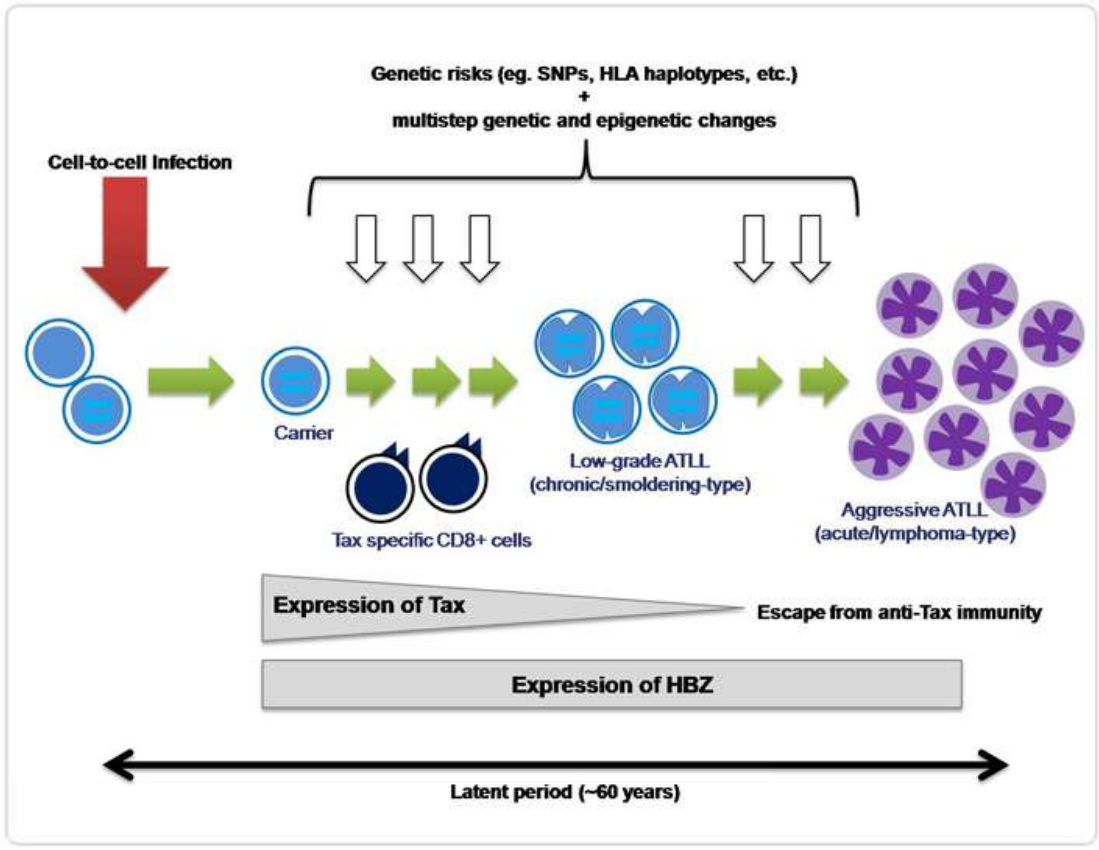


HTLV-1: oncogenesi

1. Poiché la risposta cellulo-mediata tende ad eliminare le cellule infettate, si s**elezionano cellule con ciclo infettante "abortivo" (espressione di Tax, ma non Ag tardivi)**
2. Tali cellule possono proliferare senza controllo, anche per anni
3. Può verificarsi un "**secondo evento**" con la comparsa di leucemia acuta clinicamente manifesta (IL-2R attivato anche in assenza di IL-2)



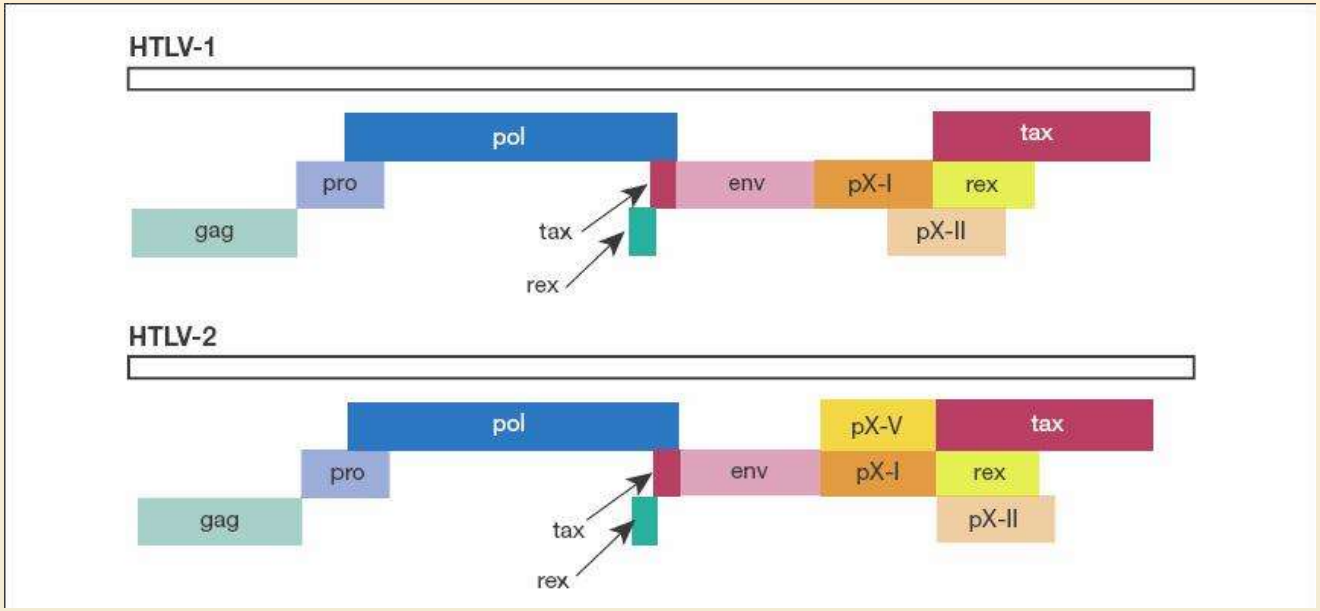
HTLV-1: oncogenesi



Inoltre: nel tempo l'espression di Tax è diminuita mentre aumenta espressione HBZ. L'effetto di HBZ su CREB2 e AP1 (activating protein 1) modula NEGATIVAMENTE la trascrizione virale, antagonizzando l'effetto di Tax sull'LTR.

Ciò induce un rallentamento della replicazione virale che favorisce la PERSISTENZA del virus e la PROLIFERAZIONE-TRASFORMAZIONE delle cellule che lo contengono.

HTLV-2



Molto simile a HTLV-2. Esprime funzioni analoghe.
Ciclo replicativo sovrapponibile.
Differente tropismo cellulare (SU, domain COOH-terminale).

Associato a tricoleucemia (leucemia "a cellule capellute"). Meno frequente di HTLV-1. Ruolo in patologia umana ancora da definire completamente. Immortalizza linfociti umani "in vitro".
Mentre HTLV-1 infetta preferenzialmente i CD4+, HTLV-2 infetta i linfociti T CD8+ (*HTLV-1 and HTLV-2 use different receptor complexes to enter T cells, J. Virol. 2006).*

Confronto HTLV-1/HTLV-2

7994–7999 | PNAS | May 31, 2005 | vol. 102 | no. 22

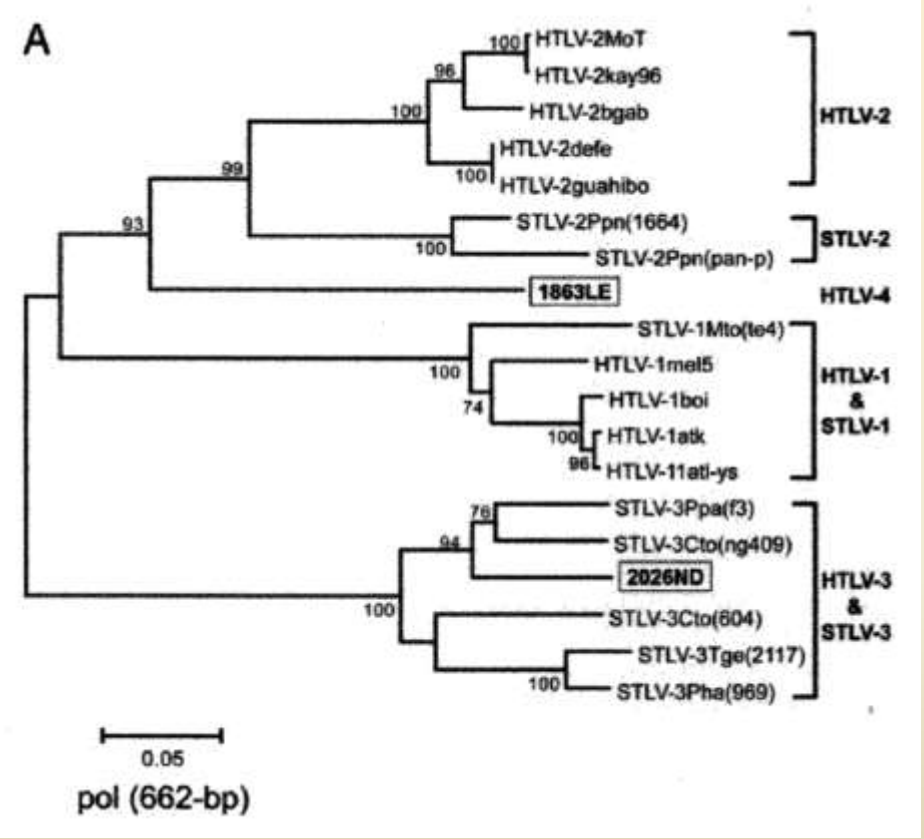
Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters

Nathan D. Wolfe*†‡, Walid Heneine§, Jean K. Carr¶, Albert D. Garcia§, Vedapuri Shanmugam§, Ubald Tamoufe*‖, Judith N. Torimiro‖, A. Tassy Prosser†, Matthew LeBreton‖, Eitel Mpoudi-Ngole‖, Francine E. McCutchan*¶, Deborah L. Birx**, Thomas M. Folks§, Donald S. Burke*†, and William M. Switzer§††

Studi recenti hanno identificato HTLV-3 e HTLV-4 in persone che hanno avuto contatti con sangue di scimmie.

Studi filogenetici indicano che TUTTI gli HTLV sono in realtà sottotipi degli STLV delle scimmie.

Inoltre, sembra che HTLV-1 sia entrato nella popolazione diverse volte. Attualmente HTLV e STLV fanno parte dello stesso gruppo di virus (PrimateTLV).



Frequente salto di specie, con potenzialità patogenetiche

HTLV: Diagnosi

Indicazioni WHO*

Le indicazioni WHO per prevenire la trasmissione di HTLV-1/2 attraverso le **trasfusioni** prevedono:

1. Nei paesi in cui HTLV è endemico, l'introduzione dello **screening** per HTLV-1/2 deve tener presente l'impatto sulla disponibilità di sangue.
2. Lo screening per Ab anti-HTLV-1/2 deve essere effettuato usando un **saggio immunoenzimatico** altamente sensibile e specifico.
3. Nei paesi in cui HTLV non è endemico lo screening per HTLV-1/2 dovrebbe essere introdotto sempre prima dell'uso di sangue o emoderivati nell pratica clinica.

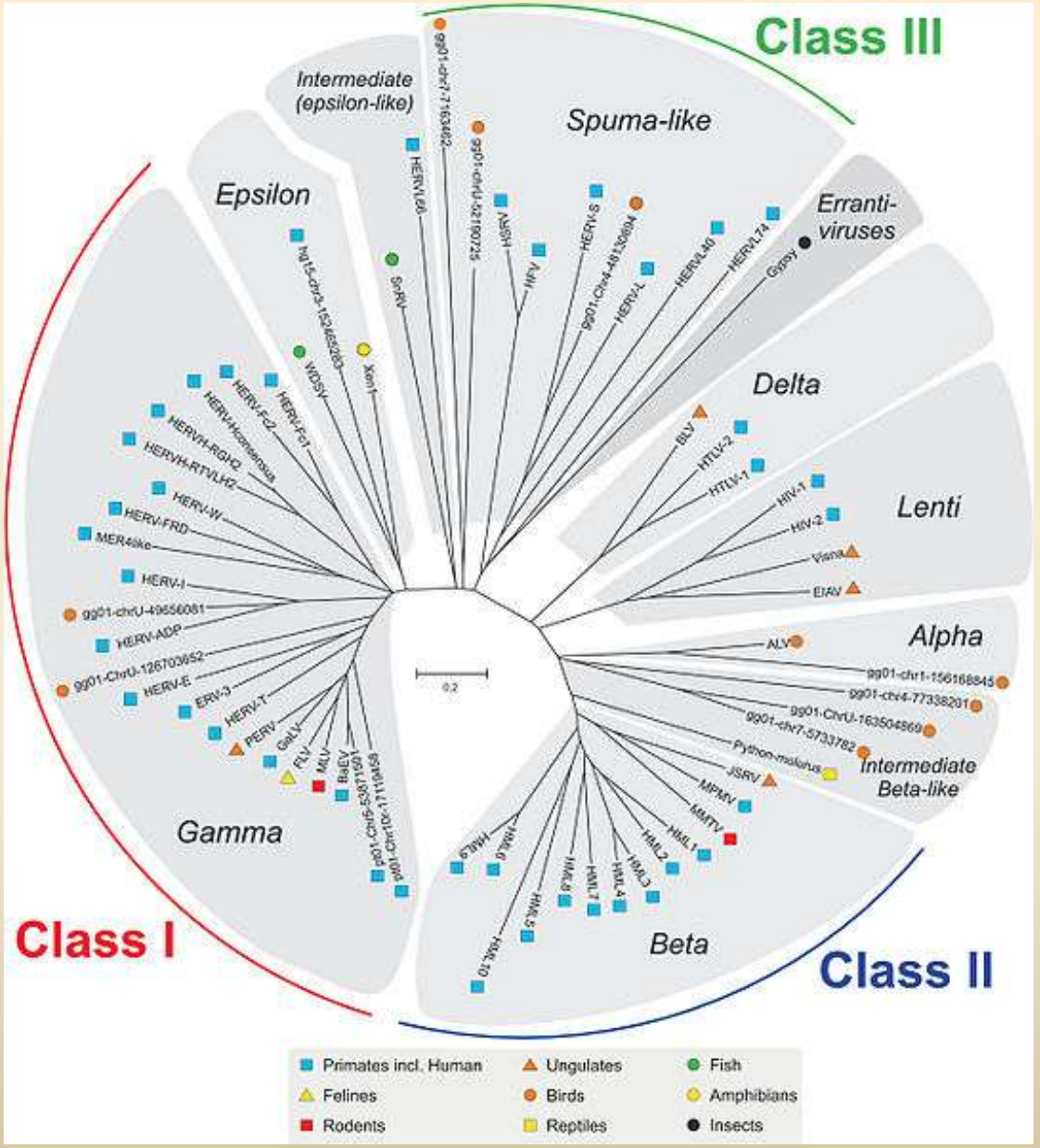
Per confermare e differenziare la diagnosi dopo lo screening Ab, si possono usare Western blot e/o PCR.

Retrovirus Endogeni (ERV)

Sono ubiquitari: presenti in tutti i vertebrati, anche nell'uomo.

Sequenze di DNA corrispondenti al genoma (intero o parziale) di un retrovirus si trovano integrate stabilmente nel genoma cellulare, e diventano parti stabili dei cromosomi, comportandosi come geni mendeliani.

Si dicono endogeni, perché presenti in tutte le cellule dell'ospite, comprese quelle della linea germinale → trasmissione verticale.



ERV: fossili molecolari?

I Retrovirus endogeni sono di solito:

♣ **Trascrizionalmente silenti: di norma sono repressi dalla cellula ospite mediante metilazione, alterazioni di struttura, ecc. La loro espressione può a volte essere indotta, parzialmente.**

♣ **Defettivi: spesso per delezioni o mutazioni che impediscono di produrre una progenie infettante.**

PERO'…

Negli **animali VIVIPARI**, gli ERV sono **attivati e prodotti in altà quantità durante l'impianto dell'embrione** → si ipotizza possano avere proprietà immunosoppressive, con ruolo nello sviluppo della tolleranza immune gestazionale.
Si ipotizza che l'**evoluzione dei moderni vivipari** sia iniziata dopo un'infezione da parte di RV, che ha reso il feto "resistente" al SI della madre (*PAPS, 2004*).
Nelle **pecore**, la produzione di proteine Env di ERV è stata dimostrata necessaria per il mantenimento della gravidanza (PNAS, 2006). Alcune proteine di fusione sembrano importanti nella formazione del sincizio placentare (*Nature, 2000*).

Human endogenous retroviruses (HERVs): un update

❑ **Il progetto genoma umano ha trovato molte migliaia di ERV, classificate in 24 famiglie (*ASM News, 2001*).**

❑ Gli HERV costituiscono circa **l'8% del genoma umano** (98,000 elementi e frammenti)(PNAS 2004). Nessuno capace di replicazione, tutti defettivi, con delezioni o mutazioni nonsenso (2005). Tuttavia molto studiati per l'evoluzione: **HERV-K** (HML2), costituisce <1% degli elementi HERV, è attivo da quando l'uomo si è differenziato dagli scimpanzè. Ci sono indicazioni che HERV-K106 e HERV-K116 siano attivi nell'uomo da 800.000 anni, e che HERV-K106 possa aver infettato i moderni esseri umani 150.000 anni fa.

❑ Alcuni studi li hanno associati allo sviluppo di malattie autoimmuni, in particolare sclerosi multipla → retrovirus W detto "**MS-associated retrovirus**" (MSRV).

❑ 2004: sono stati trovati Ab anti-HERV con maggior frequenza in pazienti affetti da **schizofrenia**. Inoltre nel liquido cerebrospinale di tali pazienti sono stati trovati marker retrovirali (RT) 4 volte maggiori che nei controlli, suggerendo che l'infezione/riattivazione di HERV possano essere un trigger per tale malattia.

❑ 2007: due gruppi (S. Francisco e Toronto) hanno pubblicato che c'è evidenza di una risposta cellulo-mediata anti-HERV nei pazienti **HIV**, ipotizzando che HIV possa indurre l'espressione di HERV nelle cellule infettate.

Retrovirus endogeni

Effetti: ?????

Contribuiscono alla plasticità del genoma (ricombinazione e trasposizione)

Spesso anche quando sono espressi non hanno effetto patogeno

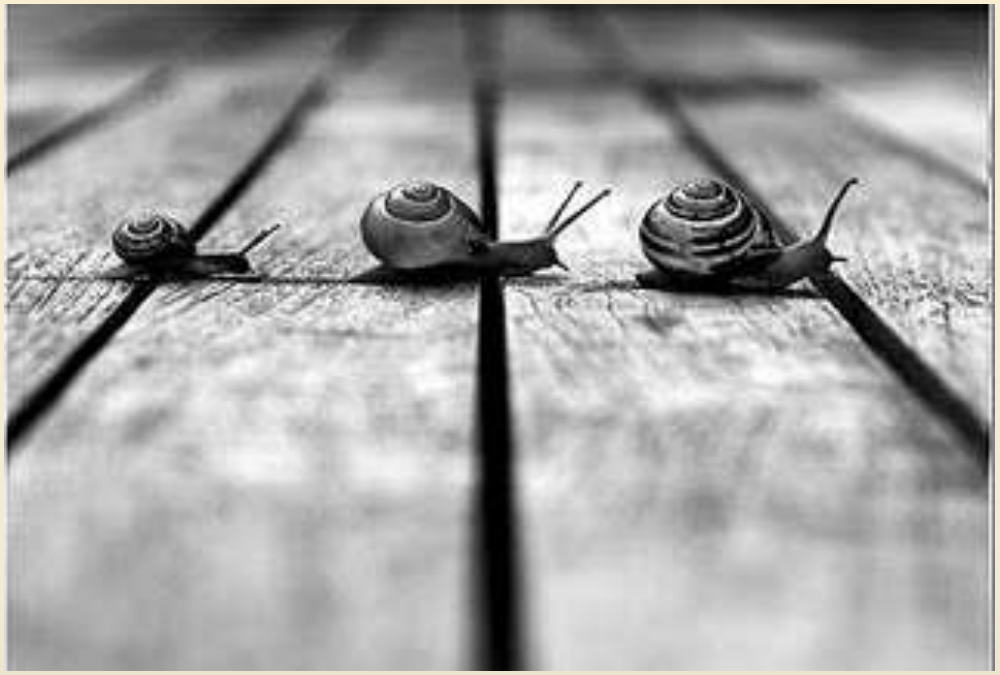
L'inserzione di sequenze retrov. end. in un nuovo sito cromosomico è potenzialmente mutageno (si pensa che circa 0.4% delle malattie genetiche umane siano dovute a seq. di retr. end.)

Possono conferire resistenza all'infezione con retrovirus esogeni (esperimenti nel topo)

Sono stati associati a oncogenesi in modelli animali

Circa il 25% dei promotori umani contiene sequenze di HERV e in diversi casi sono importanti come promotori o enhancers

LENTIVIRUS



LENTIVIRUS

Retrovirus esogeni, non direttamente implicati nell'oncogenesi (non hanno oncogeni).

Virus "lenti"= nome derivato dai membri prototipi: VMV (*visna* pecora), EIAV (anemia infettiva equina).

- ***Gruppo dei lentivirus bovini:*** *BIV (Bovine immunodeficiency virus)*
- ***Gruppo dei lentivirus equini:*** *EIAV (Equine infectious anemia virus)*
- ***Gruppo dei lentivirus felini:*** *FIV (Feline immunodeficiency virus), Puma lentivirus*
- ***Gruppo dei lentivirus ovini e caprini:*** *CAEV (Caprine arthritis encephalitis virus), VMV (Visna/maedi virus)*

Gruppo dei lentivirus dei primati:

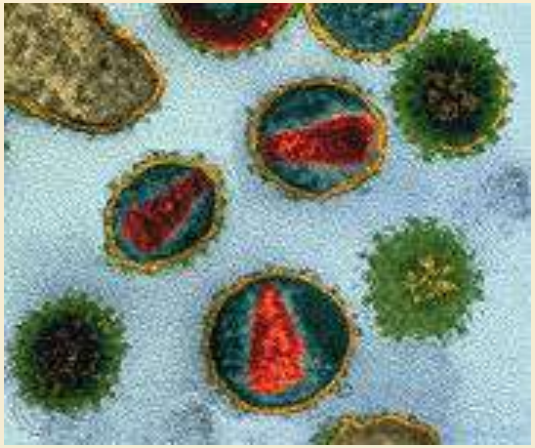
- *HIV-1, HIV-2, SIV*

Comprendono i virus delle immunodeficienze (HIV, SIV, ecc.)

TABLE 1. *The lentiviruses*

Virus	Host	Disease
Natural Infections		
EIAV	Horse	Anemia, wasting
VMV	Sheep	Pneumonia, wasting, arthritis, mastitis, encephalitis
CAEV	Goat	Arthritis, mastitis, encephalitis
BIV	Cattle	None
FIV	Cat	Immunodeficiency, wasting, encephalitis
SIVs	Various African monkey species	None
HIV-1, HIV-2	Humans	Immunodeficiency, wasting, encephalopathy, pneumonia, gastroenteropathy, nephropathy
Experimental Infections		
SIV_{mac}	Macaques	Immunodeficiency, wasting, encephalopathy, pneumonia, gastroenteropathy, nephropathy
HIV-2	Pigtail macaques	Immunodeficiency, wasting
HIV-1	Chimpanzees	None

LENTIVIRUS



Famiglia: Retroviridae

Sottofamiglia: Orthoretrovirinae

Genere: Lentivirus

Virus umani: HIV-1, HIV-2

Dimensioni: 80-130 nm

Capside. Conico o cilindrico, con inviluppo

Genoma: diploide RNA(+) ss di ~10kb.

Patologie: Malattie “lente”; AIDS, neurologiche, artriti, cachessie

Oncogenesi: nessuna implicazione diretta, non hanno oncogeni

Lentivirus: caratteristiche

- **Oltre a gag, pol e env, i Lentivirus codificano proteine non strutturali regolatorie: transattivatrici (simil-Tat di HIV) e che controllano il trasporto dell'RNA (simil-Rev di HIV).**

- **Persistono per tutta la vita dell'ospite: si integrano nei cromosomi, evadono la risposta immune.**

- **Hanno elevata frequenza di mutazione.**

- **Capaci di replicare nei macrofagi.**

- **Tutti quelli finora caratterizzati utilizzano come recettori (o corecettori) quelli per le chemiochine.**

Lentivirus: caratteristiche

L'infezione si sviluppa in 3 stadi:

1) l'infezione INIZIALE è associata a rapida replicazione virale e disseminazione, spesso associata a malattia passeggera

2) Segue un periodo di LATENZA clinica, in cui il virus è controllato dal sistema immunitario e non c'è malattia

3) dopo un periodo di alcuni anni, i livelli replicativi aumentano, e si verifica la MALATTIA

Lo sviluppo della malattia è influenzato da diversi cofattori, fra cui:

-background genetico dell'ospite (resistenti o più o meno sensibili)

-età (individui giovani più suscettibili a malattie rapide)

-stress (es. animali che super-lavorano hanno malattie più gravi)

-fattori virali (ceppi virali con diversa virulenza)

Scoperta dei Lentivirus Umani: HIV

1981: **Diversi casi di polmonite da Pneumocystis carinii [estremamente rara] e di Sarcoma di Kaposi [tumore rarissimo in giovani] in persone stranamente immunodepresse.**

1983: **Montaigner (Pasteur Ist., Parigi) isola LAV (Lymphoadenopathy-associated Virus) da paziente con linfoadenopatia**

1984: **Gallo (NIH, USA) associa HTLV-III all'AIDS.**

1986: **LAV e HTLV-III rinominati HIV-1**
Isolato HIV-2 in Africa Occidentale

Françoise Barré-Sinoussi, e Luc Montagnier,
Premi Nobel 2008

HIV è la causa dell'AIDS

(Rispetta i postulati di Koch)

Associazione Epidemiologica:

- **HIV è presente in tutti i pazienti con AIDS**
- **I livelli virali predicono sviluppo ed andamento della malattia**
- **Farmaci che inibiscono HIV migliorano la malattia**

Isolamento del Virus:

- **Il virus può essere isolato da tutti i pazienti**
- **In vitro infetta e lisa le cellule bersaglio**

Patogenesi:

- **HIV e SIV possono causare AIDS nelle scimmie**

Nonostante le fortissime evidenze disponibili, ci sono gruppi di pazienti e anche qualche scienziato che affermano che la causa dell'AIDS deve ancora essere identificata

Origine di HIV

Gli studi filogenetici forniscono forti evidenze che HIV è strettamente correlato a virus che si trovano normalmente nelle scimmie. Si pensa che la trasmissione zoonotica di questi virus delle scimmie abbia causato la comparsa di HIV nell'uomo. Quindi HIV rappresenta una infezione virale emergente.

I lentivirus che infettano primati nell'ospite naturale non danno malattie. Però possono passare da una specie ad un'altra, e a volte nel nuovo ospite danno patologia AIDS-simile.

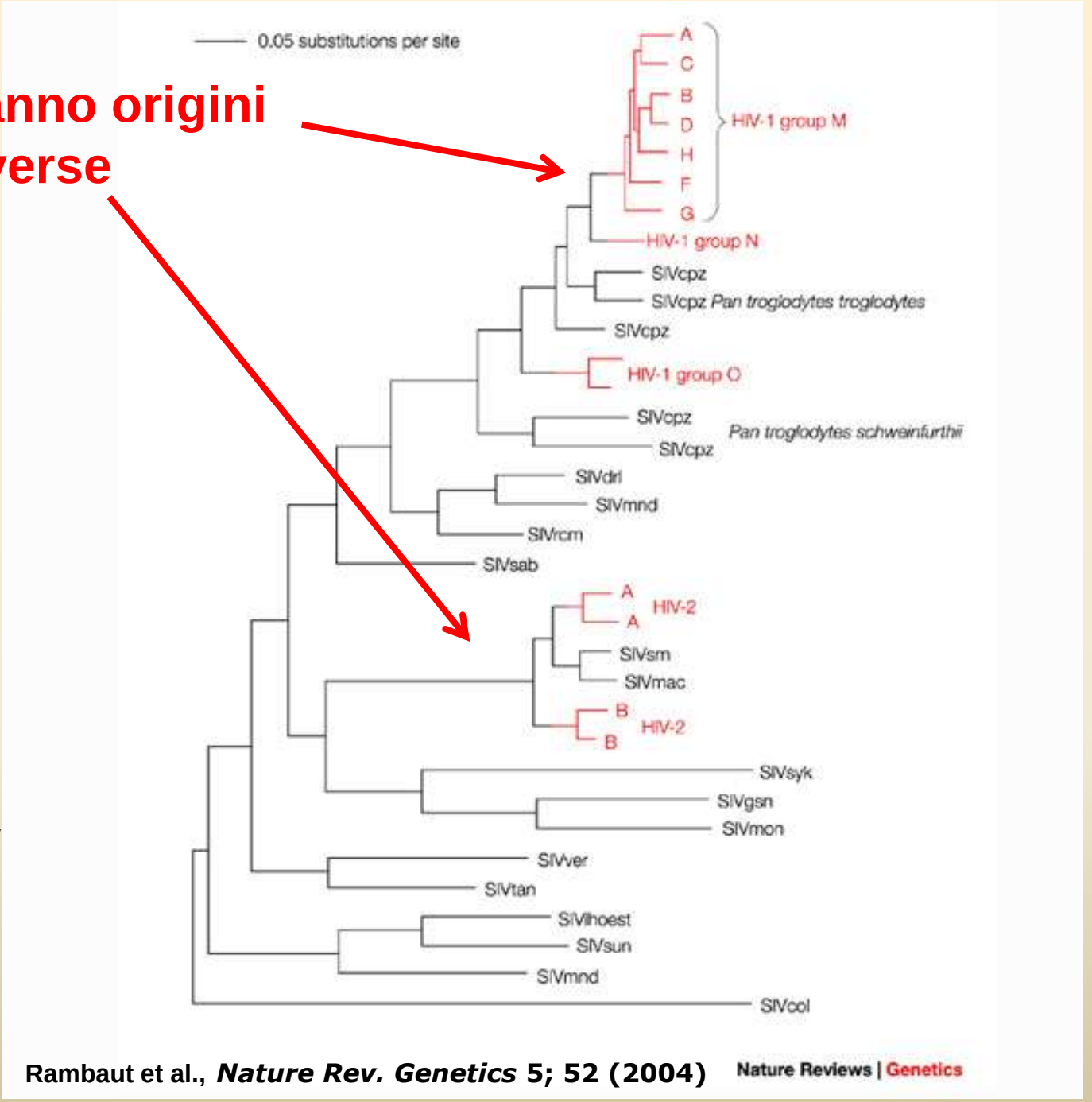
HIV-1 è molto simile a SIVcpz

HIV-2 è molto simile a SIVsm

HIV-1 e HIV-2 hanno origini chiaramente diverse

Ci sono 3 diversi gruppi di HIV-1 (M, il più comune, N e O), che prob riflettono diversi ingressi del virus nella popolazione umana.

sm=Sooty Mangabey
cpz= Chimpanzee
mac= Macaque
mnd=Mandrill
rcm= Red Capped Mangabey



Rambaut et al., ***Nature Rev. Genetics*** **5; 52 (2004)** Nature Reviews | Genetics

HIV-2

Isolato da un paziente del Senegal affetto da AIDS.

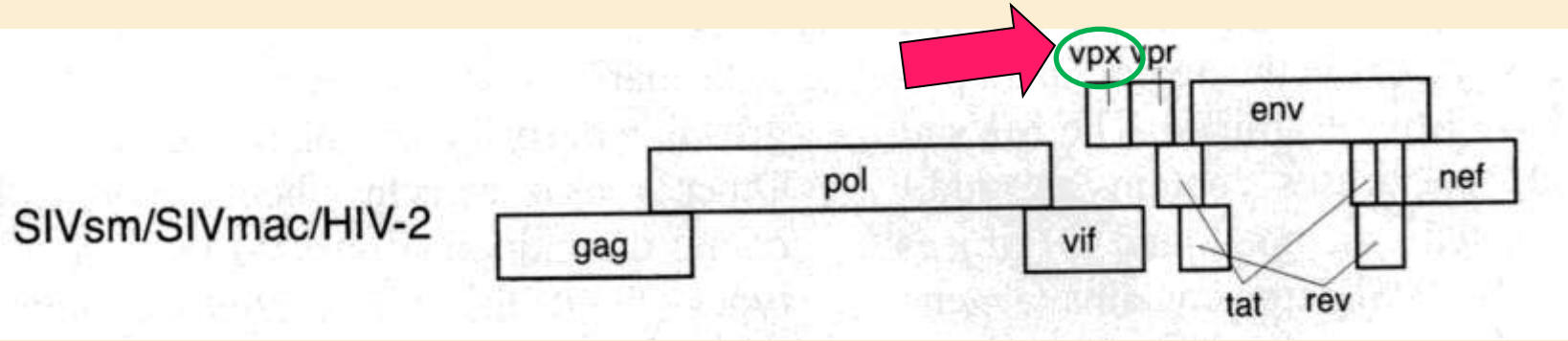
Simile a HIV, ma in realtà più simile a SIV_{sm} e a SIV_{mac}, dal quale probabilmente deriva.

SIV_{sm} infetta il cercocebo senza causare malattia, anche se in circolo ci sono elevati livelli di virus $\Rightarrow$ è più importante il controllo dell'infezione che le proprietà del virus

Sia HIV-1 che HIV-2 provocano l'AIDS, ma mentre HIV-1 è diffuso in tutto il mondo, HIV-2 è localizzato soprattutto in Africa.

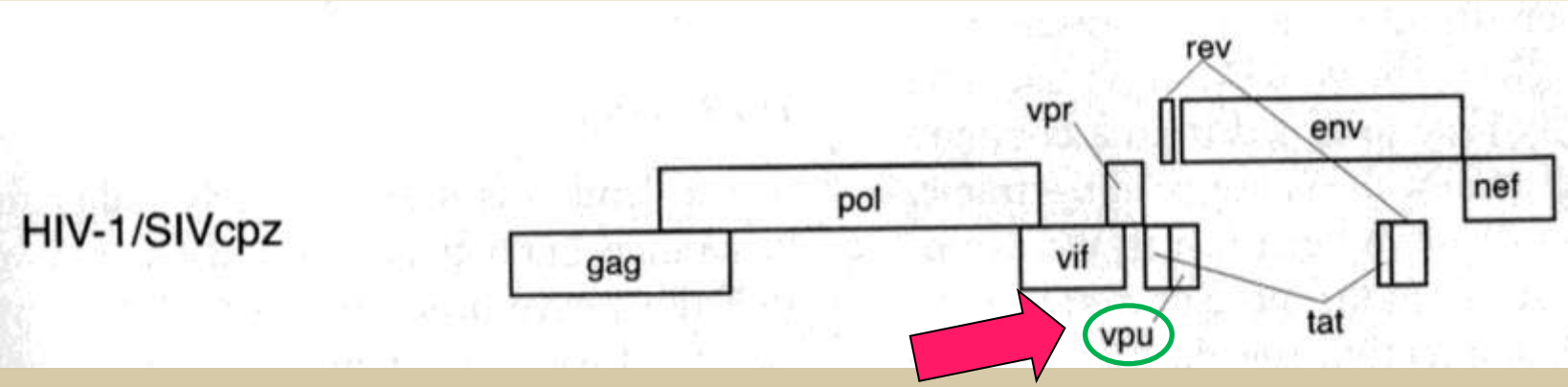
La malattia da HIV-1 è più veloce; le forme sostenute da HIV-2 hanno un decorso più lungo, anche se l'esito è lo stesso.

HIV-1 e HIV-2 hanno genomi differenti



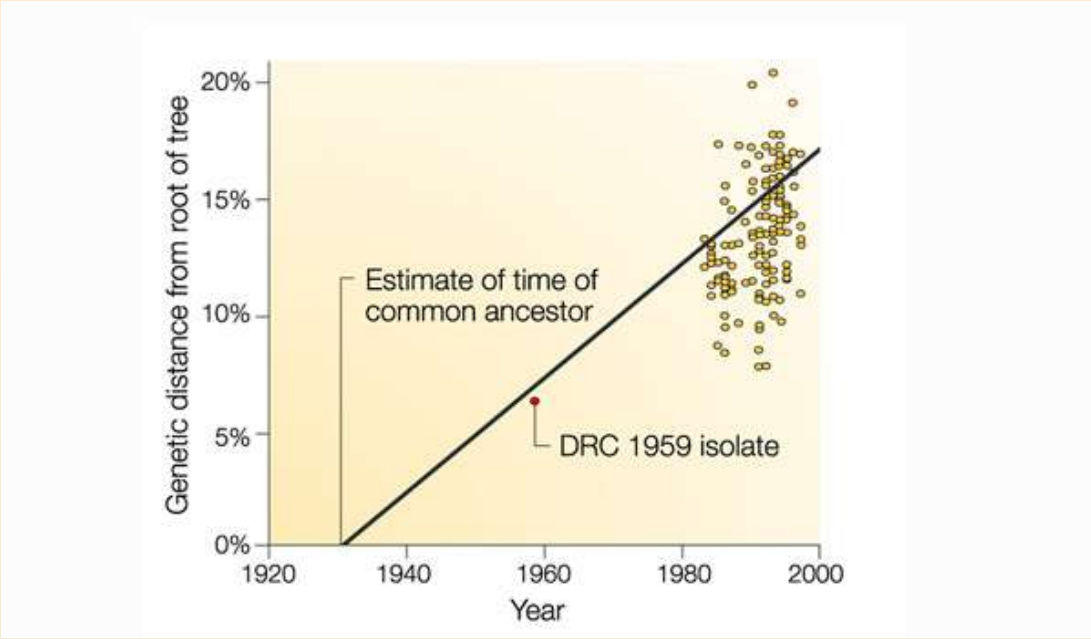
Vpx = proteina non strutturale, molto **simile a vpr** (probabilmente originata da una duplicazione di questo gene, presente in tutti i Lentivirus di primati). Vpx è incorporata nel virione e interviene nel **nuclear import** del nucleopcapside e facilita l'infezione lentivirale (Retrovirology 2007).

Vpu = proteina non strutturale associata a 2 funzioni principali: 1) contribuisce alla **down-modulazione del CD4**, essenziale nella efficiente produzione di particelle virali e nella progressione della malatia in vivo, 2) aumenta il **rilascio** di progenie virale antagonizzando la Tetherin (un fattore IFN-regolato che provoca il cross-link dei virioni sulla superficie cellulare).



Quando c'è stato il salto di specie?

La prima evidenza di HIV-1 è del 1959 (Nature 391:531, 1998)**.**
Si stima che l'ingresso di HIV-1 sia avvenuto ~ nel 1930
(*Rambaut A., et al. Nature Rev. Genet. 5:52-61, 2004)*



Come è entrato nella popolazione?
***Forse* esposizione di cute o mucosa a sangue di animali infetti (macellazione per uso alimentare di carne di scimmia)**

Perché solo recentemente c'è stata la diffusione epidemica?
Cambiamenti sociali (inurbamento, prostituzione)
Aghi non sterili per vaccinazioni

Sono state spesso fatte altre ipotesi molto fantasiose, ma senza alcun fondamento: es. Vaccino polio orale contaminato, arma batteriologica, ecc.

HIV: diffusione

Adults and children estimated to be living with HIV (2007)

Total: 33.2 (30.6 – 36.1) million

UNAIDS
UNHCR·UNICEF·WFP·UNDP·UNFPA
UNODC·ILO·UNESCO·WHO·WORLD BANK

World Health Organization

AIDS - qualche cifra in Italia

Italia:

1991: 10.000 casi totali di AIDS

2007: più di 58.000 casi totali di AIDS
(43% eterosessuali, 27% tossicodipendenti, 22% omo/bisessuali)

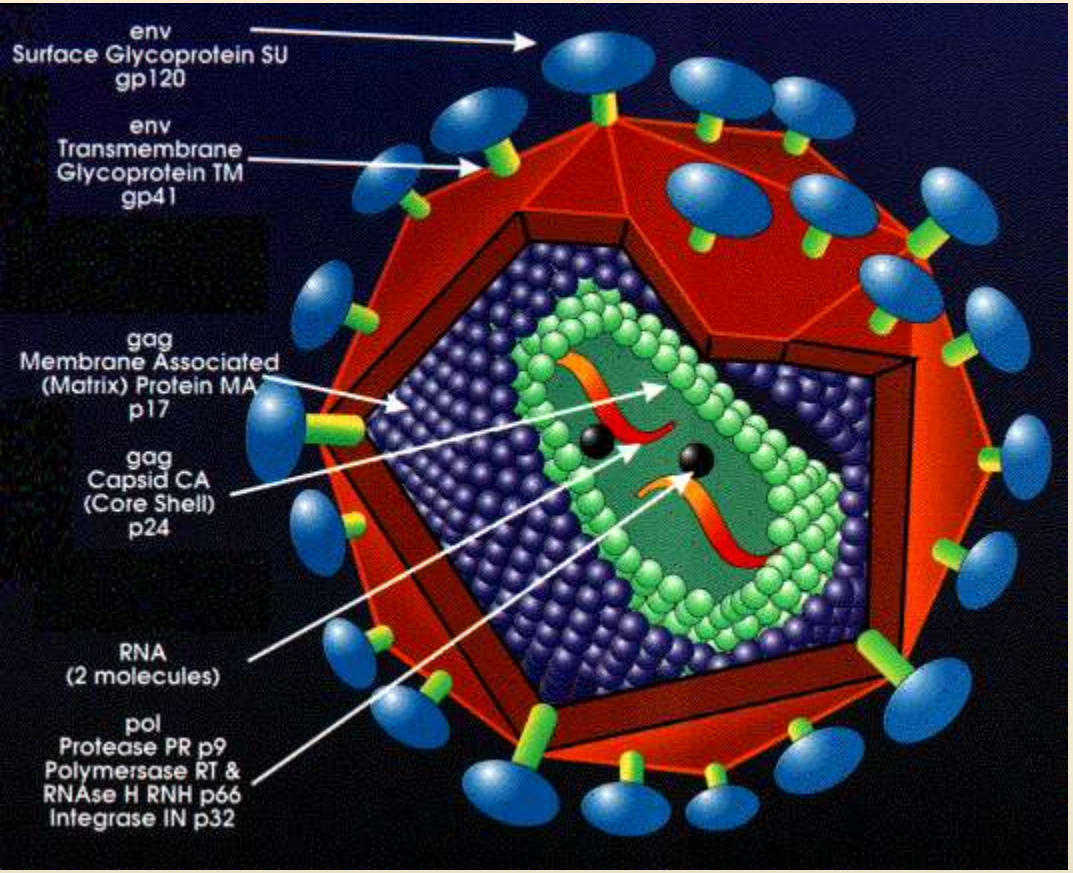
Nel 2007 si stimano circa 4000 nuove infezioni.

Finora in Italia sono morte più di 35.000 persone di AIDS: 4580 nel 1995, 427 nel 2003, ~200 nel 2007

Attualmente in Italia si stimano ~ 120.000 soggetti contagiati (~0.21% della popolazione).

Oltre il 50% dei malati di AIDS scopre di essere infettato da HIV al momento della diagnosi!!

HIV: virione



Core cilindrico, con envelope (Ø 100 nm). Capside costituito da p24. Circondato dalla Matrice (p17).

Il core contiene il genoma diploide ssRNA(+) e gli enzimi RT, integrasi e proteasi. Nell'inviluppo sono inserite le glicoproteine gp120 e gp41 (binding e fusione).

HIV: genoma

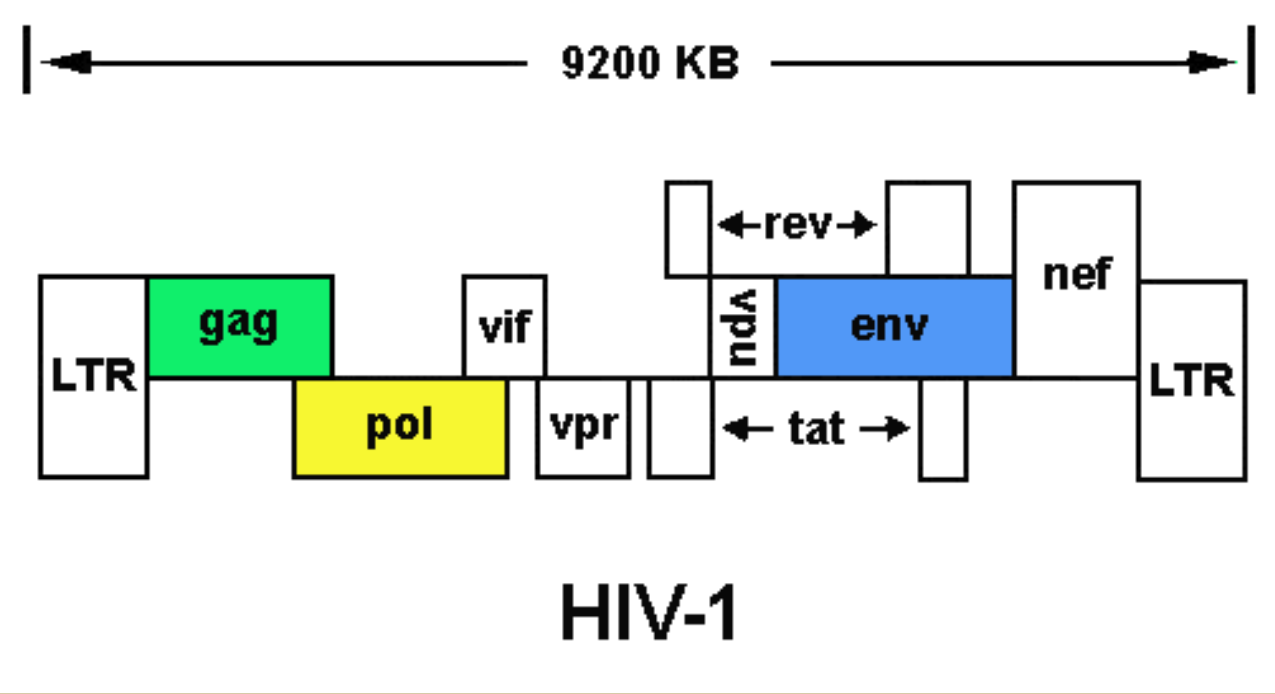
Come tutti i retrovirus, HIV ha 3 geni che codificano le principali proteine del virus:

gag **(Group AntiGen) proteine del nucleocapside e della matrice**

pol **(Polimerase) trascrittasi inversa/ribonucleasi, proteasi, integrasi**

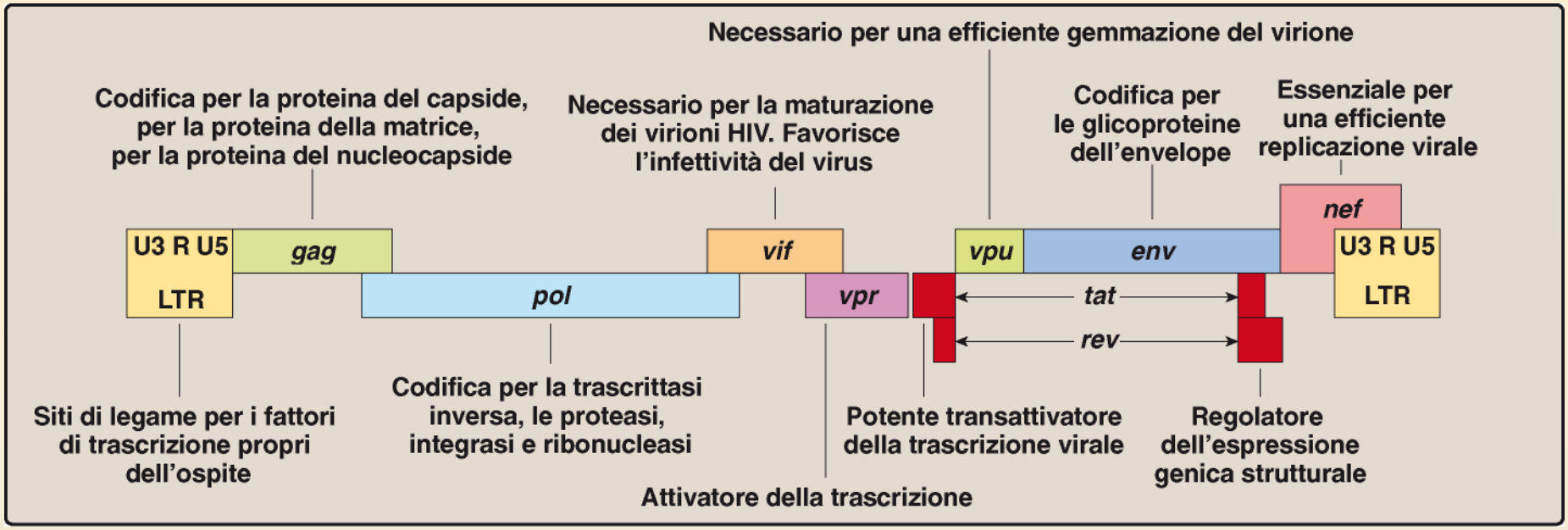
env **(Envelope) codifica le glicoproteine dell'inviluppo**

Le due sequenze terminali (LTR) regolano la trascrizione



HIV: genoma

HIV codifica anche altri 6 geni non strutturali



Geni Regolatori:

tat **= trans-attivatore, si lega a TAR (tat-responsive element), stimola la trascrizione virale**

rev **= promuove il trasporto di RNA virali non spliced**

Geni Accessori:

nef **= aumenta l'infettività, necessario per indurre la malattia "in vivo"**

vpu **= interviene nella liberazione e maturazione della progenie virale**

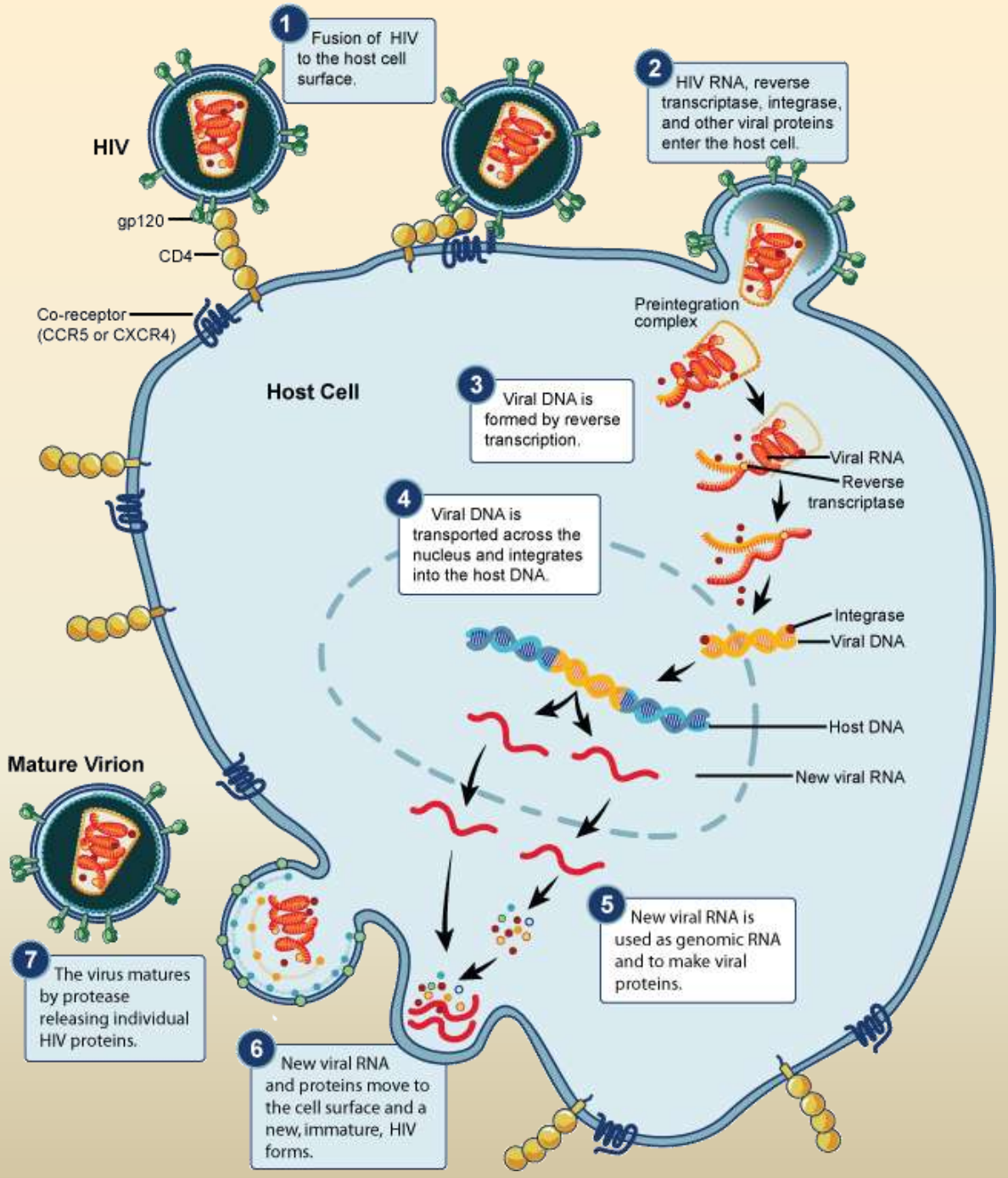
vif **= essenziale per l'infettività del virione**

vpr **= proteina regolatoria, facilita l'infezione dei macrofagi e induce apoptosi**

HIV: Replicazione

1^ fase: enzimi del virus (1-4)

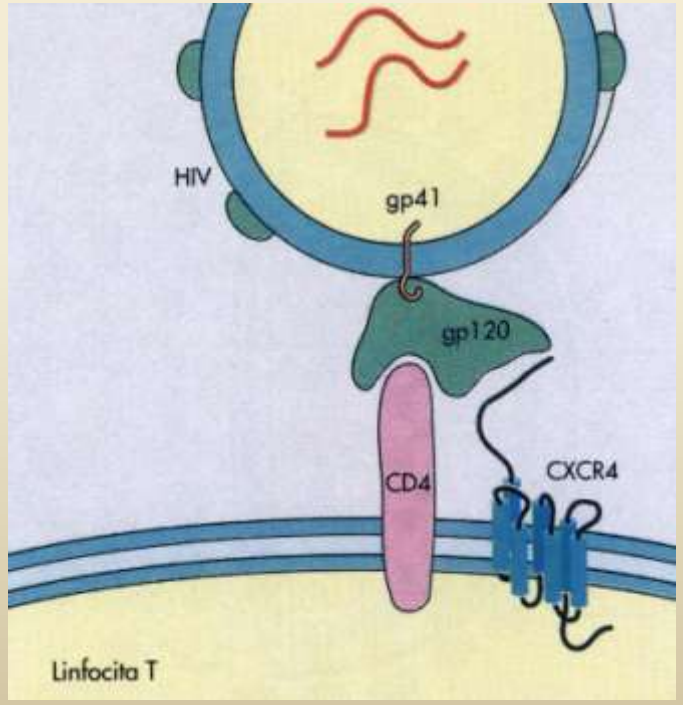
2^ fase: macchinario cellulare (5-7)



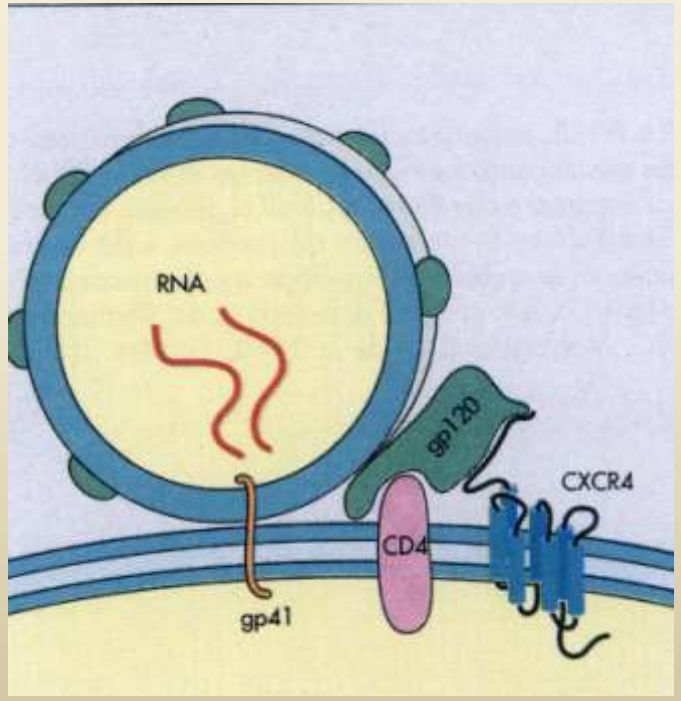
HIV: adsorbimento e penetrazione

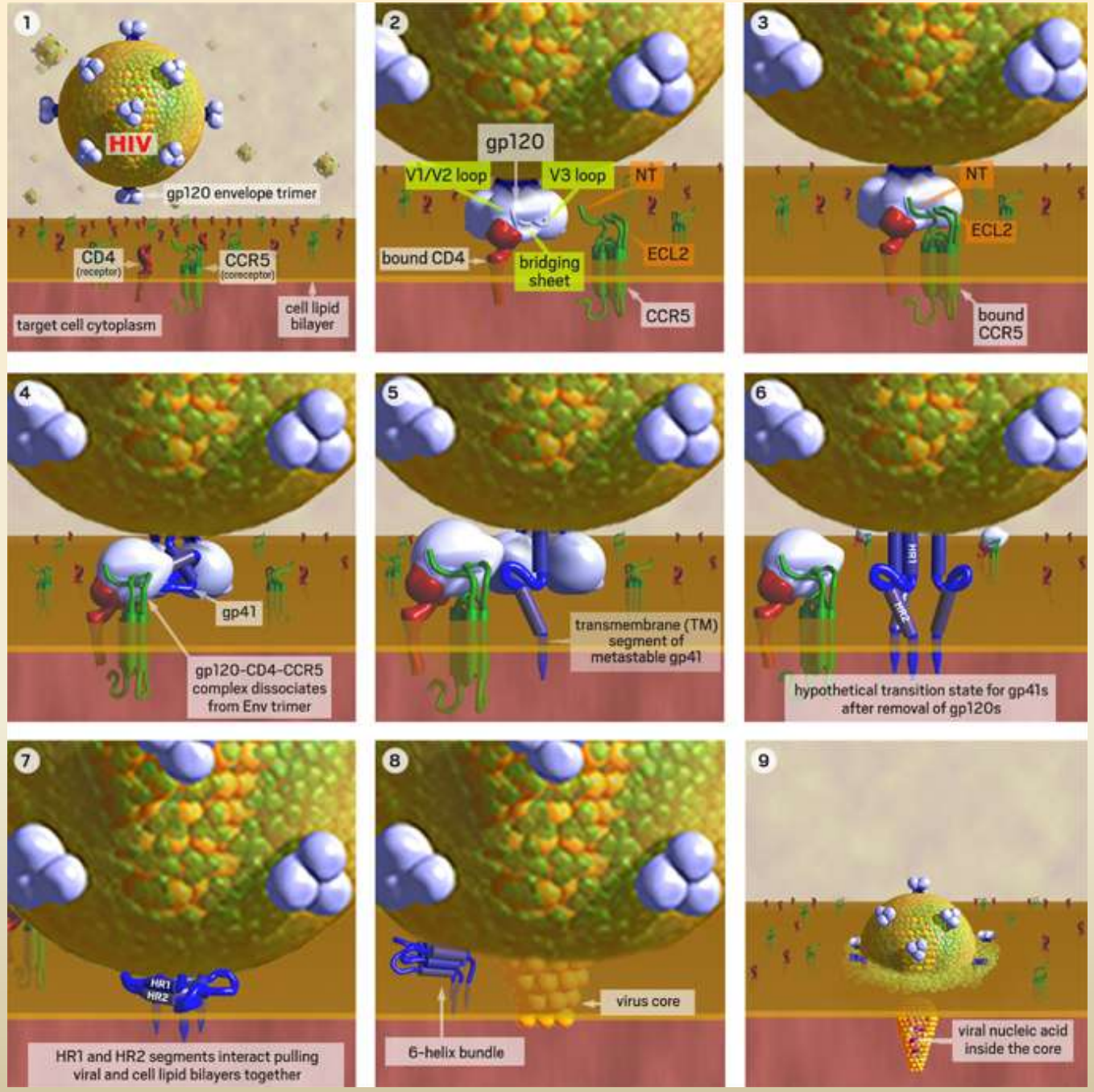
1) gp120 lega il CD4 (presente su Th, monociti) → cambiamento conformazione → esposizione sito di gp120 (V3 loop) che lega il corecettore (tropismo) → legame al corecettore virale (recettore per chemiochine), CCR5 o CXCR4 → Il legame combinato col CD4 ed il corecettore induce in gp41un cambio di conformazione, che espone un dominio fusogeno idrofobico (2).

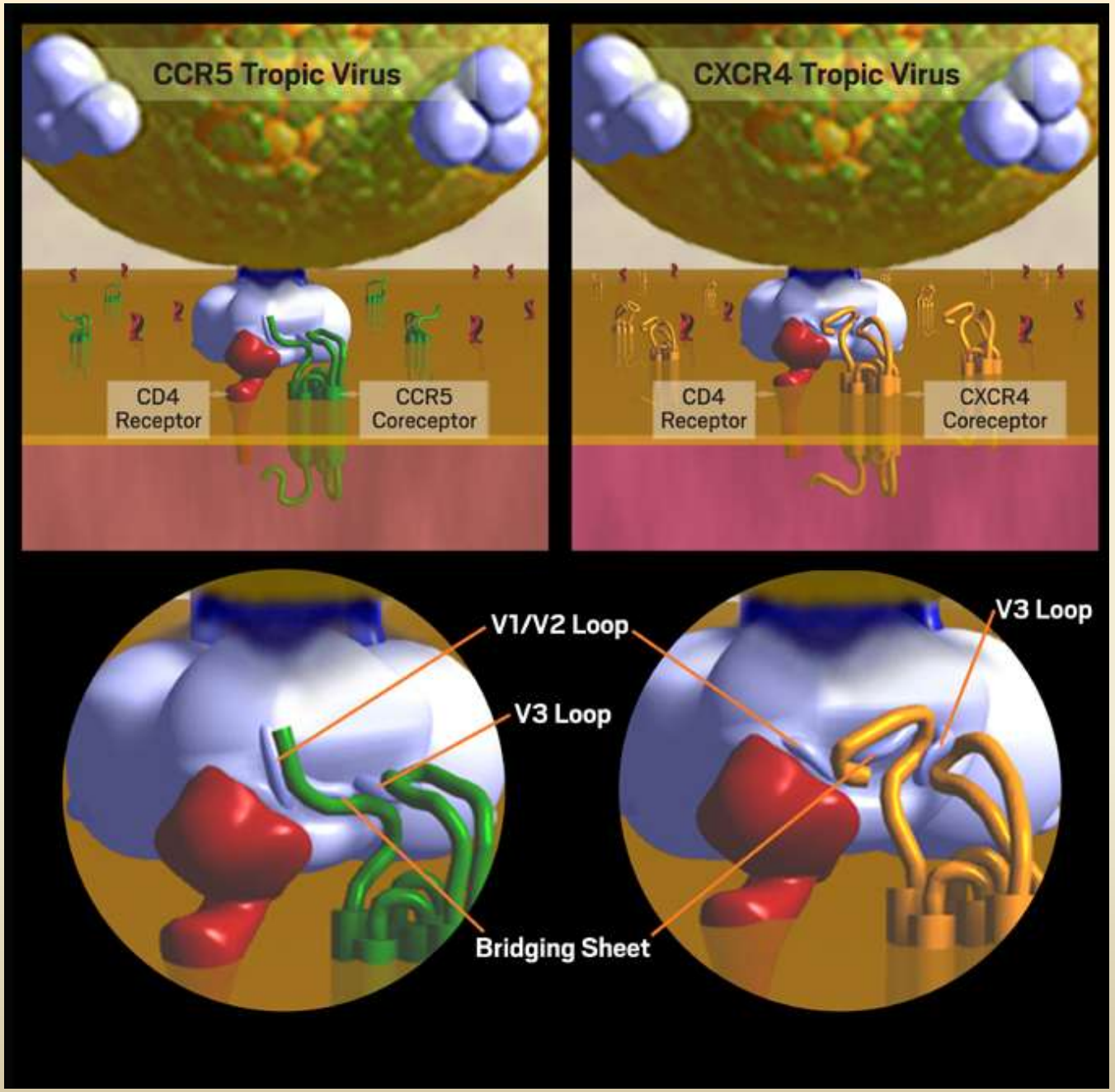
1)



2)




1
HIV
gp120 envelope trimer
CD4
(receptor)
CCR5
(coreceptor)
target cell cytoplasm
cell lipid
bilayer
2
gp120
V1/V2 loop
V3 loop
NT
bound CD4
bridging
sheet
ECL2
CCR5
3
NT
ECL2
bound
CCR5
4
gp41
gp120-CD4-CCR5
complex dissociates
from Env trimer
5
transmembrane (TM)
segment of
metastable gp41
6
HR1
HR2
hypothetical transition state for gp41s
after removal of gp120s
7
HR1
HR2
HR1 and HR2 segments interact pulling
viral and cell lipid bilayers together
8
virus core
6-helix bundle
9
viral nucleic acid
inside the core


CCR5 Tropic Virus
CD4 Receptor
CCR5 Coreceptor
CXCR4 Tropic Virus
CD4 Receptor
CXCR4 Coreceptor
V1/V2 Loop
V3 Loop
Bridging Sheet
V3 Loop

HIV: corecettori

Appartengono alla famiglia di recettori per le CK (= piccole molecole chemiotattiche che attraggono linfociti T e macrofagi e promuovono le risposte infiammatorie).

CCR5: recettore che si trova su DC, macrofagi e linf T. E' utilizzato da ceppi mono(macrofago)-tropici di HIV. Questi ceppi, chiamati R5, sono prevalenti nei primi stadi dell'infezione. I ligandi naturali di CCR5 (RANTES, MIP-1-α, MIP-1-β) possono bloccare l'infezione di HIV (competizione da binding).

CXCR4: usato da ceppi linfo-tropici di HIV-1 (=ceppi che infettano solo linfociti T). I ceppi X4 compaiono più tardi nel corso dell'infezione, sono più citopatici, inducono la formazione di sincizi cellulari.

Altri corecettori: altri corecettori (CCR2b, CCR8, APJ, STRL33, GPR15), molto meno importanti di CCR5 e CXCR4, mediano il legame di HIV ad altri tipi cellulari. CCR3 sembra importante nell'infezione della microglia.
Le DC legano HIV tramite il recettore DC-SIGN, che lega HIV e lo mantiene in una forma infettante stabile, per trasmetterlo successivamente alle cellule T.

Importanza dei corecettori

Alcuni individui resistenti a HIV (esposti ripetutamente in condizioni di alto rischio, ma che non si sono mai infettati) producono alti livelli di CK (interferenza con binding di HIV?) o hanno alleli di CCR5 mutati (che non funzionano da corecettori).
(Dean et al. Science 273:1856, 1996; Samson et al., Nature 382:722, 1996)

CCR5Δ32: Delezione di 32 basi nel gene di CCR5, che causa frameshift e produzione di una proteina tronca. Gli eterozigoti Δ32 (10% della popolazione caucasica) hanno una progressione più lenta. Gli omozigoti Δ32 (1%) sono resistente all'infezione con ceppi R5.

CCR5P1: altra variante di CCR5 che invece accelera la progressione dell'AIDS (Martin et al., Science 282.1907, 1998)

La possibilità di impedire al virus di accedere al corecettore potrebbe avere importanti implicazioni terapeutiche.
Es: Trapianto di staminali Δ32 ha impedito riattivazioni virali in un paziente trattato (NEJM 2009)

HIV: entry

HIV infetta PREFERENZIALMENTE le cellule che hanno il CD4, ma può infettare anche altri tipi cellulari, utilizzando diversi recettori (CCR2b, CCR3, APJ, DC-SIGN, ecc)

HIV può inoltre infettare anche mediante meccanismi indiretti:

1) gp41 è un forte agente sinciziogeno: la cellula infettata "matura" presenta gp41 sulla membrana plasmatica ⇒ in questa fase si può fondere con una cellula vicina ⇒ questa si infetta, anche se è CD4 negativa.

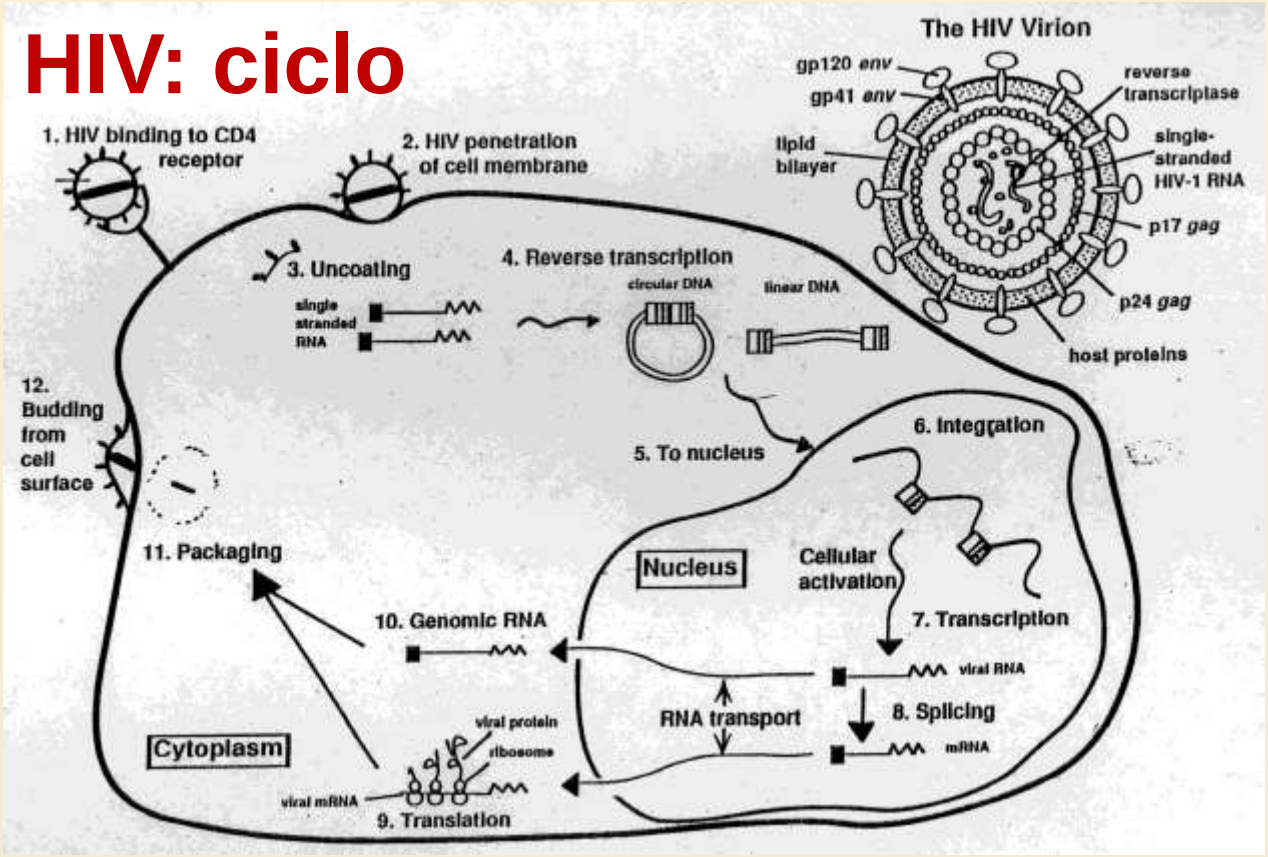
2) HIV può adsorbirsi "indirettamente" a tutte le cellule che hanno il recettore per il frammento Fc delle immunoglobuline (es macrofagi, monociti) ⇒ legano il complesso HIV-ATC specifico ⇒ un meccanismo di difesa risulta in una ulteriore infezione (ADE).
Scimpanzè inoculati prima con IgG umane anti-HIV, poi con HIV sviluppano alti livelli di replicazione virale PRIMA dei controlli infettati ma non immunizzati.

HIV: ciclo

3) Rilascio core nel citoplasma; **parziale uncoating**

4) l'RNA virale viene retrotrascritto (**RT**) in dsDNA lineare. La retro-trascrizione produce le LTR del DNA

5) Il **complesso core-DNA passa nel nucleo** (non riesce a diffondere attraverso i pori nucleari, ha bisogno di un trasporto attivo - dipende dalla presenza di segnali di localizzazione nucleare presenti in Matrice e Vpr)



6) Integrazione DNA lineare, mediante integrasi e LTR: diviene parte del cromosoma.

7-10) Trascrizione RNA virale nel nucleo, dal provirus integrato, diretta da LTR.

11) Assemblaggio, maturazione delle particelle (la proteina immatura gag/pol deve essere tagliata da una proteasi virale) ed uscita per lisi o gemmazione.

La replicazione produttiva avviene solo in cellule attivate.
Altrimenti il virus resta silente anche per anni.

HIV: cycle

http://www.youtube.com/watch?v=RO8MP3wMvqg

Enzimi di HIV

Pol codifica 3 enzimi, tutti indispensabili per la replicazione:

✓ **Proteasi:** enzima dimerico che taglia specificatamente Gag-Pol. Studi strutturali e cristallografici hanno permesso di stabilire la specificità del sito di taglio.

✓ **RT/RNAsi H:** **RT**=DNA pol RNA dip, sintetizza DNA da stampo di RNA; non ha capacità di "proofreading" (correzione degli errori durante la sintesi del DNA) → associata ad elevato tasso di mutazioni. **RNasi H** degrada l'RNA dell'ibrido RNA:DNA.

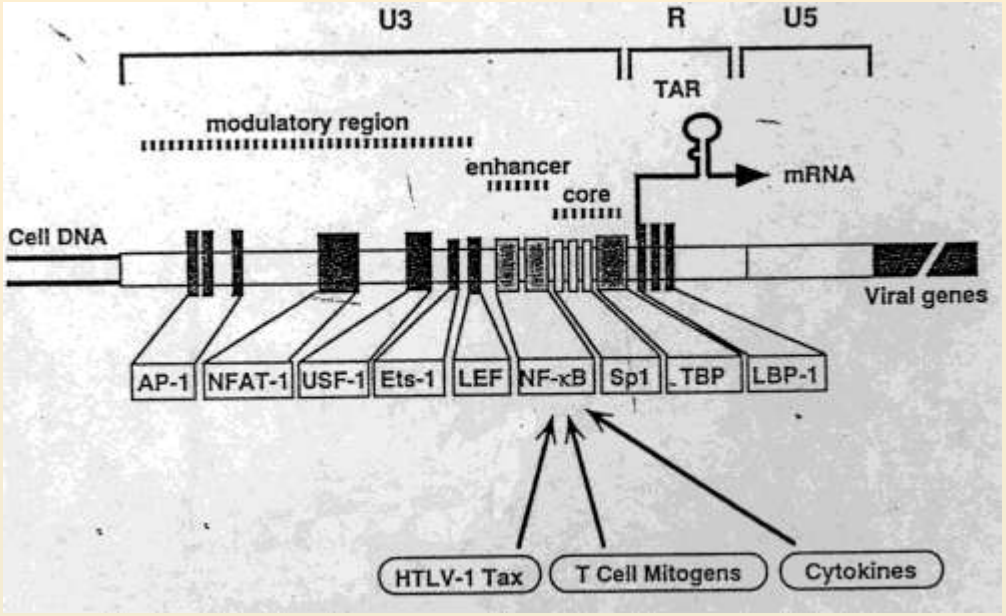
✓ **Integrasi:** catalizza l'inserzione del DNA lineare a doppia elica di HIV nel cromosoma cellulare, tappa obbligatoria nel ciclo di HIV.

Sono prodotti per taglio da un precursore più grande (poliproteina Gag-Pol): p160gag-pol ha attività autoproteolitica.

Costituiscono un *importante bersaglio* per i farmaci antivirali.

HIV: trascrizione

La trascrizione è diretta da LTR.



LTR comprende:

✓ **promotore TATA box (core): lega RNA pol cellulare e proteine accessorie;**

✓ **enhancer region: binding per NFkB (upregola l'espressione di HIV in risposta a vari fattori, es. citochine e attivazione cellulare);**

✓ **modulatory region: binding per fattori cellulari che influenzano (negativamente) l'espressione di HIV**

✓ **TAR = sequenza cui si lega Tat per transattivare**

Tat e Rev: importanti regolatori dell'espressione virale

Prodotti da mRNA spliced.

Si legano a specifiche sequenze di RNA:
Tat a una struttura (TAR) presente all'inizio di tutti i trascritti virali
Rev a elementi (RRE) presenti in tutti i trascritti delle proteine strutturali

Tat aumenta l'efficienza della trascrizione: 1) aumenta il numero di molecole di RNA polimerasi che si legano al promotore; 2) aumenta l'efficienza di elongazione della trascrizione (senza Tat i trascritti terminano prematuramente)

Rev regola lo splice ed il trasporto dell'RNA: trasporta l'RNA fuori dal nucleo (senza Rev gli RNA non escono dal nucleo); favorisce la produzione di proteine strutturali (che hanno RRE e sono tradotte da RNA non spliced); inibisce lo splice (i transattivatori sono tradotti da RNA spliced) → regola fase early e late.

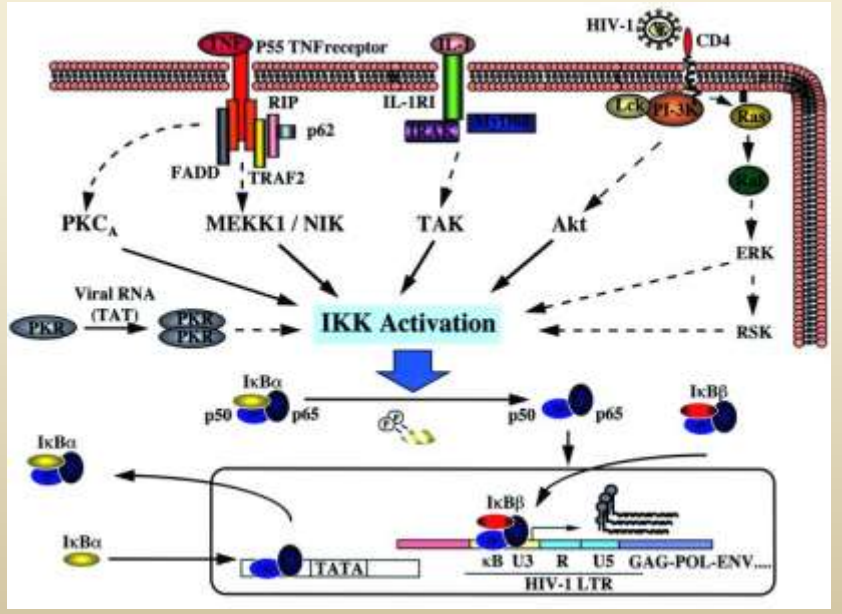
Sia TAT che REV richiedono per la loro azione dei cofattori cellulari

HIV: infezione

Procede in 2 diversi modi:
1) se la cellula è attivata, l'infezione acuta da HIV procede rapidamente e causa la lisi.
2) se HIV infetta una cellula resting, il provirus rimanere inattivo finchè l'attivazione cellulare attiva anche il ciclo virale.

La maggior parte di cellule T e macrofagi sono normalmente quiescenti: **HIV cresce liticamente solo in linfociti T attivati**, e il DNA virale persiste nei linfociti a riposo ⇒ **I segnali di attivazione dei linfociti risultano anche nella conversione da infezione "latente" a infezione produttiva**.

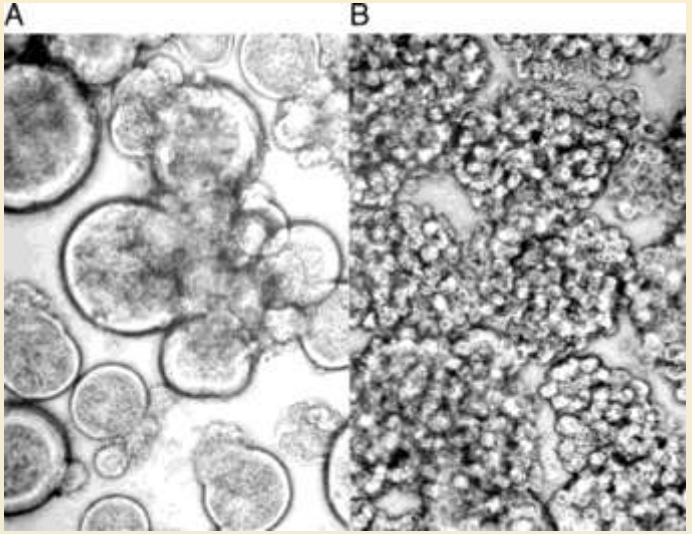
I meccanismi molecolari non sono del tutto chiariti: le sequenze promotrici dell'**LTR** possono legare (ed essere attivate da) numerosi **fattori cellulari**, che la cellula normalmente usa per attivare la trascrizione dei propri geni, e che vengono prodotti in risposta a vari stimoli (citochine, ecc.). Uno dei meccanismi proposti è incentrato sulla attivazione di **NFkB** (J Clin Invest 2001).



HIV: patogenesi

L'infezione da HIV produce il danno (immunodeficienza) con diversi meccanismi diretti e indiretti:

1) **Lisi cellulare diretta = replicazione di HIV (~10^{11} virioni/giorno) mentre vengono prodotti ~10^{9} linf T CD4+/giorno. Inoltre gp120 liberata da cell infettate induce apoptosi sia in CD4 che in cellule progenitrici emopoietiche.**
2) **Lisi indiretta = ad opera di NK o CTL su cellule infettate che presentano antigeni virali.**
3) **Cavallo di Troia = la capacità di replicare nei monociti gli consente di sfuggire al riconoscimento del SI**



4) **Latenza = HIV non ha una vera latenza (come invece gli HSV), ma controlla il grado di espressione del genoma mediante le proteine regolatorie (Tat, Rev).**
5) **Variazione antigenica = compaiono continuamente nuove varianti ⇒ aumento del carico virale ⇒ "sovraccarico" di antigeni e conseguente collasso del SI oppure elusione risposte mediante comparsa di nuovi Ag che il SI non riconosce.**

HIV: variabilità antigenica

La variabilità è dovuta *all'alta frequenza di errori* da parte della RT: le polimerasi hanno attività in grado di riconoscere e correggere errori di incorporazione avvenuti durante la sintesi ("proofreading"): RT non ha tale attività, e sbaglia con una frequenza molto elevata, ad ogni ciclo replicativo viene sbagliato >1 nt/1000 (10^{-3})!
NB – Il tasso mutazione normale è 10^{-8}-10^{-6}; negli altri virus animali con elevata frequenza di mutazione è ~10^{-5}.

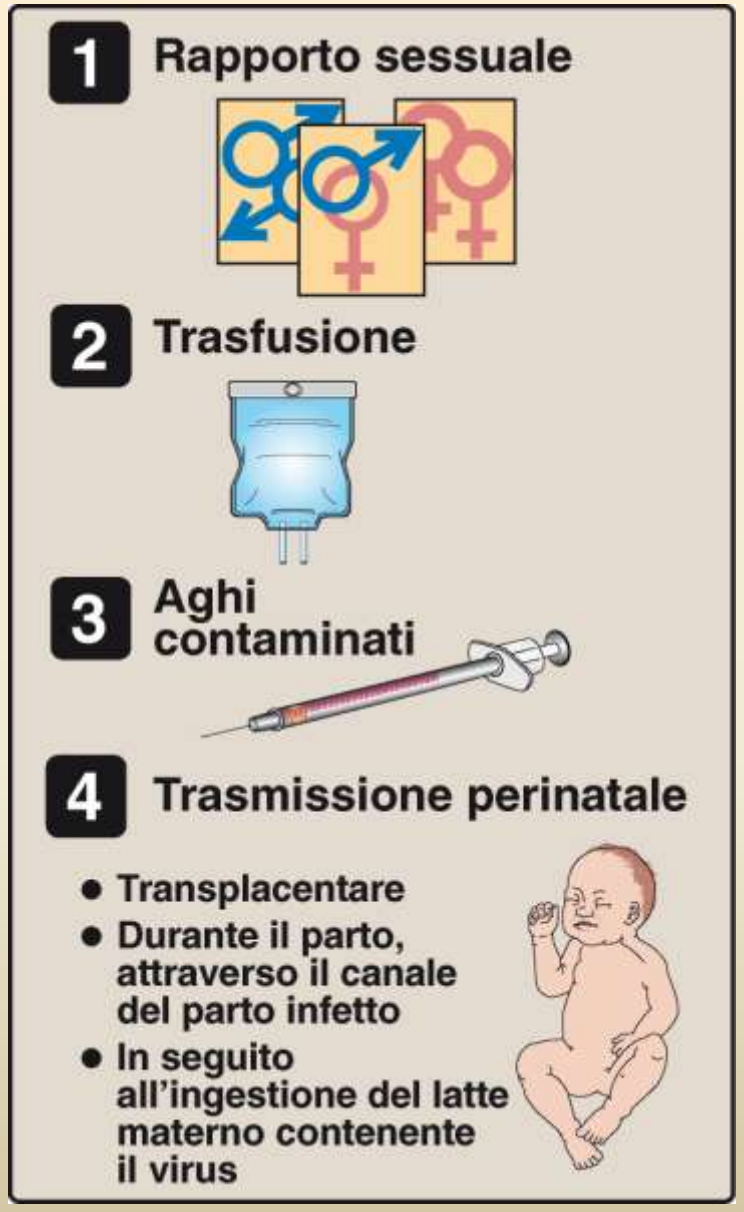
Particolarmente soggetto a variabilità è il gene *env* (glicoproteine dell'inviluppo): epitopi che reagiscono con Ab neutralizzanti ⇒ elusione della risposta immune ⇒ IMPORTANTI RIFLESSI SU VACCINO E DECORSO MALATTIA!

Inoltre, HIV in vivo replica in 2.6 giorni, cioè ~140 volte in un anno, ed ogni cellula infettata produttivamente produce ~10^3 virioni !

Le varianti sono diverse a livello Ag, di tropismo cellulare, di virulenza.

Ceppi virali isolati da diversi individui sono diversi, inoltre anche in uno stesso individuo possono essere isolati ceppi diversi: nel corso di 2 anni da uno stesso paziente sono state isolate fino a 30 varianti diverse!

HIV: modalità trasmissione



La trasmissione avviene in genere con una delle 4 modalità seguenti:

1. **Sessuale**
2. **Trasfusioni**
3. **Aghi contaminati**
4. **Perinatale**

TRASMISSIONE e RISCHIO

1. Trasmissione attraverso il sangue

Screening unità sangue: introdotto in Italia nel 1985. Attualmente si stimano 1-2 probabilità di contagio su 100.000 trasfusioni (periodo "finestra", prima che si sviluppi la risposta anticorpale).
Modalità di contagio responsabile della diffusione nei tossicodipendenti (è la categoria più frequentemente infettata da HIV): nelle siringhe usate dai tossicodipendenti rimangono circa 34 μl di sangue; tale quantità viene inoculata in caso di riutilizzo della siringa → Infezione molto probabile. La quantità di sangue che può contaminare la punta di un ago è 100 volte minore, quindi minore probabilità di contagio per puntura accidentale (in tutto il mondo poche centinaia di casi di contagio in ambiente sanitario).

2. Trasmissione sessuale

Il rischio di contagio per un singolo rapporto con una persona infetta è stimato fra 1:100 e 1:500, aumenta se sono presenti lesioni genitali ulcerative o malattie infiammatorie.

3. Trasmissione verticale

Tutti i bambini nati da madri sieropositive hanno Ab anti HIV (trasferimento passivo Ab materni attraverso la placenta).
La trasmissione madre infetta → figlio si verifica nel 20% dei casi, ma può essere sensibilmente diminuita con appropriati trattamenti durante la gravidanza. Possibile anche la trasmissione col latte (anche se più rara).

Altre modalità di trasmissione: NON dimostrate

HIV non si trasmette con sudore, saliva, lacrime, urine.

HIV è stato raramente isolato da questi fluidi, ma non si è MAI verificato un caso certo di contagio.

Saliva: HIV a volte presente, ma la saliva ne inibisce la replicazione.

Respirazione bocca a bocca su pazienti con AIDS, nessuna infezione.

Non esistono rischi di infezione nell'ambiente familiare, scolastico, lavorativo.

Non si trasmette mediante l'uso di stoviglie, asciugamani e sanitari.

HIV non viene trasmesso da punture di insetti

Quando un insetto punge una persona, non inietta sangue, né suo né della vittima precedente. Invece, inietta la propria saliva (ed infatti febbre gialla, malaria, ecc. sono trasmesse dalla saliva di particolari zanzare infettate).

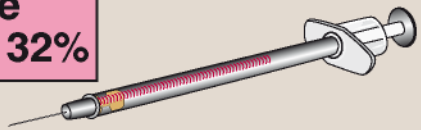
HIV sopravvive pochissimo tempo nel corpo di un insetto.

HIV non replica negli insetti.

A Negli Stati Uniti

Rapporto omosessuale 51%

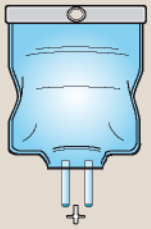
Uso di droghe per iniezione 32%



Rapporto eterosessuale 8%

Altro 8%

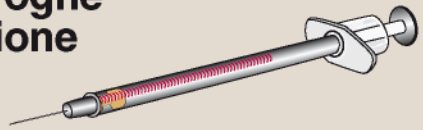
Trasfusioni di sangue < 1%



B Nel mondo

Rapporto omosessuale 5-10%

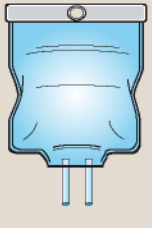
Uso di droghe per iniezione 5-10%



Rapporto eterosessuale 70-75%

Altro 0-17%

Trasfusioni di sangue 3-5%



HIV: patogenesi AIDS

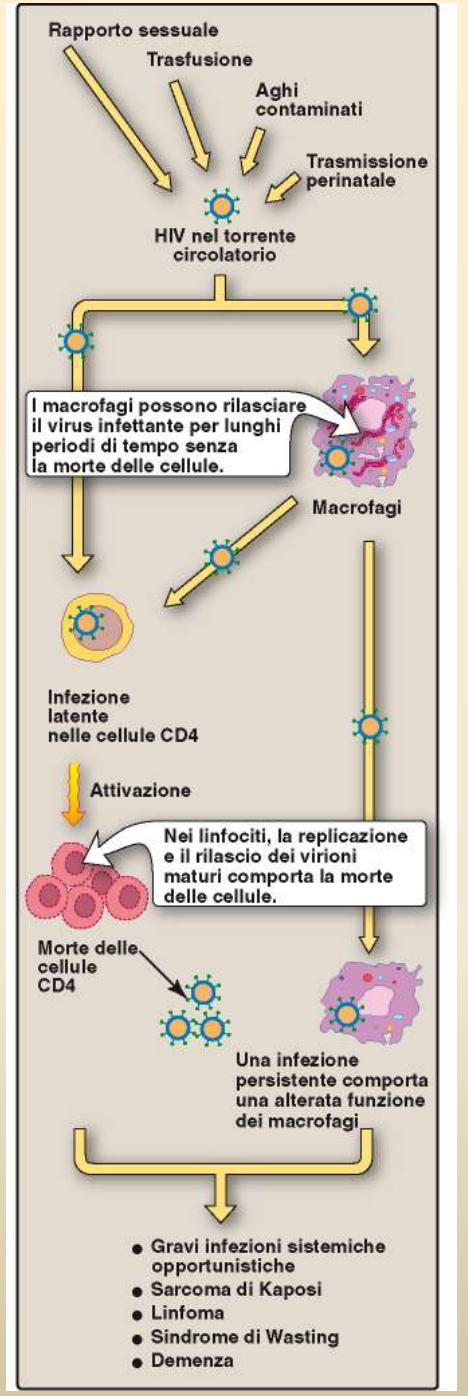
Si distinguono le seguenti fasi:

1. **INFEZIONE INIZIALE**
2. **VIREMIA DELLA FASE ACUTA**
3. **PERIODO DI LATENZA**
4. **COMPLICANZE CLINICHE DURANTE LA LATENZA**
5. **PROGRESSIONE IN AIDS**
6. **AIDS STADIO TERMINALE: diffusione HIV, infezioni opportunistiche, neoplasie associate ad AIDS**

INFEZIONE INIZIALE. Quando si contrae HIV di solito le prime cellule a essere infettate sono i macrofagi residenti (es: del tratto genitale). Da qui HIV diffonde per via ematica localizzandosi nelle cellule dendritiche di tutto il tessuto linfatico. Da qui infetta i linfociti CD4+ , muovendosi attraverso i centri germinali dei linfonodi (reservoir nel tessuto linfatico)

VIREMIA FASE ACUTA. Dopo qualche settimana il 30-60% dei soggetti ha un quadro clinico da malattia acuta simile alla mononucleosi infettiva: HIV replica attivamente nelle cellule CD4+, viremia alta. Dopo 1-10 settimane si ha sieroconversione.

PERIODO DI LATENZA. La viremia acuta si riduce per la comparsa dei CTL, seguita da risposta Ab. Questa risposta immune fa si che ci sia un periodo clinicamente asintomatico o "latente" (mesi o anni), durante il quale il 90% di HIV provirus è silente. Il 10% produce virus (piccoli picchi viremici). La riduzione dei CD4+ è molto lenta e la risposta dell'ospite è ancora capace di mantenere livelli bassi di virus. Ogni giorno vengono prodotti 10^{11} virioni e 10^{9} cellule T CD4+.



COMPLICAZIONI CLINICHE durante il periodo di LATENZA. Durante questo periodo (in media 10 anni) si osservano linfadenopatia, diarrea, febbre persistente, sudorazione, perdita di peso. Possono comparire infezioni opportunistiche, soprattutto Herpes zoster e Candidosi. Il n° di CD4+ resta normale o si riduce poco, restando sempre al di sopra di 200/µl.

PROGRESSIONE ad AIDS. La progressione non è repentina, ma è un continuum di espressioni cliniche, e la velocità con cui si verifica dipende dai cambiamenti virali e immunologici. La replicazione può essere scatenata da qualsiasi stimolo che attivi i linfociti T CD4+. Il virus nel frattempo muta e diventa più aggressivo.

AIDS nello STADIO TERMINALE. Quando il n° di linf T CD4+ scende sotto 200/µl si parla di AIDS conclamato. Quasi tutti i sistemi corporei possono essere coinvolti dall'infezione, sia per l'azione del virus stesso che per l'azione di microrganismi opportunisti.

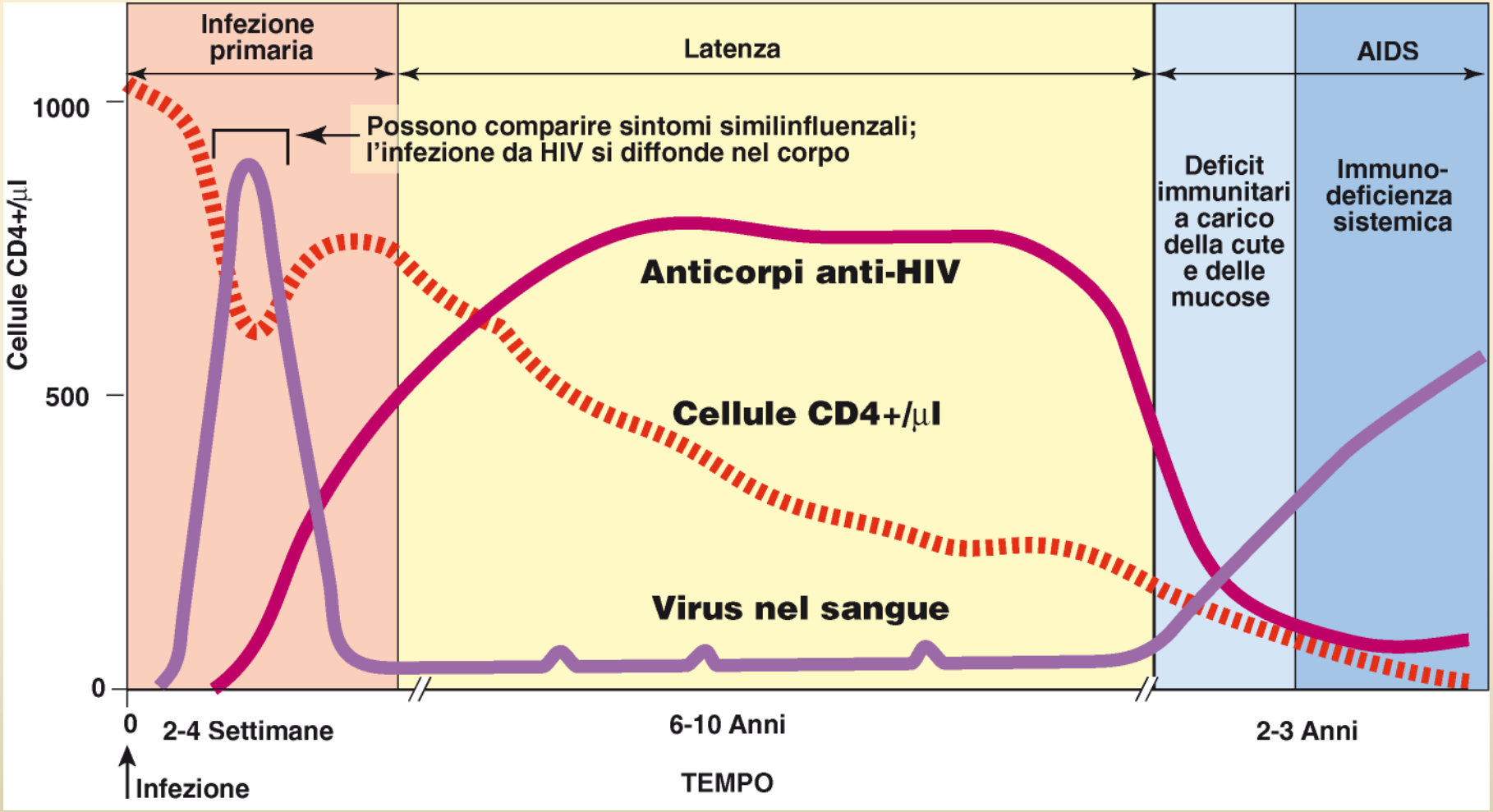
AIDS si sviluppa quando il n° di linfociti T CD4+ < 200 cell/μl

Dal momento dell'infezione primaria allo sviluppo di AIDS non c'è una vera latenza virale, perchè il paziente è sempre infettante, HIV si replica a bassi livelli ed il n° di linfociti CD4 diminuisce progressivamente.

In media l'AIDS si sviluppa 10-12 anni dopo l'infezione.
Perchè il periodo di incubazione dell'AIDS è così lungo?
L'attivazione di HIV è associata alla stimolazione dei linfociti CD4+.

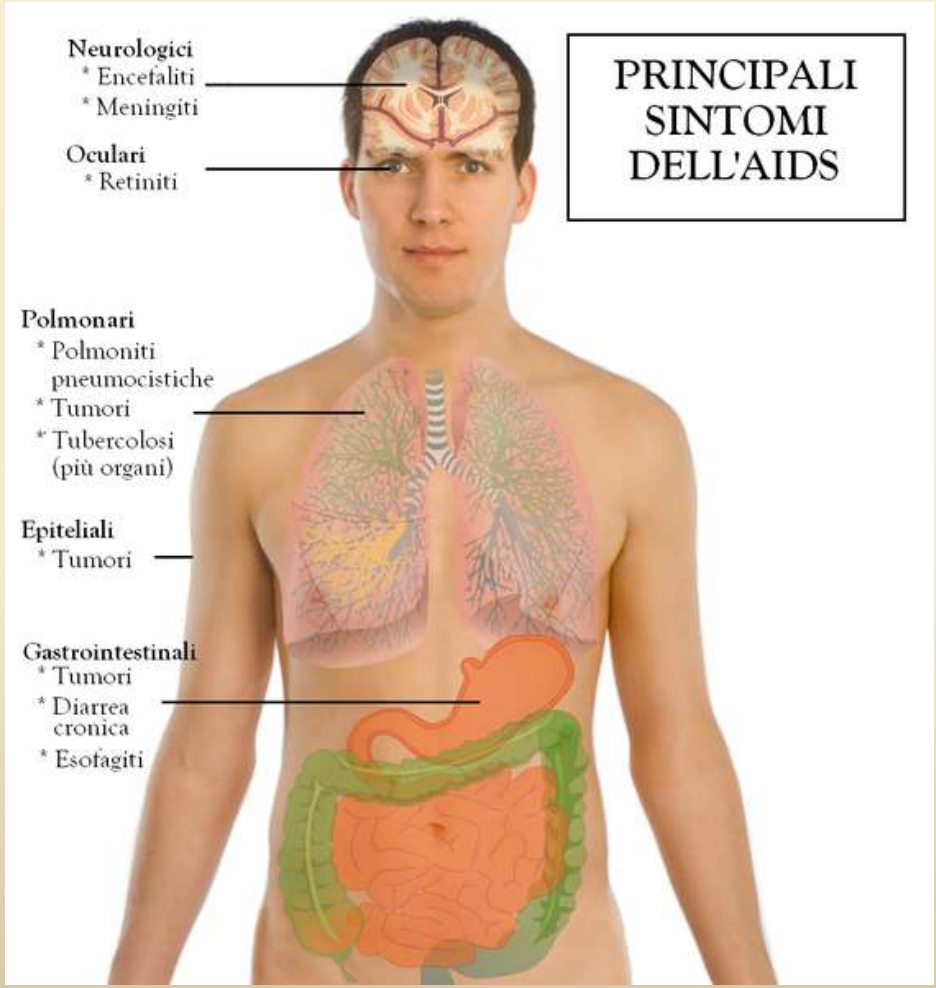
HIV si replica solo in cellule T CD4+ in fase di divisione. Le cellule T circolanti nel sangue si dividono solo quando sono stimolate dall'unico Ag che ciascuna di loro riconosce. Probabilmente molte cellule T non si dividono mai durante la nostra vita, perché non incontrano il "loro" Ag. HIV quindi rimarrà latente nella cellula T specifica per l'Ag "X" finchè essa non incontra l'Ag "X". Il linfocita T si attiva, HIV replica, la cellula muore.
La progenie virale può infettare altre cellule T ed il ciclo si ripete.
Il tempo necessario per portare il n° di CD4 entro i limiti dell'AIDS dipende quindi dal tempo che passa prima che le cellule T infettate giungano a contatto con gli antigeni specifici.

HIV: decorso malattia



AIDS nello STADIO TERMINALE caratterizzato da:

1. Diffusione HIV ad altri siti corporei
2. Infezioni opportunistiche
3. Neoplasie



1. Diffusione ad altre sedi

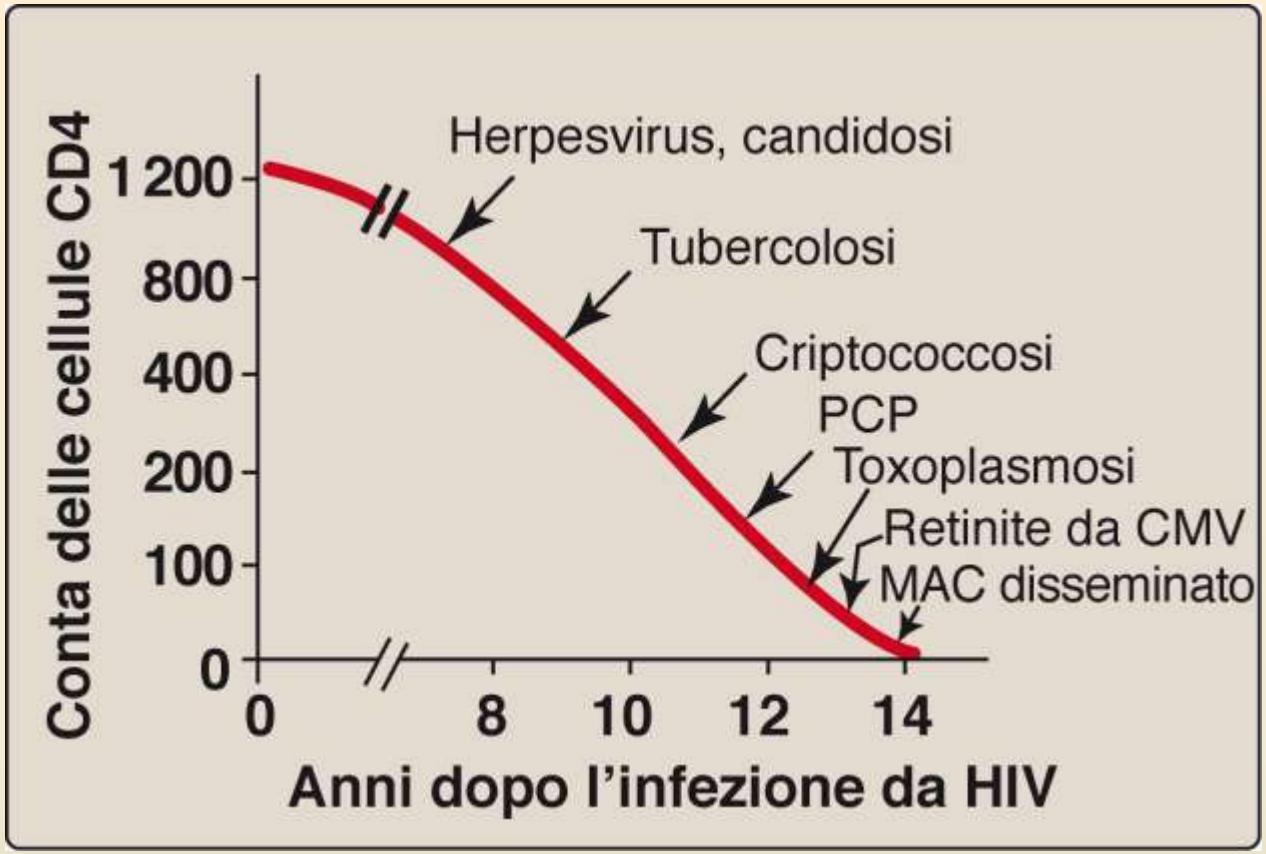
HIV può infettare i monocito-macrofagi, che non sono uccise e possono trasportare il virus ad altri organi, es:

- Cervello, encefalopatia/demenza associata ad AIDS.

- Occhio, ischemia della retina.

- Progenitori delle cellule ematiche nel midollo osseo, anemia osservata nella >parte dei pazienti affetti da AIDS.

2. Infezioni opportunistiche

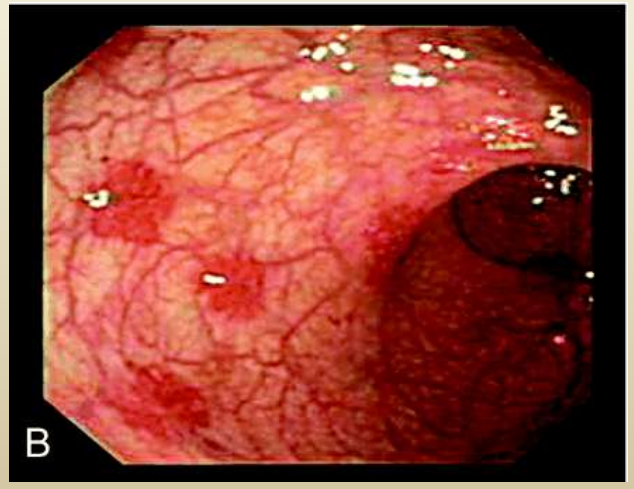


PCP = polmonite da Pneumocystis carinii
MAC = complesso da Mycobcterium avium

Quando il n° di CD4+ si riduce, iniziano a manifestarsi frequenti infezioni da funghi, batteri e virus.
SNC può essere infettato da *Toxoplasma*, *Cryptococcus*, *virus JC* e *Mycobacterium*.
Oltre a HIV, l'occhio è spesso infettato da *CMV*.
Polmoni: molto comuni i *micobatteri* (30% muore per tubercolosi).

3. Neoplasie associate ad AIDS

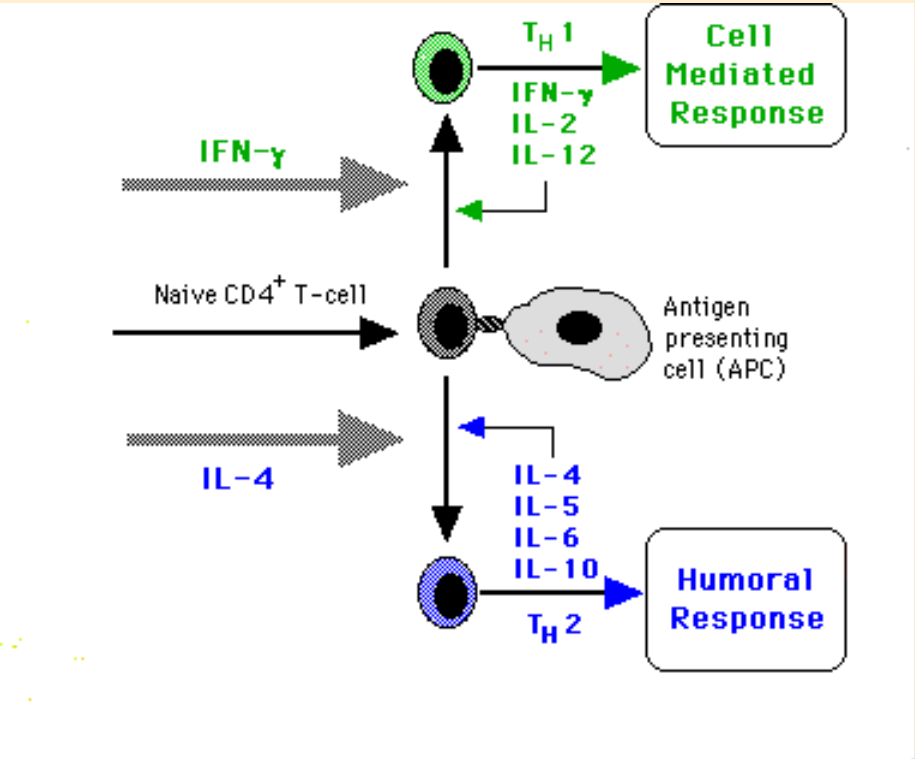
Nei pazienti AIDS si riscontrano numerose neoplasie. La più frequente è il Sarcoma di Kaposi (cute, mucose e visceri). Comuni anche linfomi, soprattutto cerebrali. Molte delle neoplasie associate ad AIDS sono associate ad HHV-8.



Switch Th1/Th2

Le cellule CD4 possono assumere diversi profili di secrezione di citochine:

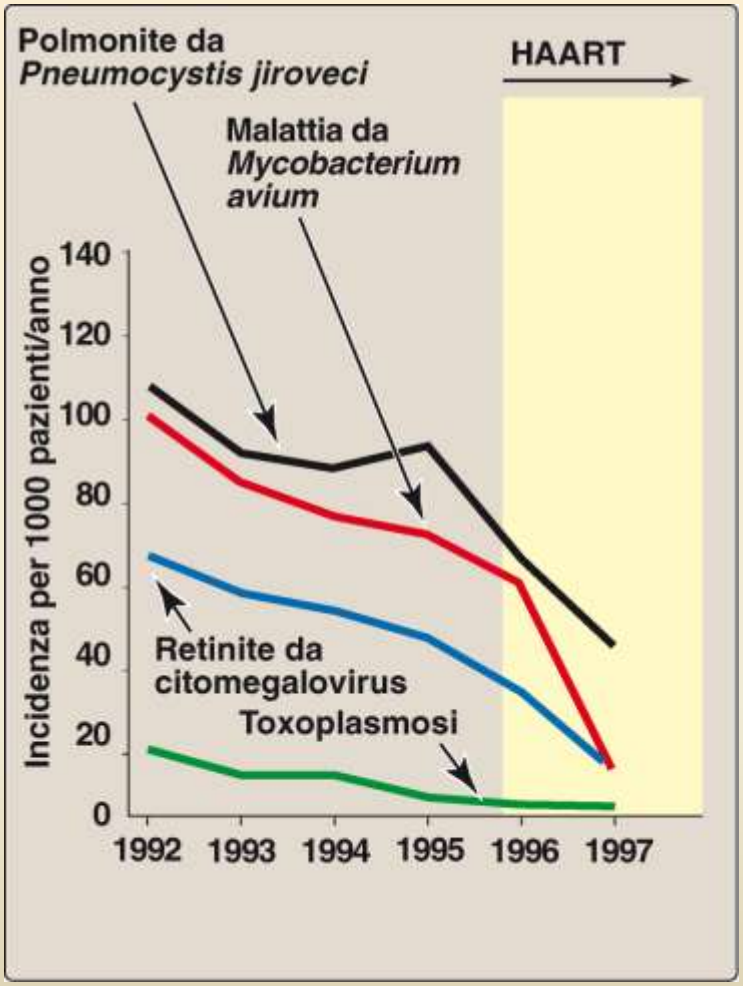
Th1: produzione IL-2, TNF-β, IFN-γ; indotto da IL-12. Citochine Th1 facilitano la risposta immunitaria cellulo-mediata.



Th2: produzione di IL-4, IL-5, IL-6, IL-13; indotto da IL-10. Citochine Th2 mediano la risposta umorale.

Nei primi stadi dell'infezione predomina nei pazienti la risposta Th1, che controlla efficacemente il virus. Durante la progressione ad AIDS, c'è uno switch da Th1 a Th2: la risposta Th2 non controlla efficacemente la replicazione virale, e sembra che HIV prediliga replicarsi in Th2.

HIV: terapia



Effetto dell'HAART sull'incidenza di infezioni opportunistiche

Year approved	Generic name	Manufacturer
NRTIs (nucleoside reverse transcriptase inhibitors)		
1987	Zidovudine (AZT)	GSK
1991	Didanosine (ddI)	BMS
1992	Zalcitibine (ddC)	Roche
1994	Stavudine (d4T)	BMS
1995	Lamivudine (3TC)	GSK
1997	3TC + AZT	GSK
1998	Abacavir	GSK
2000	Abacavir + 3TC + AZT	GSK
2000	Didanosine	BMS
2001	Tenofovir	Gilead
2003	Emtricitabine (FTC)	Gilead
2004	Abacavir + 3TC	GSK
2004	FTC + Tenofovir	Gilead
NNRTIs (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors)		
1996	Nevirapine	Boehringer Ingelheim
1997	Delavirdine (DLV)	Pfizer
1998	Efavirenz	BMS, Merck
PIs (protease inhibitors)		
1995	Saquinavir	Roche
1996	Ritonavir	Abbott
1996	Indinavir (IDV)	Merck
1997	Nelfinavir	Pfizer
1997	Saquinavir Mesylate*	Roche
1999	Amprenavir*	GSK
2000	Lopinavir and Ritonavir	Abbott
2003	Atazanavir	BMS
2003	Fosamprenavir	GSK
2005	Timpranavir	Boehringer Ingelheim
Entry inhibitor		
2003	Enfuvirtide	Roche
2006	Darunavir	Tibotec

HIV: diagnosi

Indagini sierologiche: Ricerca degli Ab specifici nel siero. Compaiono circa 2-3 mesi dopo il contagio ("periodo finestra"). Metodi: ELISA e Western blot.
Prima si esegue ELISA, più semplice, meno costoso, adatto alla routine. In caso di positività ripetuta, conferma mediante Western blot.

Ricerca del virus: Ricerca di p24 (proteina del core) nel sangue: indica attiva replicazione virale (eseguita mediante test ELISA specifico).

Ricerca del genoma virale mediante PCR: si amplificano le sequenze di HIV. Sensibilità = 1 cellula infettata in 1.000.000 di cellule.

Applicazioni di PCR quantitativa consentono di determinare la carica virale, importante parametro che indica progressione di malattia, efficacia di trattamenti, ecc.

HIV: Vaccino

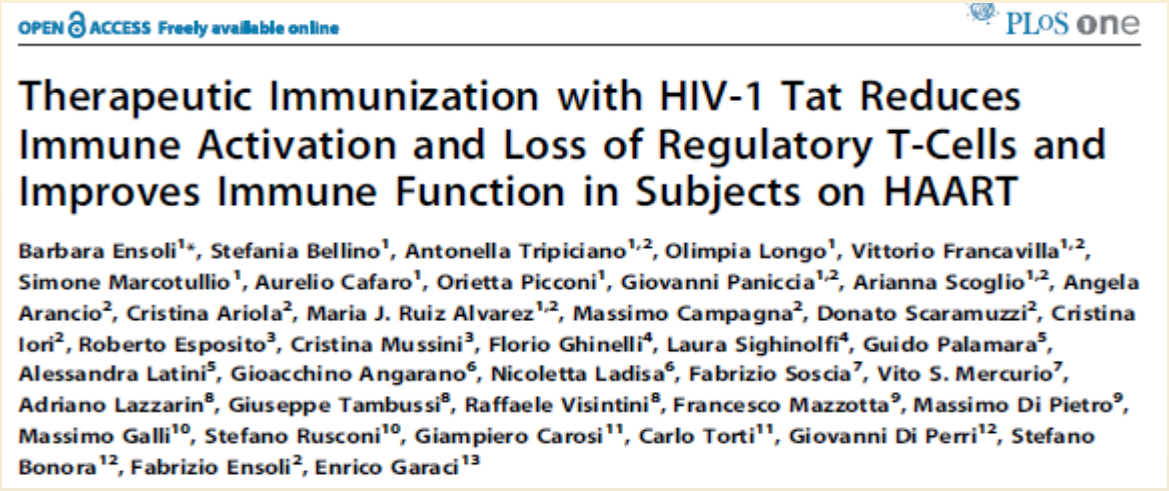
Investiti globalmente miliardi di €, ma senza successo.
Testati finora >30 candidati, ma tutti hanno avuto insuccesso.

Problemi allestimento vaccino HIV:

- **Biologia del virus e sue interazioni col SI molto complesse**
- **In seguito all'infezione, si stabilisce una energica reazione immune, che però non elimina il virus**
- **Le proteine virali alterano sensibilmente le risposte immuni**
- **Il provirus è integrato nel genoma cellulare**
- **L'infezione può passare direttamente da cellula a cellula, senza che il virus venga esposto**
- **HIV ha un elevato tasso di mutazione**
- **HIV infetta anche siti con bassissima sorveglianza immune (SNC)**
- **L'infezione altera la risposta**
- **Bisogna indurre il giusto equilibrio fra Th1 e Th2**

AL VIA IN SUDAFRICA LA SPERIMENTAZIONE DEL VACCINO TAT

L'Istituto Superiore di Sanità e il National Department of Health del Sudafrica annunciano oggi l'inizio in Sud Africa della Sperimentazione Clinica di Fase II (ISS T-003) del vaccino italiano basato sulla proteina Tat di HIV-1. *(19 aprile 2011)*



OPEN ACCESS Freely available online PLoS one

Therapeutic Immunization with HIV-1 Tat Reduces Immune Activation and Loss of Regulatory T-Cells and Improves Immune Function in Subjects on HAART

Barbara Ensoli[1]*, Stefania Bellino[1], Antonella Tripiciano[1,2], Olimpia Longo[1], Vittorio Francavilla[1,2], Simone Marcotullio[1], Aurelio Cafaro[1], Orietta Picconi[1], Giovanni Paniccia[1,2], Arianna Scoglio[1,2], Angela Arancio[2], Cristina Ariola[2], Maria J. Ruiz Alvarez[1,2], Massimo Campagna[2], Donato Scaramuzzi[2], Cristina Iori[2], Roberto Esposito[3], Cristina Mussini[3], Florio Ghinelli[4], Laura Sighinolfi[4], Guido Palamara[5], Alessandra Latini[5], Gioacchino Angarano[6], Nicoletta Ladisa[6], Fabrizio Soscia[7], Vito S. Mercurio[7], Adriano Lazzarin[8], Giuseppe Tambussi[8], Raffaele Visintini[8], Francesco Mazzotta[9], Massimo Di Pietro[9], Massimo Galli[10], Stefano Rusconi[10], Giampiero Carosi[11], Carlo Torti[11], Giovanni Di Perri[12], Stefano Bonora[12], Fabrizio Ensoli[2], Enrico Garaci[13]

(Novembre 2010)

…la vaccinazione terapeutica con la proteina Tat può rappresentare un nuovo e promettente approccio terapeutico in grado di ridurre le alterazioni immunologiche che persistono in corso di terapia farmacologica antiretrovirale, con conseguente beneficio clinico per le persone in trattamento con HAART.

AIDS: NOBEL OTTIMISTA SU VACCINO, PIU' VICINI DI QUANTO CREDIAMO = TERAPEUTICO PIU' PROBABILE CHE PREVENTIVO, ANDIAMO A SCUOLA DA PAZIENTI IMMUNI

F. Barrè-Sinoussi (ottobre 2010)

ANTIVIRALI ENDOGENI

Le nostre cellule producono sostanze che hanno azione antiretrovirale.

APOBEC3G è un enzima cellulare che viene incorporato nei virioni in formazione. Quando questi virioni infettano nuove cellule, APOBEC3G deamina le citosine nell'RNA e nella prima elica del DNA. Questo causa la formazione di residui di uracile, che causano l'incorporazione (sbagliata) di adenina, provocando estesa mutagenesi e virioni inattivi. *Vif* si oppone all'azione di APOBEC3G, favorendone le degradazione nei proteosomi. *(Retrovirology, 2004)*

TRIM5a invece si lega al capside e blocca la spoliazione e la retrotrascrizione. *(PNAS, 2006)*

TRIM22 inibisce la trascrizione dalla LTR di HIV, suggerendo che la sua azione possa mediare gli effetti antivirali dell'IFN *(PLOS Pathog, 2008)*

Possibili applicazioni terapeutiche?