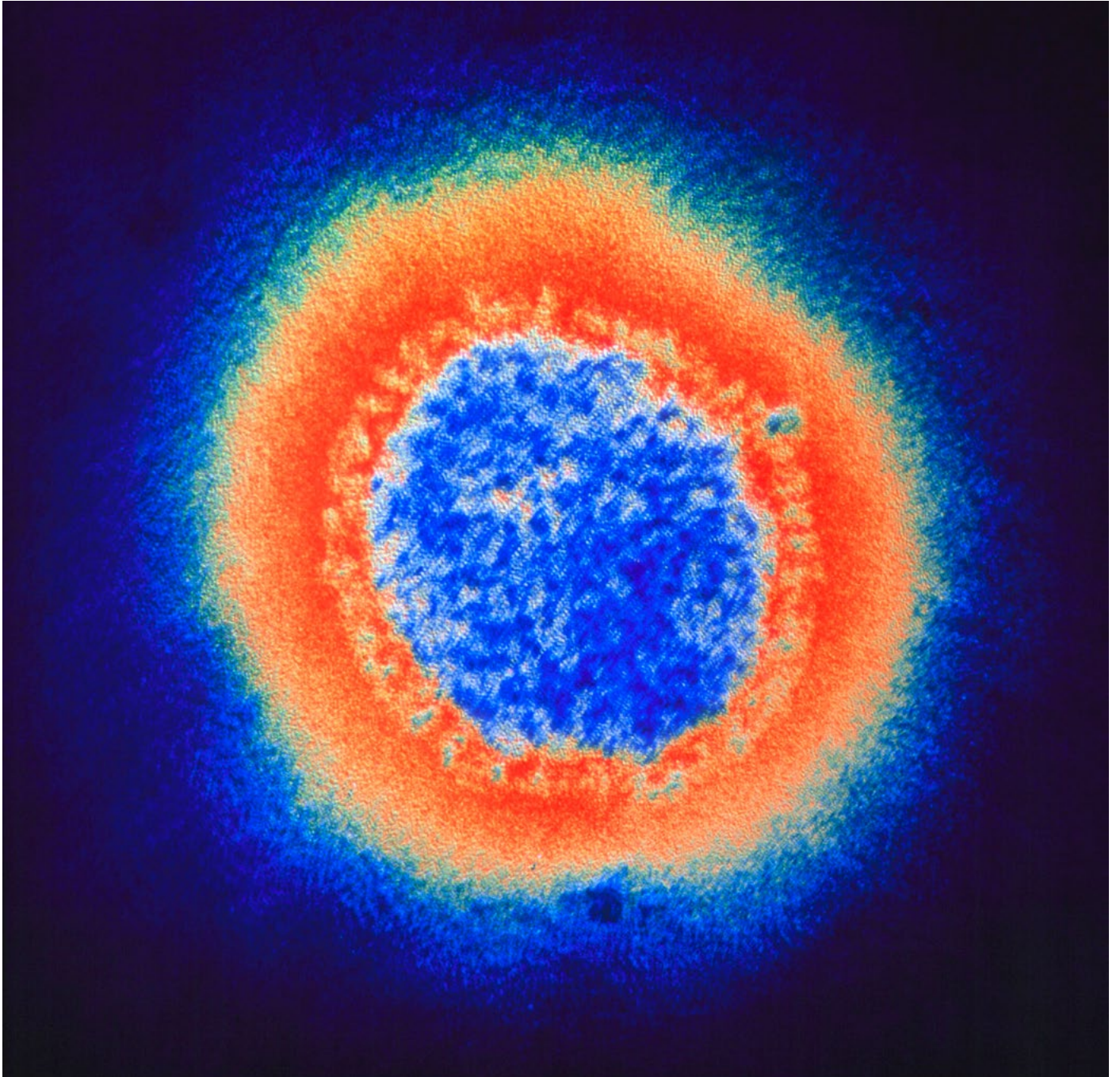


I quaderni
de **le Scienze**

N° 08 — Marzo 2019

edizione italiana di Scientific American



Virus

Dalla diffusione di malattie letali all'impatto sull'evoluzione della vita,
la doppia faccia di questi microrganismi

Sfidano l'idea stessa di vita, poiché non possono replicarsi in modo autonomo, ma solo in cellule viventi. Eppure i virus possono influire sul comportamento dei loro ospiti, come ha dimostrato l'epidemia da SARS-CoV-2, nome scientifico del coronavirus che dalla megalopoli cinese di Wuhan si è diffuso in tutto il globo. Non è il primo evento del genere, oggi però è possibile prevedere l'andamento nel tempo e nello spazio della trasmissione di una malattia e prendere misure adeguate. Anche perché gli scienziati studiano questi microscopici aggregati di involucri proteici e acidi nucleici sempre più in dettaglio, cercando di rubarne i segreti. L'impatto dei virus sulla vita, però, non si ferma solo al loro potenziale patogeno. Dal punto di vista genetico sono portatori di novità. In altre parole, hanno un ruolo sull'evoluzione degli organismi viventi. Una doppia faccia che affascina e inquieta allo stesso tempo

Indice

- 3** I virus sono vivi?
di Luis P. Villarreal
- 11** L'antichissima origine dei retrovirus
- 12** Pandoravirus, i giganti che scuotono l'albero della vita
- 14** L'origine composita dei virus giganti
- 15** La vita sociale segreta dei virus
di Viviane Callier
- 18** La replicazione alternativa dei virus che sparpagliano il genoma
di Viviane Callier
- 21** Virus e immunità
di Alberto Mantovani
- 25** I fattori virali che facilitano il contagio tra esseri umani
- 26** Una mappa dei virus che possono passare dai mammiferi all'uomo
- 27** La minaccia dei coronavirus, dal raffreddore alla polmonite
di Simon Makin
- 31** La lezione dell'epidemia di Spagnola del 1918
- 33** Resuscitare un virus killer
di Jeffery K. Taubenberger, Ann H. Reid e Thomas G. Fanning
- 43** Come studiare l'evoluzione futura dei virus influenzali
- 44** Come uccidere l'HIV colpendo i suoi "influencer"
di Apoorva Mandavilli
- 47** Quando i virus inducono il cancro
di Lisa Vozza e Luigi Chieco-Bianchi
- 52** La resurrezione dei retrovirus ancestrali
- 53** Prevedere la prossima pandemia
di Alessandro Vespignani

In copertina Virus dell'influenza di tipo A © SPL/AGF

I quaderni de Le Scienze

Testata giornalistica plurisettimanale registrata
Tribunale di Roma N. 88

Data Registrazione: 13 giugno 2019

Direttore responsabile: Marco Cattaneo

Responsabile del trattamento dati: il responsabile del trattamento dei dati raccolti in banche dati di uso redazionale è il direttore responsabile a cui è possibile rivolgersi scrivendo a privacy@lescienze.it per i diritti previsti dal Regolamento (UE) 2016/679 sulla protezione dei dati personali.

LE SCIENZE S.p.A.

Sede legale Via Cristoforo Colombo, 90 - 00147 Roma
Capitale Sociale Euro 103.400,00 i.v.

R.E.A. Roma n. 1038183 - Codice fiscale e Iscriz.

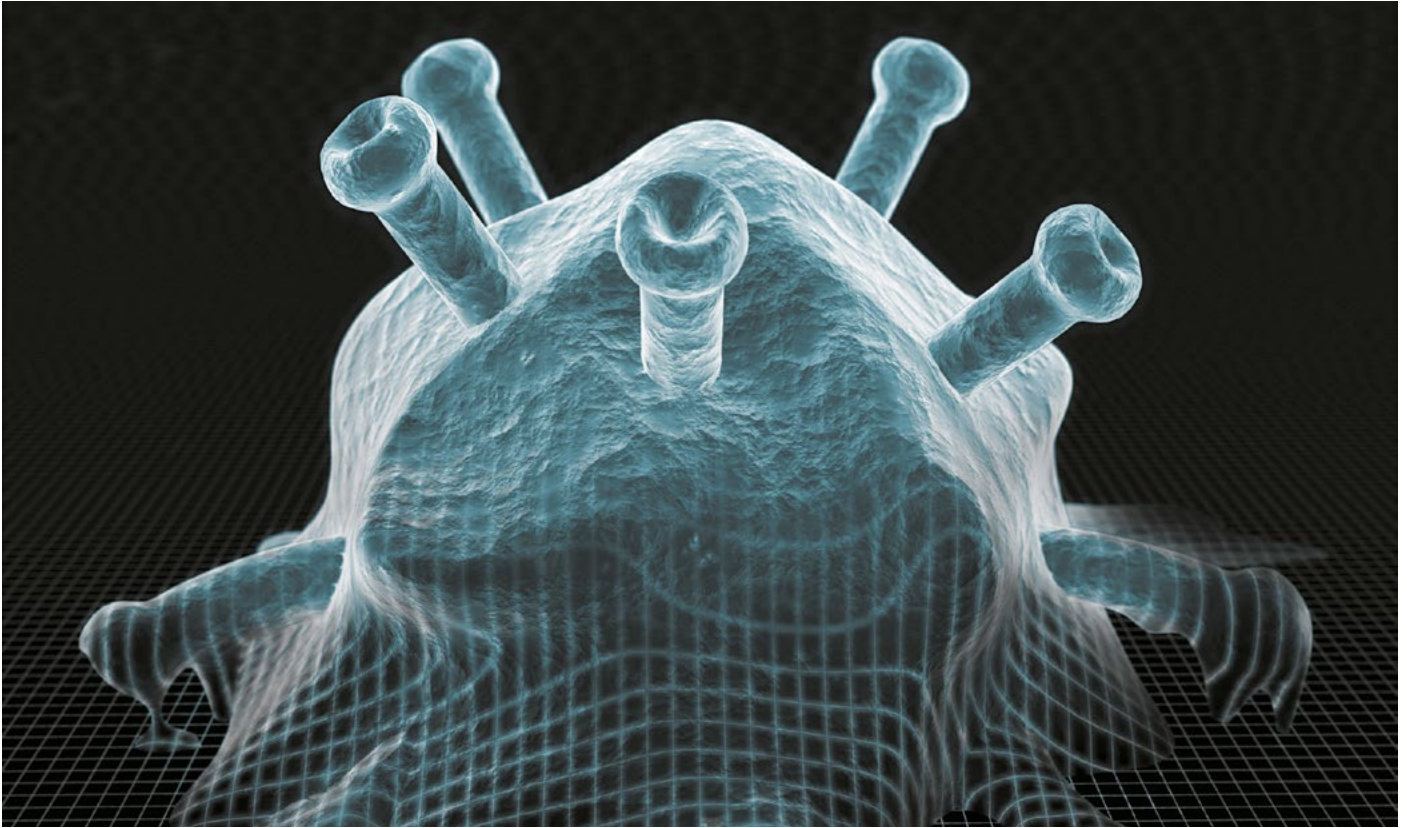
Registro Imprese di Roma 00882050156

Partita IVA: 00882050156

Consiglio di Amministrazione:

Corrado Corradi (presidente), Michael Florek (vice presidente), Alessandro Alacevich, Markus Bossle, Stefano Mignanego (consiglieri)

I virus sono vivi?



I virus si collocano lungo l'impercettibile linea di confine che separa il vivente dal non vivente (© Bryan Christie/Scientific American)

Anche se sfidano l'idea stessa di vita, i virus hanno un ruolo decisivo nell'evoluzione degli organismi viventi

di Luis P. Villarreal

In una puntata di *Honeymooners*, una commedia televisiva che andava per la maggiore negli anni cinquanta, Ralph Kramden, conducente d'autobus a Brooklyn, si rivolgeva alla moglie Alice dicendole «Sai benissimo che so benissimo con quanta facilità ti becchi i virus!». Mezzo secolo fa, persino persone qualunque come i Kramden avevano qualche informazione sui virus. Sapevano, per esempio, che sono microscopici portatori di malattie; tuttavia, è quasi certo che non sapevano con precisione che cosa fosse un virus. Non erano gli unici: e non lo sono neanche oggi.

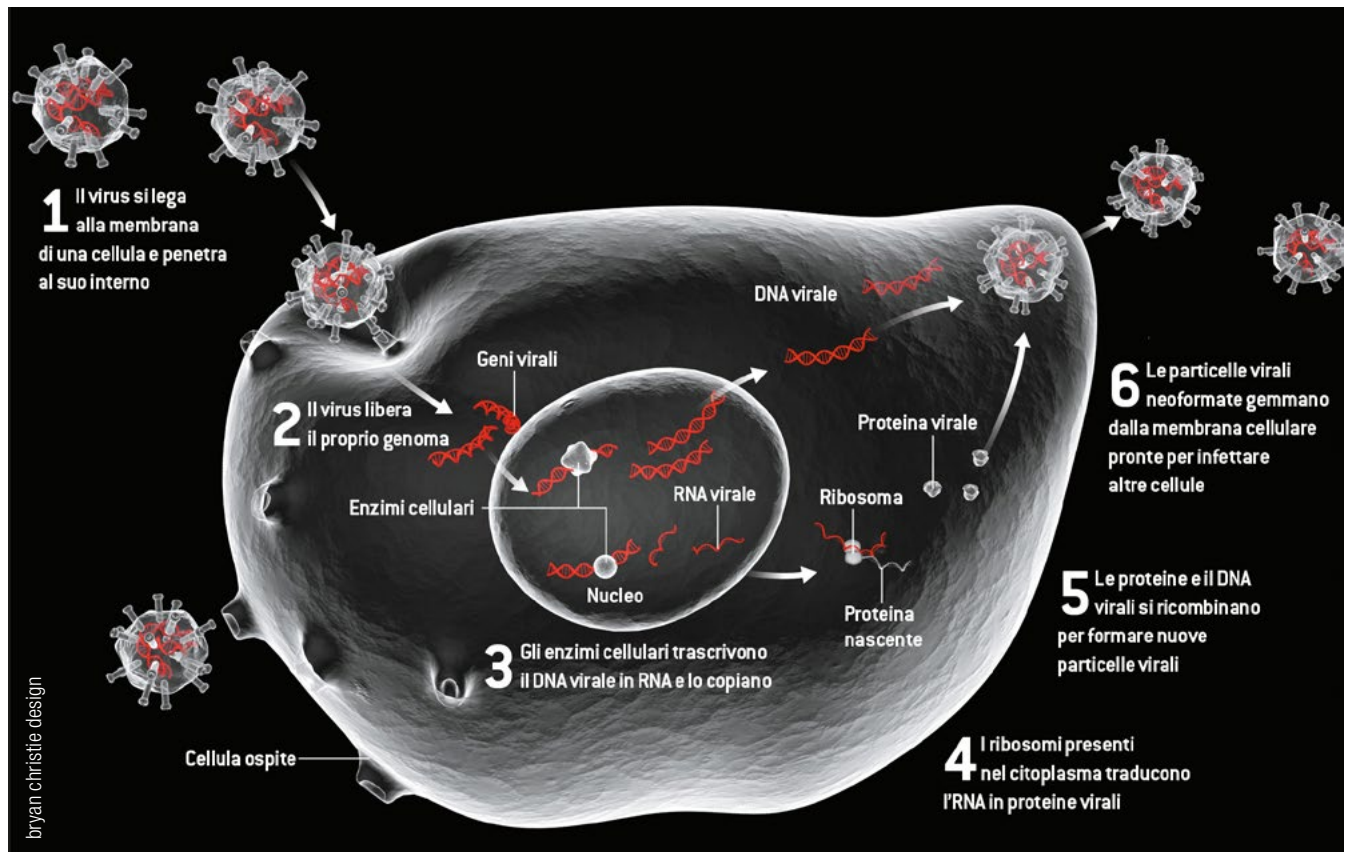
Per quasi un secolo la comunità scientifica ha cambiato ripetutamente idea su cosa fossero i virus. Considerati inizialmente alla stregua di veleni, in seguito come forme di vita, e infine come sostanze chimiche di natura biologica, oggi i virus vengono collocati in una sorta di limbo tra vivente e non vivente: non possono replicarsi in modo autonomo ma solo nelle cellule realmente vive, esercitando a volte una profonda influenza sul comportamento dei

loro ospite. La classificazione dei virus come “non viventi” per buona parte dell'era moderna delle scienze biologiche ha avuto conseguenze imprevedute: ha indotto la maggior parte dei ricercatori a non tenerne conto nello studio dell'evoluzione. Oggi, però gli scienziati hanno finalmente iniziato a riconoscere il ruolo fondamentale dei virus nella storia della vita.

Scendere a patti

Non è difficile comprendere perché sia stato problematico inquadrare i virus: sembrano diversi a seconda di come vengono studiati. L'interesse iniziale verso di essi derivava dalla loro associazione con le malattie: il termine "virus", infatti, deriva dal vocabolo latino che significa veleno. Alla fine del XIX secolo, i ricercatori capirono che alcune malattie, tra cui la rabbia e l'afta epizootica, erano causate da particelle che sembravano comportarsi come batteri, ma erano molto più piccole di essi. Data la loro natura chiaramente biologica e la facilità con cui potevano diffondersi da un soggetto a un altro provocando evidenti

Come si replica un virus



Che siano o meno «tecnicamente» vivi, i virus mostrano senza dubbio una delle proprietà tipiche delle forme viventi: la capacità di riprodursi, sia pure con l'aiuto di una cellula ospite. La figura mostra una delle modalità di replicazione virale: in particolare, si riferisce a un virus il cui genoma è composto da DNA a doppio filamento. Il processo con cui si replicano i fagi (virus che infettano batteri, organismi che non hanno il nucleo), i virus a RNA e i retrovirus presenta

qualche differenza rispetto a questo, ma si tratta di semplici variazioni dello stesso tema.

Questo comportamento ha indotto molti scienziati a pensare ai virus come esseri al confine tra la chimica inorganica e la vita. In maniera più poetica, di recente i virologi Marc H. V. van Regenmortel, dell'Università di Strasburgo in Francia, e Brian W. J. Mahy, dei Centers for Disease Control and Prevention americani, hanno affermato che i virus, in virtù

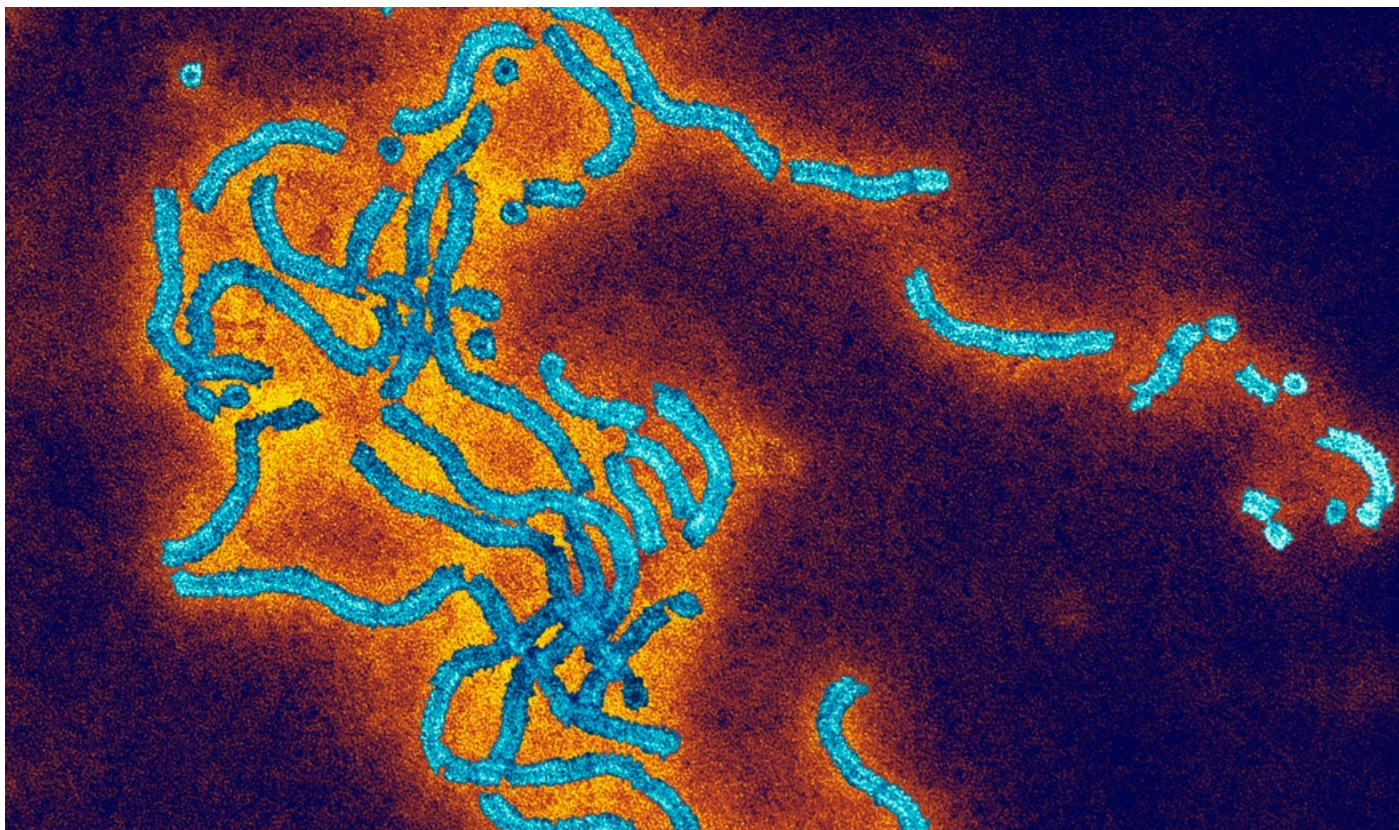
della loro dipendenza dalle cellule ospiti, conducono «una sorta di vita in prestito». È interessante sottolineare che i biologi, pur favorendo a lungo l'ipotesi che i virus fossero semplici contenitori di molecole, abbiano sfruttato l'attività virale nella cellula ospite per determinare in che modo gli acidi nucleici codificano per le proteine. In realtà, la biologia molecolare moderna poggia su una mole di informazioni ottenute grazie allo studio dei virus.

effetti biologici, si pensò allora che i virus fossero le più semplici tra tutte le forme di vita dotate di patrimonio genetico.

La loro retrocessione a sostanze chimiche inerti avvenne dopo il 1935, quando Wendell Stanley e i suoi colleghi, in quella che è l'attuale Rockefeller University a New York, cristallizzarono per la prima volta un virus (il virus del mosaico del tabacco), e videro che era composto da un involucro di sostanze biochimiche complesse, ma che

era privo delle strutture fondamentali indispensabili per svolgere le funzioni metaboliche, l'attività biochimica della vita. Grazie alle sue ricerche, nel 1946 Stanley condivise con altri ricercatori il premio Nobel per la chimica, non per la medicina.

Studi successivi stabilirono inequivocabilmente che un virus è composto da acidi nucleici (DNA o RNA) racchiusi in un involucro proteico che, talvolta, cela qualche altra proteina virale coinvolta nel processo infettivo.



Il virus della parotite, che appartiene alla famiglia dei Paramyxoviridae, tra i più importanti patogeni umani (© SPL/AGF)

Basandosi su questa descrizione, un virus sembra più simile a un complesso di molecole chimiche che a un organismo vivente. Tuttavia, quando entra in una cellula (che dopo l'infezione viene chiamata ospite) il virus è tutt'altro che inattivo. Si libera dell'involucro, scopre i propri geni e induce l'apparato di replicazione della cellula a riprodurre il DNA o PRNA estraneo (cioè il suo), e a fabbricare altre copie delle proteine virali sulla base delle istruzioni contenute nel proprio genoma. Poi le nuove particelle virali si assemblano e il gioco è fatto: si formano nuovi virus che possono, a loro volta, infettare altre cellule.

I biologi molecolari hanno continuato a cristallizzare la maggior parte delle componenti fondamentali delle cellule e oggi sono abituati a considerare le diverse strutture che formano una cellula - quali, per esempio, i ribosomi, i mitocondri, le membrane, il DNA e le proteine - come apparati di natura chimica o come gli elementi che quegli apparati utilizzano o producono. Il contatto frequente con le molteplici strutture chimiche complesse che svolgono i processi vitali spiega, probabilmente, come mai la maggior parte dei biologi molecolari non spenda molto tempo ad arrovellarsi intorno al quesito se i virus siano vivi o meno. Ai loro occhi, un simile esercizio equivale a riflettere sul fatto che le singole subunità cellulari siano dotate o meno di vita autonoma. Questo approccio miope permette loro di scorgere solamente il meccanismo con cui i virus cooptano le cellule o provocano una malattia. Alla domanda più generale relativa a quale sia stato il loro reale contributo

alla storia della vita sulla Terra - domanda che affronterò fra breve - non è stata ancora data per lo più alcuna risposta, e addirittura neppure una formulazione vera e propria.

Essere o non essere

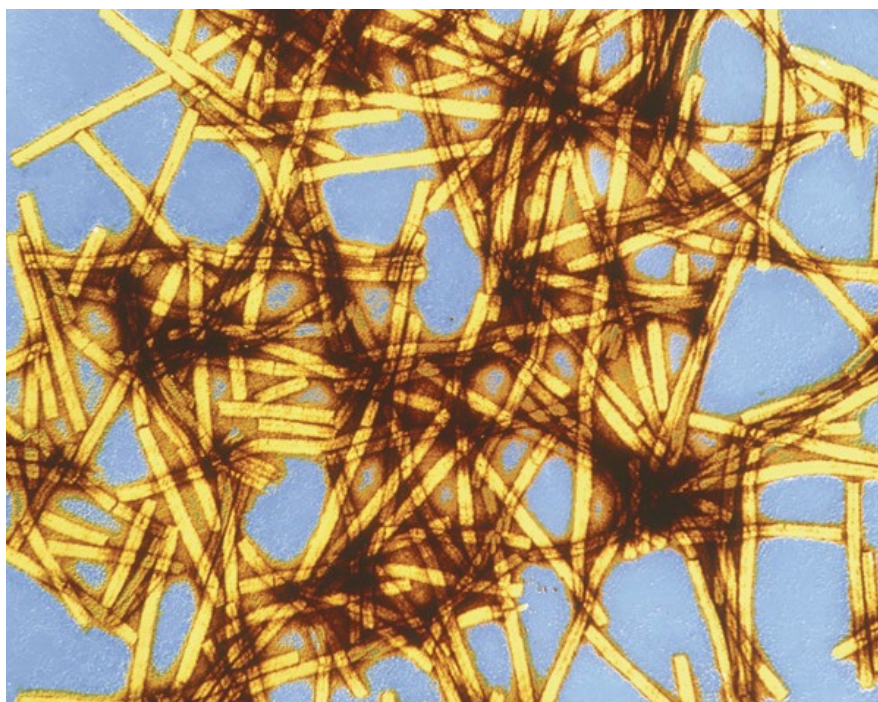
La domanda, in apparenza semplice, che i miei studenti mi pongono spesso - se i virus sono vivi oppure no - probabilmente ha messo a dura prova una risposta semplice nel corso di tutti questi anni, perché solleva un punto di fondamentale importanza: che cos'è, di preciso, che definisce la «vita»? Il concetto di «vita» sfugge a una precisa definizione scientifica; tuttavia, la maggior parte di coloro che sono coinvolti in tale dibattito non avrà dubbi nel concordare che l'idea di vita comprende alcune qualità precise, oltre alla capacità di un organismo di replicarsi. Un'entità vivente, per esempio, si trova in uno stato i cui limiti estremi sono dati dalla vita e dalla morte. Anche per gli organismi viventi si ritiene sia necessario un certo grado di autonomia biochimica, che svolga le attività metaboliche da cui si originano sia le molecole che l'energia necessaria a sostenere l'organismo. Questo livello di autonomia risulta essenziale per molte definizioni.

In ogni caso, i virus conducono un'esistenza parassitica nei confronti, essenzialmente, di tutti gli aspetti biomolecolari della vita. In altre parole, dipendono dalla cellula ospite per quanto riguarda le componenti essenziali e l'energia necessaria alla sintesi degli acidi nucleici, per la sintesi

Virtuosismi virali

Poiché occupano una terra di nessuno, una sorta di zona grigia a cavallo tra vivente e non vivente, i virus sono in grado di compiere alcune notevoli prodezze. Prendiamo questa, per esempio: benché in condizioni normali i virus si replicano solo nelle cellule vive, essi possiedono anche la capacità di moltiplicarsi, o «crescere», nelle cellule morte, e addirittura di riportarle in vita. Ancor più sorprendente è che alcuni virus, dopo essere stati distrutti, possono addirittura fare un passo indietro e recuperare la loro «vita in prestito».

Una cellula il cui DNA nucleare è stato distrutto è morta. Senza quel DNA, essa non ha più le istruzioni genetiche che le permettono di sintetizzare le proteine di cui ha bisogno, e di riprodursi. Ma un virus può sfruttare l'apparato cellulare rimasto nel citoplasma residuo per replicarsi. In altre parole, può indurre le strutture cellulari a usare i propri geni come guida per assemblare proteine virali e replicare il proprio genoma. Questa capacità dei virus di crescere in un ospite morto è particolarmente evidente nei loro ospiti unicellulari, molti dei quali vivono negli oceani. (In realtà, sul nostro pianeta vive un numero incredibile di virus: secondo alcune stime recenti, gli oceani ospiterebbero qualcosa come 1030 particelle virali, o all'interno di cellule ospiti oppure libere di fluttuare in modo indipendente). Nel caso dei batteri, ma anche dei cianobatteri fotosintetici e delle alghe, spesso l'ospite cellulare viene ucciso quando i raggi ultravioletti (UV) provenienti dal Sole ne distruggono il DNA nucleare. Alcuni virus che colonizzano queste cellule



Virus del mosaico del tabacco (© Jeremy Burgess/SPL/AGF)

contengono o codificano per degli enzimi che riparano diversi tipi di molecole cellulari, riportando la cellula ospite in vita. I cianobatteri, per esempio, contengono un enzima che funziona come centro fotosintetico ma che può essere distrutto da una quantità eccessiva di luce.

Quando questo si verifica, la cellula muore, poiché non è più in grado di effettuare la fotosintesi e, di conseguenza, neppure di svolgere le normali funzioni metaboliche. Tuttavia, i virus chiamati cianofagi codificano per una propria versione dell'enzima fotosintetico batterico: e la versione virale è molto più resistente ai raggi UV. Se questi virus infettano una cellula morta da poco, l'enzima fotosintetico virale può subentrare a quello dell'ospite ormai perduto, in un processo che potremmo paragonare a una sorta di terapia genica salva-vita per la cellula.

Un eccesso di luce ultravioletta, però, può distruggere anche i cianofagi. Infatti, l'inattivazione mediata da UV è un metodo

comunemente usato nei laboratori per distruggere i virus. Tuttavia, talvolta essi possono riacquistare forma e funzione. Questa specie di resurrezione si verifica mediante un processo conosciuto col nome di multiplicity reactivation, o riattivazione multipla. Si tratta di questo: se una singola cellula ospita più di un virus difettoso, il genoma virale può letteralmente ricostituirsi a partire dalle singole parti. In effetti, è proprio questa capacità di riassemblarsi che permette ai ricercatori di creare virus ricombinanti artificiali in laboratorio.

Le diverse parti del genoma talvolta possono anche fornire geni isolati, che agiscono di concerto (un fenomeno chiamato complementazione) per ristabilire la piena funzionalità senza necessariamente riformare un virus completo o autonomo. I virus sono le uniche entità biologiche che conosciamo a essere dotate di questo «fenotipo dell'Araba Fenice», cioè della capacità di risorgere dalle proprie ceneri.

proteica, per l'assemblaggio delle diverse unità e il loro trasporto, ma anche per tutte le altre attività di natura biochimica che consentono loro di moltiplicarsi e di diffondersi nell'organismo.

Ma allora si potrebbe concludere che, sebbene questi processi siano soggetti a direttive di origine virale, i virus sono semplicemente dei parassiti inanimati dei sistemi metabolici viventi. Tuttavia, fra ciò che è senz'alcun dubbio vivo e ciò che altrettanto inequivocabilmente non lo è, esiste una gamma di situazioni intermedie. Una roccia non è viva. Neppure una membrana metabolicamente attiva, privata del suo corredo genetico e della capacità di propagarsi, lo è. Un batterio, invece, è decisamente vivo: nonostante sia un organismo unicellulare, è in grado di produrre energia, molecole necessarie al proprio sostentamento, e anche di riprodursi.

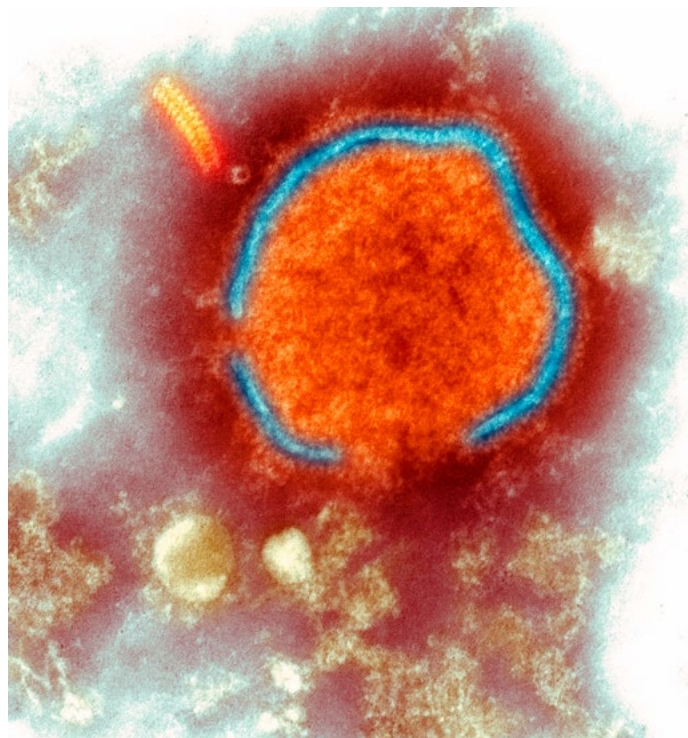
Ma che dire di un seme? Potremmo anche non considerarlo vivo, eppure, in questo suo stato non vitale, esso mantiene il potenziale da cui può sgorgare la vita, un potenziale che il seme possiede come risultato di qualcosa che, un tempo, era inequivocabilmente vivo. Inoltre, i semi possono essere distrutti. Per questo aspetto, i virus somigliano ai semi più di quanto non somiglino alle cellule viventi: possiedono un certo potenziale che può essere spento, ma non raggiungono alcuna condizione di vita più autonoma.

Un altro modo di concepire la vita è considerarla alla stregua di una proprietà imprevista di un insieme di elementi indubbiamente non viventi. Sia la vita che la coscienza sono esempi di sistemi complessi imprevisti, ciascuno dei quali, per raggiungere il proprio stato, richiede la presenza di un livello critico di complessità o di interazione. Un neurone, isolato o persino all'interno di una rete nervosa, non è consapevole: perché ci sia consapevolezza deve essere presente la complessità del cervello intero. E tuttavia, anche un cervello umano intatto può essere biologicamente vivo ma incapace di consapevolezza, in quella condizione che conosciamo con il nome di «coma».

Analogamente, di per sé non sono vivi né i geni cellulari isolati, né quelli virali né tantomeno le proteine. La cellula enucleata è analoga allo stato di morte cerebrale, in quanto priva di una complessità critica complessiva. Neppure un virus è in grado di raggiungere una complessità critica. Dunque, la vita stessa è una condizione imprevista e complessa, che, tuttavia, è composta dagli stessi elementi basilari essenziali che formano un virus. Visti in quest'ottica, dunque, e sebbene non siano completamente vivi, i virus possono essere considerati più che semplice materia inerte: tendono alla vita.

L'impatto sull'evoluzione

Le discussioni che hanno per oggetto la possibilità di attribuire ai virus lo status di viventi suscitano spontaneamente un'altra domanda: la riflessione sullo stato dei virus – sono esseri viventi o non viventi – va al di là di un semplice esercizio filosofico? È la base di un dibattito retorico vivace e acceso ma con poche conseguenze reali? Personalmente ritengo che questo punto sia importante, perché il modo in cui gli scienziati affrontano questo problema influenza i loro ragionamenti sui meccanismi dell'evoluzione.



Il virus del morbillo, responsabile di una delle malattie dell'infanzia più contagiose. Trasmesso da persona a persona attraverso la saliva, il virus può causare gravi complicanze, come la polmonite o l'encefalite (© SPL/AGF)

I virus possiedono una storia evolutiva personale antica, che risale proprio alle origini della vita cellulare. Per fare un esempio: alcuni enzimi cui spetta il compito di riparare il genoma virale – che excidono e risintetizzano frammenti di DNA danneggiato, riparano i danni provocati dai radicali dell'ossigeno e altre attività analoghe sono specifici di certi virus ed esistono pressoché inalterati probabilmente da miliardi di anni.

Nondimeno, la maggior parte dei biologi evuzionisti sostiene che, poiché i virus non sono vivi, non vale la pena prenderli seriamente in considerazione quando si cerca di comprendere l'evoluzione. Inoltre, questi scienziati ritengono che i virus siano in realtà i geni dell'ospite che, chissà come, sono riusciti a sottrarsi alla cellula acquisendo un involucro proteico. In quest'ottica, i virus sarebbero geni cellulari fuggiaschi degenerati sino a diventare parassiti. Così, allontanando i virus dalla rete della vita, è probabile

che non vengano riconosciuti i contributi importanti che tali organismi potrebbero aver apportato all'origine delle specie e al mantenimento della vita. (In effetti, delle 1205 pagine di cui è composto il rapporto annuale 2002 The Encyclopedia of Evolution, solo quattro sono quelle dedicate ai virus).

Naturalmente, i biologi evolucionisti non negano che i virus abbiano avuto qualche ruolo nell'evoluzione, ma considerandoli inanimati, questi ricercatori li collocano sul medesimo piano di eventi come, per esempio, i cambiamenti climatici. Tali eventi esterni operano una selezione fra individui che possiedono tratti diversi geneticamente controllati: quelli che si rivelano maggiormente capaci di sopravvivere e prosperare quando sono messi di fronte a simili sfide continuano a riprodursi con il massimo successo, e perciò trasmettono i propri geni alle generazioni future.

I virus, però, scambiano le informazioni genetiche direttamente con gli organismi viventi, cioè all'interno della rete stessa della vita. È probabile che per la maggioranza dei medici e, forse, anche per la maggioranza dei biologi evolucionisti risulti sorprendente il fatto che la maggior parte dei virus che oggi conosciamo è tenace e innocua, ma non patogena. I virus si insediano all'interno delle cellule dove possono rimanere a lungo in uno stato quiescente, oppure sfruttare l'apparato di replicazione cellulare per riprodursi a un ritmo lento e costante. Questi virus hanno messo a punto numerose e astute strategie per evitare di essere individuati dal sistema immunitario; sostanzialmente, ciascuna delle fasi che costituiscono la risposta immunitaria può essere modificata o controllata da geni diversi presenti in questo o quel virus.

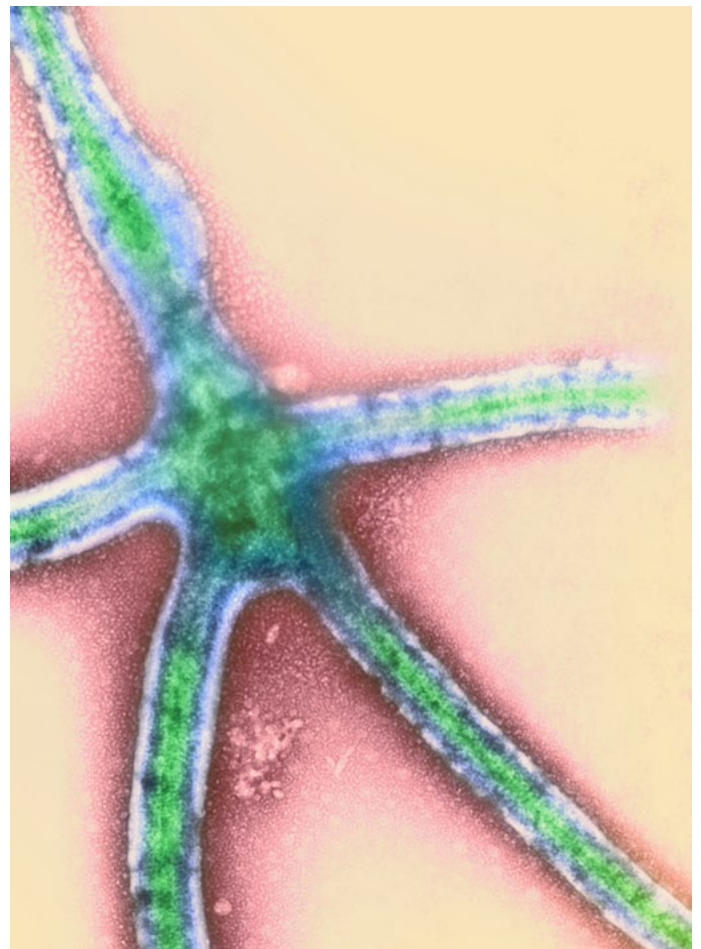
Per di più, il genoma del virus (il complesso del suo DNA o RNA) può colonizzare in modo permanente l'ospite, aggiungendo geni virali al patrimonio cellulare e diventando, alla fine, una componente critica del genoma della specie ospite. Perciò, non vi è dubbio che i virus abbiano effetti assai più rapidi e più diretti di quelli esercitati da forze esterne che si limitano a operare una selezione fra variazioni genetiche interne prodotte più lentamente. Le dimensioni della popolazione virale, assieme al rapido tasso con cui questi organismi si replicano e mutano, fanno di loro la fonte principale di innovazione genetica al mondo: i virus «inventano» di continuo nuovi geni, e varianti uniche di geni virali possono viaggiare, andando a inserirsi in altri organismi e contribuendo ai cambiamenti evolutivi.

I dati pubblicati dal Consorzio internazionale per il sequenziamento del genoma umano indicano che un

numero imprecisato di geni presenti sia nei batteri sia nel genoma umano, numero che si stima essere compreso tra 113 e 223, non è presente nel genoma di organismi assai ben studiati come il lievito *Saccharomyces cerevisiae*, il moscerino della frutta *Drosophila melanogaster* e il verme nematode *Caenorhabditis elegans*, organismi situati a metà dei due estremi evolutivi poc'anzi citati.

Alcuni ricercatori credevano che questi organismi, sviluppatisi dopo i batteri ma prima dei vertebrati, avessero semplicemente perduto i geni in questione in un momento non precisato della loro storia evolutiva. Altri, invece, ipotizzavano che questi geni fossero stati trasferiti direttamente al lignaggio umano da parte di batteri invasori.

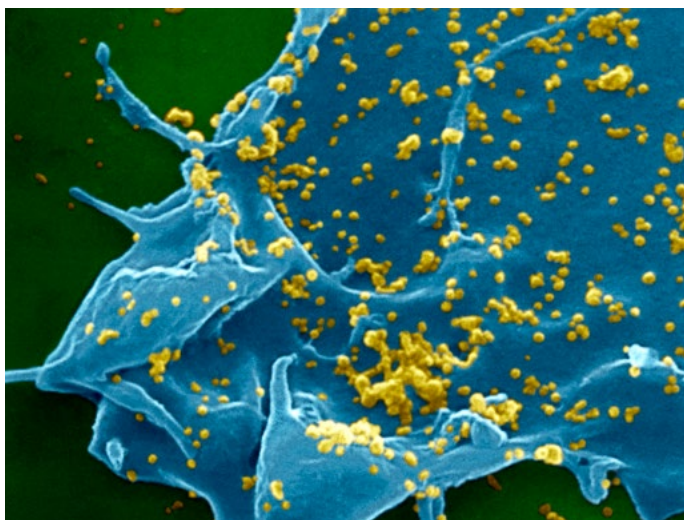
Io e il mio collega Victor DeFilippis, del Vaccine and Gene Therapy Institute della Oregon Health and Science University, abbiamo invece avanzato una terza proposta. Secondo noi, è possibile che i virus producano dei geni che possono colonizzare due lignaggi differenti: per esempio, batteri e vertebrati. Quello che, all'apparenza, è un gene elargito all'umanità dai batteri, potrebbe in realtà essere stato dato a entrambi da un virus.



Virus Ebola in fase di replicazione. Questo membro della famiglia dei Filoviridae si riproduce all'interno della cellula ospite formando una sorta di fuso (al centro) da cui vengono rilasciate le nuove particelle virali (© SPL/AGF)

Infatti, Philip Bell della Macquarie University di Sydney (in Australia), io e altri sosteniamo che il nucleo cellulare stesso ha un'origine virale. La comparsa del nucleo – che contraddistingue gli organismi eucarioti (le cellule dei quali sono dotate di un vero e proprio nucleo), tra cui anche l'uomo, dai procarioti come i batteri – non può essere spiegata in modo soddisfacente invocando esclusivamente un processo di adattamento graduale delle cellule procarioti che, a poco a poco, sono diventate eucarioti. Piuttosto, è possibile che il nucleo si sia evoluto a partire da un virus a Dna tenace e di notevoli dimensioni, che si è insediato in modo permanente all'interno dei procarioti.

A parziale sostegno di questa ipotesi ci sono i dati ottenuti dal sequenziamento, che dimostrano come il gene per una Dna polimerasi (un enzima che copia il Dna) presente nel virus chiamato T4, un virus che infetta i batteri, sia strettamente imparentato ad altri geni che codificano per la Dna polimerasi, sia negli eucarioti che nei virus che li infettano. Anche Patrick Forterre dell'Università di Parigi-Sud ha analizzato degli enzimi responsabili della replicazione del Dna, giungendo alla conclusione che, negli eucarioti, anche i geni per tali enzimi hanno probabilmente un'origine virale.



Particelle di coronavirus (in giallo) su terreno di coltura (© SPL/AGF)

Lo scorso ottobre, il ricercatore francese Didier Raoult assieme ai suoi colleghi della Mediterranean University di Marsiglia ha presentato pubblicamente la sequenza del genoma del più grande virus conosciuto, il mimivirus, che è addirittura più grande di alcuni batteri. Al suo interno i ricercatori hanno individuato dei geni che in precedenza si pensava esistessero solamente negli organismi effettivamente viventi. Come ha fatto notare Raoult, «le dimensioni e la complessità del genoma del mimivirus mettono a dura prova quelli che sono i confini ormai consolidati tra virus e organismi che si comportano da parassiti cellulari».

Dagli organismi unicellulari alle popolazioni umane, i virus interessano tutte le forme di vita che popolano la Terra, e spesso determinano quale di esse sopravviverà. Tuttavia, anche i virus stessi si evolvono. È probabile che nuove varietà virali, come il virus HIV-1 responsabile dell'AIDS, siano le uniche entità biologiche della cui nascita i ricercatori sono stati effettivi testimoni. Un evento, questo, che fornisce un esempio in tempo reale dell'evoluzione in azione.

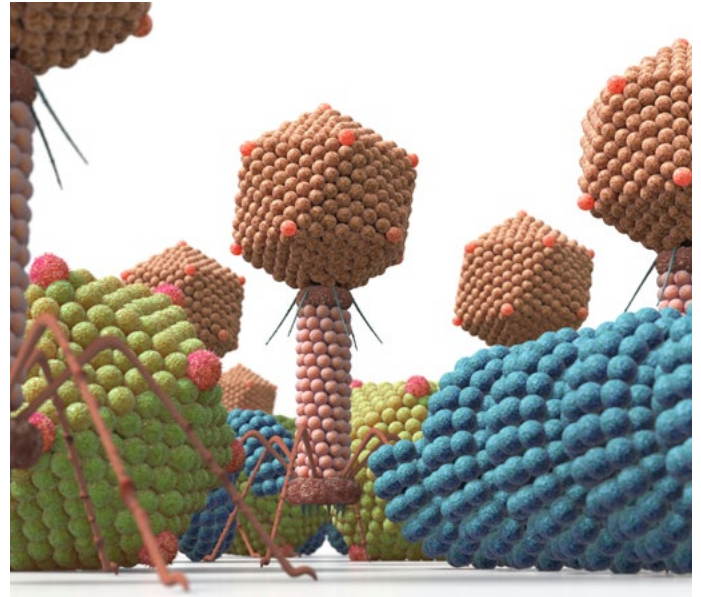
I virus sono importanti per la vita: costituiscono il confine in continuo divenire fra la sfera biologica e quella biochimica. Mano a mano che continuiamo a decifrare i genomi di un numero sempre maggiore di organismi, dovrebbe diventare sempre più evidente il contributo che proviene da questo pool genico dinamico e antico. Già nel 1959, il premio Nobel Salvador Luria rifletteva sull'influenza che i virus riescono a esercitare sull'evoluzione. «È possibile che non riusciamo a percepire – scriveva – che nei virus e nella loro fusione con il genoma cellulare da cui poi riemergono, osserviamo le unità e il processo che, nel corso dell'evoluzione, hanno creato gli schemi genetici vincenti che stanno alla base di tutte le cellule viventi?». In ogni caso, che li si voglia considerare organismi viventi o meno, è giunto il momento di riconoscere e di studiare i virus all'interno del loro contesto naturale: nella rete della vita.

L'autore

Luis P. Villarreal dirige il Center for Virus Research all'Università della California a Irvine. Nato a Los Angeles, ha conseguito il dottorato in biologia all'Università della California a San Diego, e ha svolto ricerche in qualità di post-doc in virologia alla Stanford University con il premio Nobel Paul Berg. È molto attivo sul fronte didattico ed è stato insignito del National Science Foundation Presidential Award per la sua attività tutoriale. Dopo essere diventato direttore a Irvine, Villarreal ha messo a punto programmi per lo sviluppo rapido di sistemi di difesa contro la minaccia del bioterrorismo.

["Le Scienze" n. 438, febbraio 2005](#)

Il posto dei virus nell'albero della vita



Nell'illustrazione, tre tipiche forme dei virus (© SPL/AGF)

Un'estesa analisi comparativa su migliaia di genomi ha individuato alcune strutture tridimensionali delle proteine in comune tra cellule e virus. La scoperta indica che i virus, dal punto di vista genetico, sono "creatori di novità", e non semplicemente portatori di DNA ed RNA rubati in qualche momento dell'evoluzione

I virus hanno condiviso con le cellule una lunga storia evolutiva: lo afferma un nuovo studio apparso su "Science Advances" a firma di Gustavo Caetano-Anollés dell'Università dell'Illinois e colleghi di una collaborazione internazionale, che hanno effettuato un'estesa analisi dei proteomi, l'insieme delle proteine codificate dal DNA, di un gran numero di cellule e di virus.

Lo studio potrebbe porre fine a un annoso dibattito sulla classificazione dei virus, che sono entità molto semplici, costituite da un involucro proteico, il capsido, contenente materiale genetico in grado di replicarsi solo sfruttando il macchinario molecolare delle cellule che infetta. Proprio questa peculiarità, secondo molti, li escluderebbe dal novero degli organismi viventi, mentre l'evoluzione del loro genoma farebbe propendere per la tesi opposta.

Lo studio di Caetano-Anollés e colleghi si è focalizzato sul vasto repertorio di "ripiegamenti", o strutture tridimensionali, delle proteine codificate dai genomi di virus e cellule. Lo studio dei diversi ripiegamenti prodotti dai diversi rami dell'albero della vita, infatti, è un metodo utile per ricostruire la storia evolutiva dei genomi da cui hanno origine. Inoltre, i ripiegamenti si mantengono stabili nel corso dell'evoluzione, a differenza delle sequenze primarie delle proteine, costituite da filamenti di amminoacidi, che subiscono rapide variazioni.

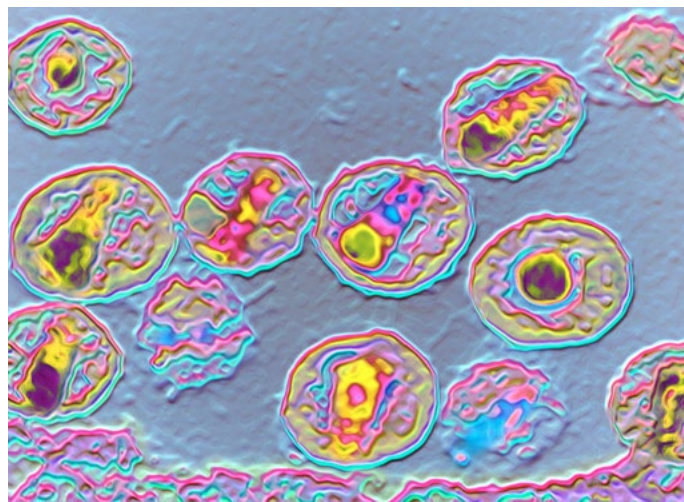
Analizzando oltre 5000 organismi, tra cui 3460 virus, con avanzati metodi di bioinformatica, gli autori hanno identificato 442 ripiegamenti condivisi tra cellule e virus e 66 che sono esclusivamente virali e che includono le proteine che formano il capsido. Questo risultato contraddice l'ipotesi che i virus contengano solo materiale genetico "rubato" dalle cellule, e suggerisce che siano, in termini genetici, "creatori di novità".

Questo dato, secondo Caetano-Anollés, basterebbe per attribuire ai virus un posto nell'albero della vita. Il fatto che non abbiano un proprio macchinario molecolare per la replicazione non è infatti un criterio assoluto per distinguere la vita, poiché anche altri organismi, come i batteri e i funghi, possono aver bisogno di un ospite per completare il proprio ciclo.

I dati raccolti dai ricercatori consentono anche di ricostruire un passaggio fondamentale dell'evoluzione dei virus: lo sviluppo del capsido, avvenuto non molto tempo dopo la nascita delle cellule. La possibilità di proteggere il materiale genetico con un involucro ha consentito ai virus di svolgere parte del ciclo al di fuori delle cellule ospiti, incrementando notevolmente la loro capacità d'infezione.

www.lescienze.it, 30 settembre 2015

L'antichissima origine dei retrovirus



Virus HIV (© James Cavallini/AGF)

I retrovirus, la grande classe di virus a cui appartiene anche l'HIV, risalgono a un periodo precedente a quello in cui i vertebrati hanno iniziato a colonizzare la terraferma, almeno 500 milioni di anni fa. E proprio l'interazione con questi microrganismi probabilmente ha portato allo sviluppo della parte del sistema immunitario nota come immunità adattativa

I retrovirus hanno fatto la loro comparsa almeno mezzo miliardo di anni fa, in un ambiente marino, e hanno probabilmente segnato lo sviluppo di una parte del nostro sistema immunitario.

La scoperta - che confuta l'ipotesi che questi microrganismi siano un frutto recente dell'evoluzione, risalente a non più di cento milioni di anni fa - è di due ricercatori dell'Università di Oxford, Pakorn Aiewsakun e Aris Katzourakis, che firmano un articolo su "Nature Communications".

I retrovirus sono una famiglia di virus - a cui appartengono fra l'altro il virus HIV e altri virus capaci di provocare l'insorgenza di tumori - che hanno un genoma a RNA il quale, una volta che il virus è penetrato nella cellula dell'ospite, può essere convertito in DNA e inserito nel genoma dell'ospite.

Occasionalmente può avvenire che questa integrazione del genoma virale avvenga nelle cellule della linea germinale dell'ospite, nel qual caso può essere ereditato e passare da una generazione all'altra sotto forma di retrovirus endogeno. Di fatto questo processo è avvenuto molte volte nella storia dei vertebrati e oggi queste antiche sequenze genetiche possono essere considerate alla stregua di "fossili genomici" utili per ricostruire la storia evolutiva - finora ben poco studiata - di questi lontani colonizzatori di genomi.

Katzourakis e Aiewsakun hanno studiato una classe

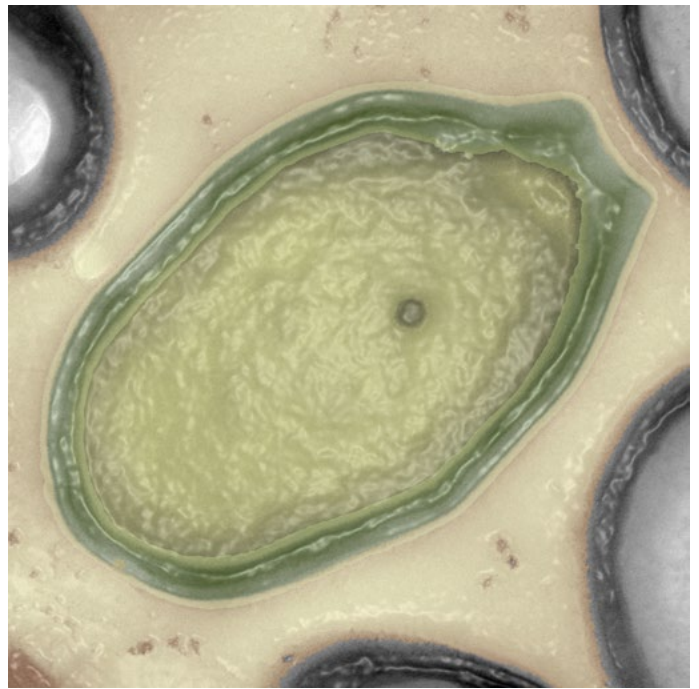
di retrovirus endogeni le cui sequenze genetiche sono caratteristiche e molto simili a quelle degli spumavirus, così chiamati per la loro capacità di provocare una proliferazione di vacuoli nelle cellule invase, che assumono così un aspetto schiumoso.

I ricercatori hanno scoperto che questi retrovirus endogeni, scelti perché molto diffusi nei mammiferi, in realtà sono presenti anche negli anfibi e nei pesci. Il confronto fra le variazioni geniche subite da questi retrovirus in una gamma così ampia di gruppi animali ha permesso a Katzourakis e colleghi di costruire un modello della loro evoluzione, che ne fa risalire la comparsa nei vertebrati a un periodo precedente alla colonizzazione animale della terraferma.

Questo risultato, osserva Katzourakis, fornisce il contesto in cui analizzarne l'attività attuale e la storia delle loro interazioni con l'ospite, e in particolare dello sviluppo delle nostre difese dagli attacchi virali: "La data d'origine di questi retrovirus coincide con le origini dell'immunità adattativa, e quindi è probabile che i retrovirus abbiano avuto un ruolo importante nella nascita di questo fondamentale strumento di difesa antivirale dei vertebrati".

www.lescienze.it, 11 gennaio 2017

Pandoravirus, i giganti che scuotono l'albero della vita



Microfotografia in falsi colori di pandoravirus (© Chantal Abergel/Jean-Michel Claverie)

Scoperti di recente, raggiungono il micron di lunghezza e all'apparenza potrebbero essere scambiati per batteri. Hanno un genoma spropositatamente grande rispetto agli altri virus, nel quale sono presenti geni completamente diversi da quelli che caratterizzano archea, batteri ed eucarioti, suggerendo che possano derivare da antichi parassiti appartenenti a un nuovo dominio della vita

Archea, batteri ed eucarioti non sarebbero i tre soli domini della vita esistenti: è la conclusione a cui sono giunti alcuni biologi del Laboratorio di genomica dell'Aix-Marseille Université, che in un articolo pubblicato su "Science" descrivono due virus di dimensioni spropositate, sia dal punto di vista fisico (arrivano al micron di lunghezza), sia per il numero di basi del loro genoma, rispettivamente di 1,9 e 2,5 milioni di basi.

La collocazione dei virus nell'albero della vita è sempre stata alquanto incerta e controversa. Secondo una teoria, i virus sarebbero antichi parassiti che avrebbero progressivamente perso quasi tutto il loro armamentario biologico, mentre altri biologi - vista l'assenza di funzioni metaboliche e la totale dipendenza per la riproduzione dagli apparati delle cellule ospiti - li considerano solo aggregati di proteine.

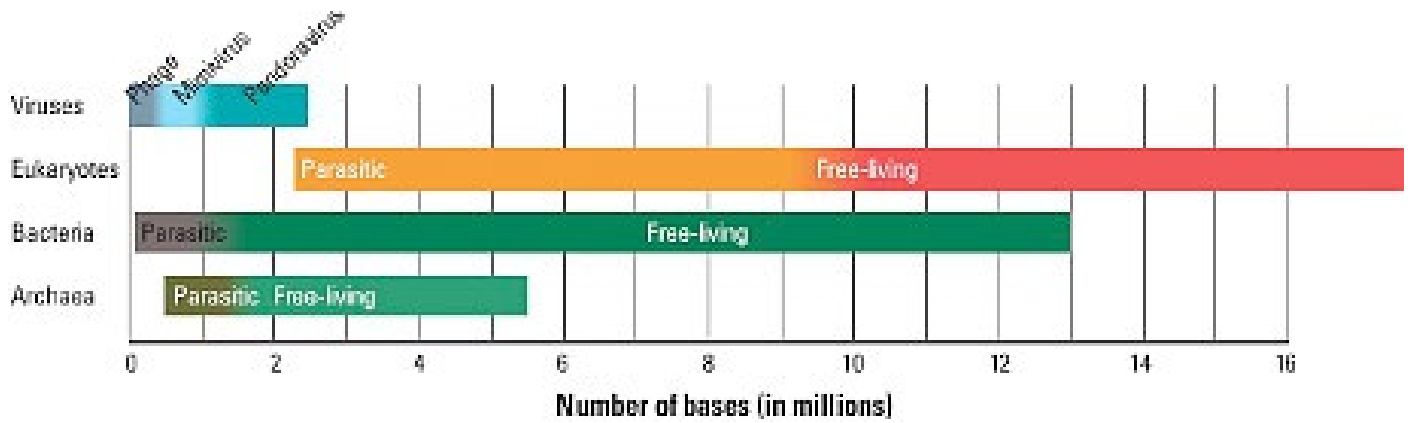
Una decina di anni fa, la scoperta dei Mimivirus, le cui dimensioni fisiche e genetiche già rivaleggiano con quella di molti batteri, aveva indotto gli scienziati a rivedere i limiti superiori del mondo virale. Tuttavia, i circa 900 presunti geni identificati in questi virus erano stati considerati dalla maggioranza dei virologi nulla più che geni acquisiti casualmente dalle cellule in cui era avvenuta

la riproduzione del virus. Questa spiegazione non ha però mai convinto Jean-Michel Claverie, uno dei sequenziatori del genoma di Mimivirus, perché le sequenze geniche identificate risultavano molto diverse da quelle dei geni del suo ospite, Acanthamoeba.

Da allora, Claverie è andato a caccia di altri virus giganti negli ambienti in cui era stato identificato Mimivirus, i sedimenti marini e lacustri.

Claverie e colleghi hanno così identificati diversi virus giganti, fino a scoprire quasi contemporaneamente i due nuovi microrganismi da record: Pandoravirus salinus, trovato nei sedimenti della foce del fiume Tunquen in Cile, e Pandoravirus dulcis, ancora più grande, nei fondali di un laghetto di acqua dolce nei pressi di Melbourne.

A causa delle loro dimensioni, i pandoravirus a prima vista sembrano simili a batteri, anche perché non possiedono il caratteristico capsido; ma a un attento esame microscopico, ottico ed elettronico, è evidente che si tratta di virus: non hanno i geni per la produzione di energia e non possono produrre autonomamente proteine. Inoltre, quando si riproducono non si dividono in due come un tipico batterio, ma producono centinaia di nuove particelle virali, fino all'esplosione della cellula ospite.



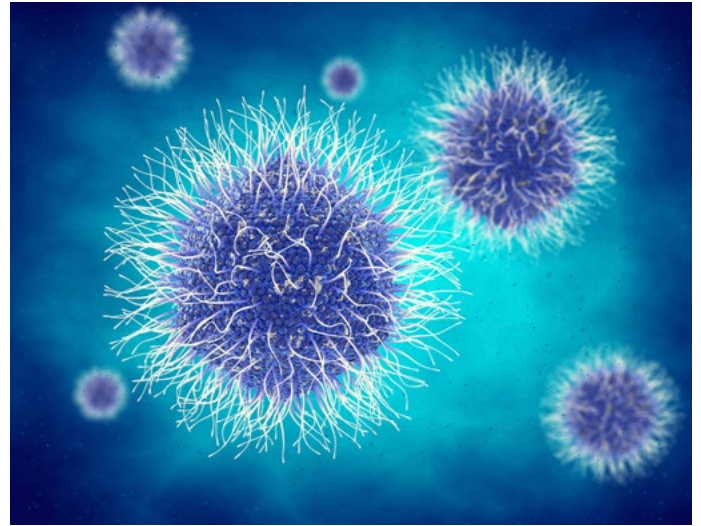
Raffronto fra le dimensioni dei genomi di virus, eucarioti, batteri e archea. (© E. Pennisi/Science/AAAS)

Particolarmente notevole è il fatto che la maggior parte dei geni dei pandoravirus non compare in alcun database, il che non solo rafforza l'ipotesi che i virus giganti discendano da cellule a vita libera che a poco a poco hanno perso la maggior parte dei geni in seguito a un parassitismo sempre più spinto, ma suggerisce anche – come ha detto Claverie - “che abbiano avuto origine da una stirpe cellulare primitiva totalmente diversa da Archea, Bacteria e Eukarya”.

I ricercatori hanno anche proposto un nome per questo nuovo raggruppamento: “Truc”, acronimo di Things Resisting Uncomplete Classification, ma che in francese è anche il termine familiare per “coso”.

www.lescienze.it, 22 luglio 2013

L'origine composita dei virus giganti



Mimivirus (© Nobeastofierce/SPL/AGF)

I virus giganti, o megavirus, derivano da piccoli virus che nel corso dell'evoluzione hanno acquisito nuovi geni da vari organismi unicellulari in tempi differenti. La scoperta - che smentisce l'ipotesi di una discendenza diretta da microrganismi cellulari - è avvenuta dopo l'identificazione di un nuovo virus gigante in una vasca di depurazione dei fanghi

Un virus scoperto in un impianto di trattamento delle acque reflue di Klosterneuburg, in Austria - e per questo battezzato Klosneuvirus - inizia a chiarire la discussa origine dei virus giganti, o megavirus: provengono dall'assemblaggio di virus più piccoli e non - come ipotizzato da alcuni - dall'evoluzione di un'antica cellula forse appartenente a un quarto, ed estinto, dominio della vita cellulare. (I domini attualmente riconosciuti sono batteri, archea ed eucarioti.)

Lo studio è stato condotto da ricercatori del Joint Genome Institute del Dipartimento dell'energia statunitense e dell'Università di Vienna, che firmano un articolo su "Science".

Identificati per la prima volta nel 2003, i megavirus, oltre ad avere dimensioni eccezionalmente grandi, hanno un genoma insolitamente ampio e "ricco": nel loro genoma sono presenti geni potenzialmente coinvolti nella biosintesi delle proteine, in particolare di quelle coinvolte nella traduzione dei geni.

Era stata proprio questa anomalia ad aver suggerito a qualcuno che i megavirus discendessero direttamente da qualche forma di vita cellulare. Normalmente, infatti, i virus non hanno questi geni perché per replicarsi si affidano al macchinario molecolare della cellula ospite e quindi non hanno bisogno di conservare i geni per le proteine che formano quel macchinario.

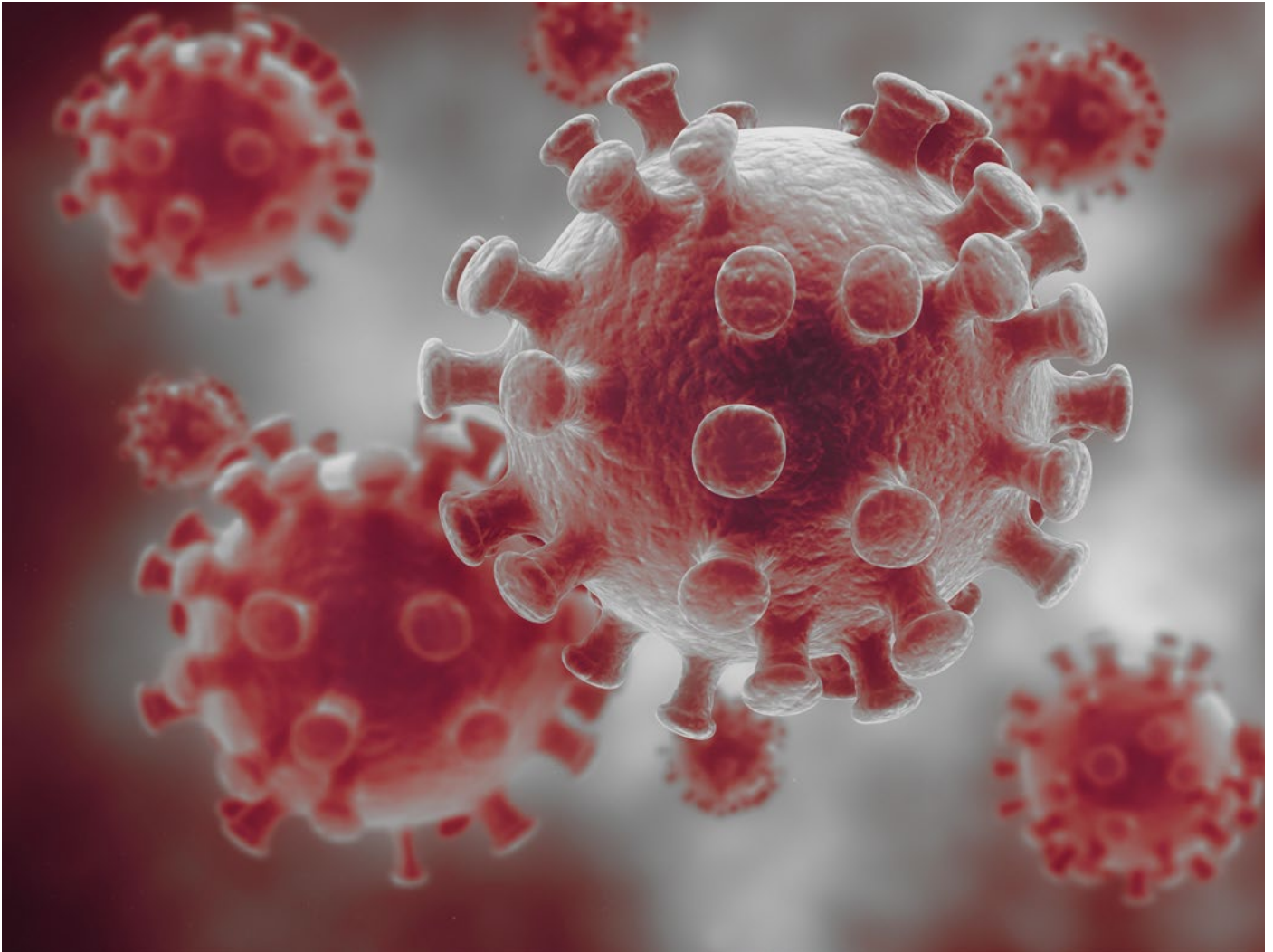
Dall'analisi dei Klosneuvirus sembrava inizialmente che i geni "cellulari" - che il Klosneuvirus ha in numero nettamente superiore a qualsiasi altro virus gigante finora scoperto - avessero un'origine comune. Lo studio comparativo con i geni dello stesso tipo delle cellule eucariote e la ricostruzione del loro albero evolutivo ha mostrato che derivano invece da microrganismi diversi, e che sono entrati a far parte del genoma virale in momenti differenti, dando origine a una sorta di "virus Frankenstein".

"Secondo questo scenario - ha detto Tanja Woyke, coautrice dello studio - un virus piccolo ha infettato diversi ospiti eucarioti e acquisito, in modo frammentario e nell'arco di un lungo periodo di tempo, geni che codificano componenti del meccanismo di traduzione dei geni."

Quale sia l'effettiva funzione biologica di questi geni è ancora oscuro, e tale rimarrà almeno fino a quando non si riuscirà a coltivarli insieme ai loro ospiti, un particolare gruppo di protisti (microrganismi unicellulari eucarioti). Neppure il loro impatto su questi protisti è ancora chiaro, anche se si pensa che possano influire in modo significativo sulla loro capacità di convertire l'ammoniaca in nitrati.

www.lescienze.it, 7 aprile 2017

La vita sociale segreta dei virus



(© Jesper Klausen/Science Photo Library / AGF)

Anche i virus, pur essendo così semplici, hanno una vita sociale che influenza la loro forma fisica e la loro evoluzione. I ricercatori stanno iniziando a comprendere i modi in cui collaborano tra loro e a volte si manipolano a vicenda

di Viviane Callier

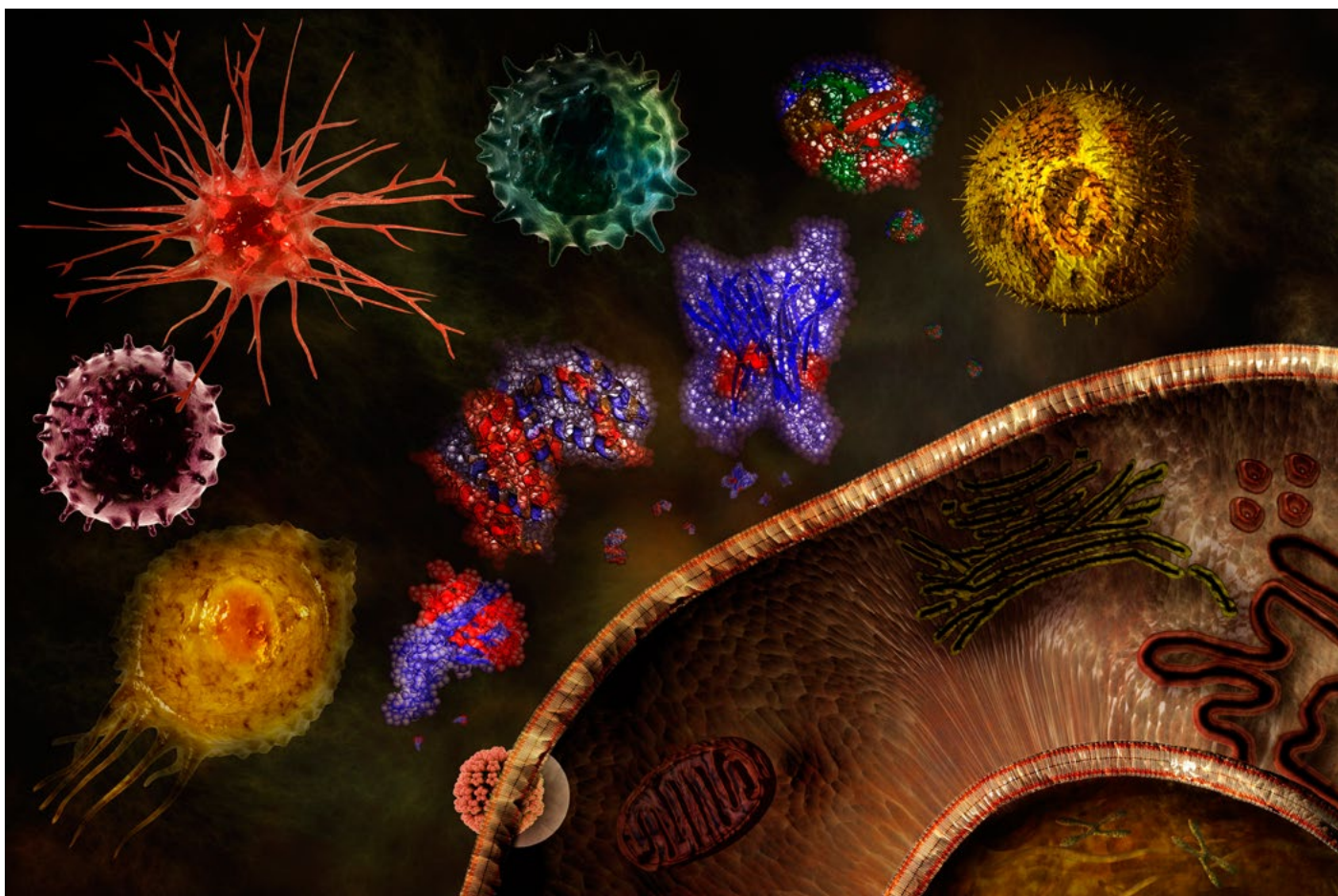
Esistono organismi sociali di tutte le forme e dimensioni, da quelli chiaramente gregari come i mammiferi e gli uccelli fino a quelli che hanno una vita sociale più nascosta, come i batteri. I biologi evolucionisti spesso si interrogano sui comportamenti altruistici, perché di primo acchito nella selezione naturale gli individui che si sacrificano sembrerebbero trovarsi in grave svantaggio.

William D. Hamilton, uno dei più importanti teorici dell'evoluzione del XX secolo, ha sviluppato una teoria matematica per spiegare l'evoluzione dell'altruismo attraverso la selezione parentale, ossia perché, per

esempio, la maggior parte delle singole formiche, api e vespe rinuncia alla capacità di riprodursi per dedicare il massimo impegno nell'allevamento dei fratelli.

I batteriologi hanno sviluppato modelli di teoria dei giochi per spiegare perché i batteri riuniti in gruppi producono metaboliti per i loro vicini, anche se alcuni imbrogliano e approfittano della situazione.

Ma fino a poco tempo fa, nessuno aveva considerato che anche i virus, pur essendo così semplici, hanno una vita sociale che influenza la loro forma fisica e la loro evoluzione.



Gli interferoni sono una delle componenti dell'immunità innata che concorrono ad arginare le infezioni virali. (© Carol&Mike Werner/Science Photo Library/AGF)

"Da una prospettiva teorica, per i virus c'è chiaramente un enorme potenziale di interazione sociale, che va dalla possibilità di cooperazione al conflitto", ha scritto in una e-mail a "Quanta" Stuart West, un biologo dell'Università di Oxford che studia l'evoluzione dei comportamenti sociali. "Tuttavia, ci sono stati pochi tentativi di affrontare empiricamente questo aspetto".

In un recente studio pubblicato su "Nature Microbiology", Rafael Sanjuán, genetista evolutivo all'Università di Valencia, in Spagna, e colleghi, hanno usato una combinazione di teoria ed esperimenti per esplorare la cooperazione e il conflitto tra i virus.

Hanno scoperto che la struttura spaziale di un'infezione virale - il modo in cui diversi gruppi di virus possono essere isolati in comparti separati dell'organismo infetto - ha un peso enorme. In un sistema uniformemente mescolato, i virus altruisti sono vittima di "imbrogliatori" che approfittano dei loro sacrifici, ma se vi sono distretti del corpo in cui gli altruisti possono isolarsi e ripararsi, hanno una possibilità di sopravvivenza.

Prendiamo il virus della stomatite vescicolare (VSV), un membro meno pericoloso della stessa famiglia virale della rabbia. Le infezioni virali di solito stimolano le cellule dei loro ospiti mammiferi a produrre interferoni, proteine di

segnalazione che aumentano le difese antivirali delle cellule vicine e interferiscono con la replicazione virale. Il ceppo selvatico di VSV ha sviluppato dei modi per sopprimere il sistema immunitario innato del suo ospite, ma a costo di riprodursi più lentamente. Questo permette alla popolazione di quei virus di prosperare, a meno che non si presenti una variante "imbrogliata".

L'imbrogliatore non ha la capacità di sopprimere le difese del suo ospite; e infatti, la sua presenza stimola il rilascio di interferoni. Ma può comunque approfittare di una risposta immunitaria ridotta a causa dei vicini VSV che sopprimono il rilascio di interferone. Poiché gli imbrogliatori non pagano il costo riproduttivo della soppressione dell'interferone, nel breve termine possono superare il virus di ceppo selvatico. Da un punto di vista del comportamento sociale, come hanno sottolineato Sanjuán e colleghi nel loro articolo, la soppressione dell'interferone da parte del VSV selvatico si qualifica come atto altruistico perché in effetti il ceppo selvatico si sacrifica per l'imbrogliatore. Alla fine, però l'interferone prodotto dall'ospite come risposta travolge entrambi i tipi di virus e li uccide. Si potrebbe quindi pensare che la selezione naturale debba eliminare sempre la capacità di sopprimere l'interferone perché l'altruismo dei virus che ce l'hanno li farebbe rimanere sempre in svantaggio.

Lo studio di modellazione di Sanjuán dimostra, però, che non è necessariamente così: il virus altruistico che sopprime l'interferone può ancora evolvere e prosperare se è fisicamente segregato. Le strutture e le barriere presenti nel corpo possono creare dei paradisi dove i virus che sopprimono l'interferone possono sopravvivere, al riparo dai danni che gli imbroglioni altrimenti causerebbero loro.

Per modellare le condizioni specifiche in cui può verificarsi la soppressione dell'immunità innata, i ricercatori hanno usato il quadro teorico sviluppato da Hamilton. Secondo la regola di Hamilton, l'altruismo si evolve quando $r \times B > C$, dove B è il beneficio per il ricevente, r è la relazione del ricevente con chi dona, e C è il costo per chi dona.

I ricercatori hanno anche usato un parametro per indicare che il beneficio, B, dipende dal fatto che un virus sia circondato da vicini di casa di ceppo selvatico o di ceppo imbroglione. Applicando la regola di Hamilton a combinazioni ben miscelate e spazialmente separate delle due varianti di VSV, hanno potuto stimare empiricamente i parametri dell'equazione di Hamilton.

"Perché si evolva la soppressione dell'immunità innata, è necessaria una struttura spaziale", ha detto Sanjuán.

Poiché sia il virus che la risposta dell'ospite si diffondono da cellula a cellula, è di fatto abbastanza difficile che durante l'infezione non emergano di strutture spaziali. Le limitazioni alla velocità di diffusione delle particelle virali e delle molecole di interferone, così come le barriere fisiche nei tessuti del corpo, creano facilmente un'eterogeneità spaziale, permettendo così alla soppressione dell'immunità innata di evolversi.

Negli animali con comportamenti complessi e nei batteri con sistemi di comunicazione relativamente complessi, gli esiti degli scenari evolutivi sono influenzati da molti fattori. Nel caso dei virus, "è molto più semplice", ha detto Sanjuán. "Tutto è dettato dalla struttura spaziale. Non c'è nessun altro processo noto che possa influenzare il risultato del sistema. Se i virus sono misti, allora questo altruismo non può evolvere, mentre se sono segregati, l'altruismo può evolvere".

Un altro aspetto dell'evoluzione sociale dei virus che Sanjuán sta indagando è il motivo per cui a volte particelle virali multiple si riuniscono e infettano insieme una cellula. Il problema è che, se le particelle virali si assemblano, ci sono meno unità a infettare cellule diverse. Quindi "in linea di principio, questo è costoso perché limita la capacità di diffusione", ha detto Sanjuán.

Ma il suo team ha scoperto con sorpresa che i virus aggregati crescono più velocemente e producono più

progenie. Questo dipendeva dal tipo di cellula: nelle cellule tumorali che non hanno immunità innata, essere aggregati era costoso. Ma nelle cellule normali, che stimolano una risposta immunitaria innata, essere aggregati era vantaggioso per i virus perché permetteva loro di sopraffare la risposta immunitaria innata, ha suggerito Sanjuán.

Anche se la strategia di aggregazione per l'infezione sembra vantaggiosa per il virus, anch'essa può portare all'evoluzione di imbroglioni.

Per esempio, se nell'aggregato un virus perde alcuni geni, può replicarsi più rapidamente, e grazie a questo vantaggio può superare gli altri. Questi virus con meno geni sono noti come particelle difettive interferenti (DIP): a molti di essi manca il 90 per cento circa del genoma virale e sopravvivono sotto forma di un piccolo pezzo di RNA che può replicarsi molto rapidamente all'interno di un ospite (di solito, a causa della loro incompletezza non possono infettare un nuovo ospite). In colture cellulari con un'alta densità di infezioni virali, le DIP prendono il sopravvento e presto rappresentano più del 99 per cento della popolazione virale, ha detto Sanjuán.

L'esistenza delle DIP può riguardare anche un altro enigma: i virus modulano le loro interazioni reciproche in base alle esigenze del loro ciclo di vita?

L'autore

Raul Andino, virologo all'Università della California a San Francisco, sottolinea che all'inizio dell'invasione di un ospite, un virus potrebbe volere un sacco di compagnia perché infezioni multiple simultanee possono aumentare le sue probabilità di successo "Ma in una fase successiva possono volere una riduzione della molteplicità di infezioni, per ridurre la possibilità di produzione di queste particelle difettive", ha detto. "E' una cosa che non comprendiamo appieno, ma è un problema davvero interessante.

www.lescienze.it, 19 aprile 2019

La replicazione alternativa dei virus che sparpagliano il genoma



© Rune Fisker/Quanta Magazine

Un principio classico della virologia è che i virus infettano cellule singole e si replicano al loro interno. Ma studi recenti hanno dimostrato che alcuni di essi spargono i loro geni tra molte cellule, da cui creano poi nuovi virus completi condividendo i prodotti dei geni

di Viviane Callier

Per un virus, che è un genoma compatto ben confezionato in un rivestimento di proteine, sopravvivere significa invadere una cellula, impadronirsi del suo macchinario per produrre le proteine per riprodursi e poi diffondersi ad altre cellule. Potrebbe sembrare ovvio che per riuscirci l'intero piccolo genoma di un virus debba trovarsi all'interno di una cellula infettata. Uno studio pubblicato di recente su "eLife", tuttavia, ribalta l'idea.

Alcuni virus non si limitano a dividersi in segmenti multipli che infettano separatamente le cellule ospiti, ma, come hanno scoperto i ricercatori francesi, possono prosperare spargendo i loro genomi come tessere di un puzzle in molte cellule ospiti. Qualcosa - probabilmente la diffusione di molecole tra le cellule infette - ne permette la replicazione, l'autoassemblaggio in particelle virali complete e la propagazione dell'infezione. "È possibile avere tutti i prodotti genetici necessari per produrre nuovi virus all'interno di una cellula che in realtà non contiene tutti i segmenti genici", ha spiegato Christopher Brooke, virologo all'Università dell'Illinois a Urbana-Champaign.

La concezione classica della virologia presuppone che il ciclo di replicazione virale avvenga all'interno delle singole cellule", ha detto Anne Sicard, autrice del nuovo studio e fitopatologa all'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) di Montpellier. Ma nel caso del virus "multipartito" che lei e i suoi colleghi hanno esaminato, "sembra che non sia così. I segmenti infettano le cellule in modo indipendente e si accumulano in modo indipendente

nelle cellule ospiti della pianta". Ha aggiunto: "Di fatto dimostra che il virus non funziona a livello di singola cellula, ma a livello multicellulare".

I virus multipartiti sono noti da oltre mezzo secolo, cioè da quando i ricercatori si sono resi conto che un virus può essere composto da due o più pezzi indipendenti, tutti vitali ai fini dell'infezione. Un pezzo, per esempio, può servire a produrre enzimi virali essenziali, mentre un altro è necessario per realizzare il capsido in cui le particelle virali (o virioni) sono imballate e trasportate verso altre cellule.

Ma essere multipartiti comporta notevoli rischi. Non è difficile che parti del genoma vadano perse o dimenticate, interrompendo il resto del ciclo dell'infezione. Poiché i segmenti si trovano spesso in proporzioni diverse - alcuni possono essere comuni, e altri rari - quelli rari possono essere persi con particolare facilità.

Da quando li hanno scoperti, gli scienziati si sono quindi posti molte domande sui virus multipartiti. "Perché mai un virus dovrebbe fare così? Perché spezzettare il genoma? Quali sono i vantaggi di avere segmenti confezionati separatamente?", si chiede Mark P. Zwart, studioso dell'evoluzione dei virus al Netherlands Institute of Ecology.

Per cercare di rispondere a queste domande, i teorici hanno sviluppato modelli per definire le circostanze in cui questo stile di vita multipartita potrebbe essersi evoluto da un

antenato virale più tipico, presupponendo che a infettare una cellula debba essere l'insieme completo dei segmenti virali. Ma i risultati sono stati sconcertanti. Uno studio del 2012 ha concluso che, quali che possano essere i benefici della multipartizione, gli svantaggi sono così grandi che non dovrebbero poter esistere virus con più di quattro segmenti. Eppure si sapeva che alcuni virus multipartiti - come il Faba bean necrotic stunt virus (FBNSV) - avevano fino a otto segmenti, ciascuno trasportato in una particella diversa. In linea teorica, non avrebbero potuto evolversi. Che cosa ne può spiegare l'esistenza?

"Abbiamo pensato che il modo in cui concettualizziamo questi virus dovesse essere sbagliato", ha detto Stéphane Blanc, virologo vegetale dell'INRA e autore senior del nuovo studio. Hanno così deciso di verificare il presupposto chiave che tutti i segmenti debbano essere presenti all'interno di una cellula perché l'infezione abbia successo. "Non lo si è fatto prima perché sembrava così evidente che di fatto nessuno lo ha testato", ha detto.



La trasmissione dei virus multipartiti da una pianta all'altra avviene grazie agli afidi (© SPL/AGF)

Quello che hanno trovato esaminando le infezioni da FBNSV li ha lasciati stupefatti. Etichettando due segmenti virali alla volta con sonde fluorescenti di diverso colore, il team ha potuto constatare che la maggior parte delle singole cellule vegetali ospiti esaminate non conteneva l'intera gamma di segmenti virali. Inoltre, i ricercatori hanno dimostrato che una proteina necessaria per la replicazione virale era presente anche in cellule che in cui mancava il segmento di genoma che la codificava.

Ne hanno dedotto che i prodotti genici delle particelle del virus - molecole di RNA messaggero o proteine - devono

essere condivise tra le cellule, in modo che ogni particella possa replicarsi e confezionarsi in un capsid per poi diffondersi. In che modo esattamente questi componenti indispensabili siano condivisi tra le cellule vegetali non è del tutto chiaro, ma Blanc e il suo team lo stanno studiando. La risposta potrebbe coinvolgere i plasmodesmi, reti di canali microscopici che si estendono attraverso le pareti cellulari delle piante e permettono a cellule adiacenti di condividere altre proteine.

Questa nuova comprensione spiega come un virus multipartito può sostenere infezioni all'interno di una pianta, ma apre nuovi misteri su come si diffonde. FBNSV, per esempio, per trasmettersi dipende dagli afidi che mangiano le piante di fagioli faba.

Ma questi piccoli insetti devono acquisire tutti insieme gli otto segmenti di FBNSV e introdurli nella stessa pianta per trasmettere con successo l'infezione. Si può supporre che buona parte degli eventi infettivi non riesca perché gli afidi raccolgono solo un sottoinsieme delle otto particelle. La scoperta "diminuisce il problema a livello dell'ospite perché le particelle non devono raggiungere tutte le cellule insieme, ma abbiamo ancora un problema di trasmissione tra ospite e ospite", ha detto Blanc.

Anche il motivo per cui un virus dovrebbe avvantaggiarsi di uno stile di vita multipartito è oggetto di dibattito. Un'ipotesi, dice Blanc, è che la suddivisione del genoma permette a ciascun segmento di variare la frequenza di regolazione dell'espressione genica in un rapido ed efficace, perché il livello di attività di un certo gene può dipendere dal numero delle sue copie in una cellula. Ogni volta che il virus infetta un nuovo ospite, la frequenza dei segmenti cambia, e questo potrebbe consentire al virus di testare quale livello di espressione genica funziona meglio in un nuovo ambiente cellulare.

Eric Freundt, virologo all'Università di Tampa, ipotizza che se le difese innate di una pianta ospite distruggono solo le cellule che esprimono particolari proteine virali, allora la distribuzione dei geni per le proteine in particelle diverse potrebbe garantire che in alcune cellule il virus non venga individuato. Un'altra possibilità, suggerisce Freundt, è che la distribuzione in punta di piedi permetta di evitare una "risposta proteica dispiegata" che può uccidere le cellule, travolte da un virus che cerca di produrre tutte le sue proteine nello stesso momento. Distribuendo il suo genoma fra molte cellule vegetali, il virus può evitare di sopraffare il meccanismo di ogni singola cellula. Tuttavia, Blanc e Freundt sono pronti a riconoscere che queste sono solo ipotesi. "La ragione della loro evoluzione è ancora un mistero", dice Blanc.



Anne Sicard, autrice principale dello studio (© Anne Sicard)

Zwart sottolinea che la maggior parte delle idee sui vantaggi della multipartizione riguardano in realtà la segmentazione del genoma, non la suddivisione del virus in diverse unità infettive. La separazione in segmenti del genoma permette a virus diversi di ricombinare facilmente varie forme vantaggiose dei loro geni.

Arvind Varsani, un virologo all'Arizona State University, è d'accordo. "Da una prospettiva di modularità, si possono vedere i vantaggi dei virus multicomponente in cui ogni modulo può essere indipendente", dice. In una pianta infettata da più virus, "è possibile ottenere elementi utili molto più rapidamente e adattarsi all'ambiente mescolandoli e abbinandoli".

La prova della forza di questa strategia si trova nel virus dell'influenza, un maestro del riassortimento. Anche il genoma dell'influenza ha otto segmenti, anche se sono tutti confezionati insieme in un capsido virale. Ciò consente di raccogliere i benefici della segmentazione senza pagare tutti i costi della multipartizione.

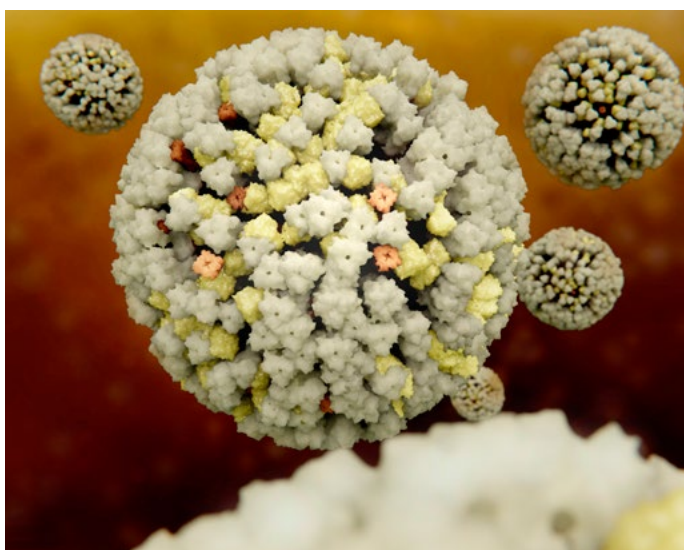


Illustrazione computerizzata di virus dell'influenza (© Juan Gaertner/SPL/AGF)

Ma l'influenza potrebbe essere simile a FBNSV più di quanto sembri a prima vista. Brooke ha scoperto che, a seconda del ceppo, solo una piccola frazione (dall'uno al 10 per cento) delle particelle del virus influenzale contiene copie funzionali di tutti e otto i segmenti del genoma. "La stragrande maggioranza delle particelle influenzali sono incomplete, o quelle che noi chiamiamo semi-infettive, particelle che da sole non sono in grado di avviare la replicazione produttiva", ha spiegato. "Questa è stata una sorpresa perché suggerisce che questo virus, che è di enorme successo e molto trasmissibile, deve la sua esistenza in buona parte a queste particelle che non possono replicarsi da sole".

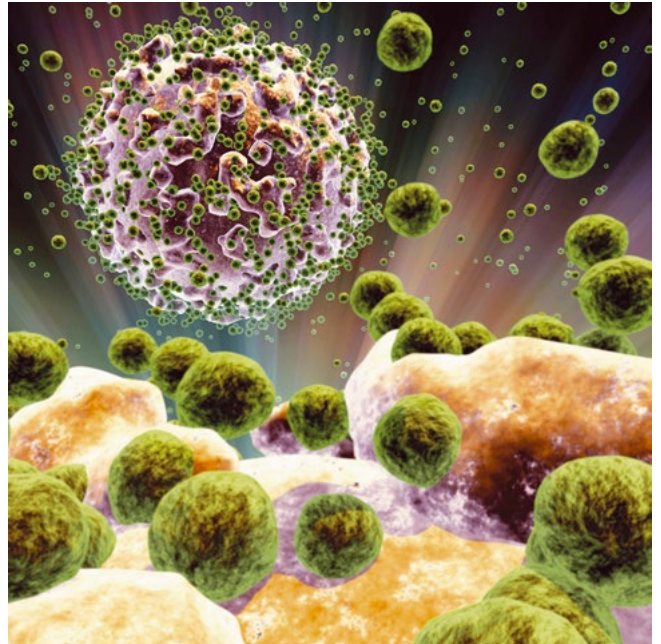
E prevede: "Chiedersi in che modo i virus operano come popolazioni invece che come singole particelle di virioni alla fine si rivelerà importante per molti sistemi virali differenti".

Parte di questa importanza è concettuale: pensare che il DNA all'interno di un singolo capsido virale definisca il suo genoma potrebbe essere riduttivo. Sarebbe forse meglio immaginare un genoma virale come una suite di geni rappresentati in un'intera popolazione virale. I teorici ne stanno già approfondendo le implicazioni.

Zwart si aspetta che presto salteranno fuori nuovi modelli teorici per esplorare queste intuizioni, relativi per esempio ai possibili modi di inquadrare l'evoluzione di questi virus in termini di molteplici livelli di selezione naturale. All'interno di una singola pianta ospite, le forze di selezione naturale locali permettono al virus di bilanciare con successo i tassi di produzione dei suoi segmenti. Ma quando il virus passa a una nuova pianta, deve essere in grado di adattarsi anche al nuovo ambiente che lo ospita, e dunque deve mantenere una certa versatilità. Un livello di selezione più elevato può quindi a volte temperare il livello locale e riequilibrare il rapporto tra i segmenti in modo più uniforme. "C'è un'enorme ricchezza in tutte queste dinamiche", dice Zwart. "È davvero affascinante".

www.lescienze.it, 24 maggio 2019

Virus e immunità



Particelle di HIV, o virioni (in verde), emergono da linfociti T4 dopo l'infezione del virus. Il ciclo vitale dell'HIV è un esempio di manipolazione virale del sistema immunitario (© SPL/AGF)

Imparare dal nemico per sconfiggerlo è la strategia messa in atto dagli immunologi per combattere alcuni virus che manipolano il sistema immunitario, causando gravi malattie

di Alberto Mantovani

Paragonato per la sua estrema complessità al sistema nervoso centrale, il sistema immunitario permette all'organismo di combattere gli agenti infettivi come virus e batteri e di mantenere l'omeostasi, cioè la condizione di stabilità interna, anche a fronte del variare delle condizioni esterne. È come una grande orchestra con direttori, orchestrali e strumenti (non ancora tutti identificati) che suona seguendo due parole chiave: riconoscimento e comunicazione. Riconoscimento perché deve individuare la presenza di invasori come virus e batteri, aggredirli e riparare il danno subito. E comunicazione perché, per fare tutto questo nel modo giusto e senza procurarsi danni, è necessario un sistema di comunicazione efficace ed efficiente.

La complessità del sistema immunitario riflette in parte il nostro rapporto evolutivo con gli agenti microbici come batteri e virus. Nel nostro organismo, composto da 100.000 miliardi di cellule, convivono almeno 10 milioni di miliardi di microrganismi «estranei».

Nell'evoluzione delle difese immunitarie, dunque, è stata fondamentale la selezione dei microrganismi «buoni» (come la flora intestinale, che ci aiuta dal punto di vista metabolico e promuove la maturazione del sistema immunitario stesso) rispetto a quelli che invece per noi sono un pericolo. Fra questi ultimi ci sono i virus, in grado

di sviluppare numerose e differenti mutazioni che, in qualche modo, hanno contribuito a dare forma al nostro sistema immunitario.

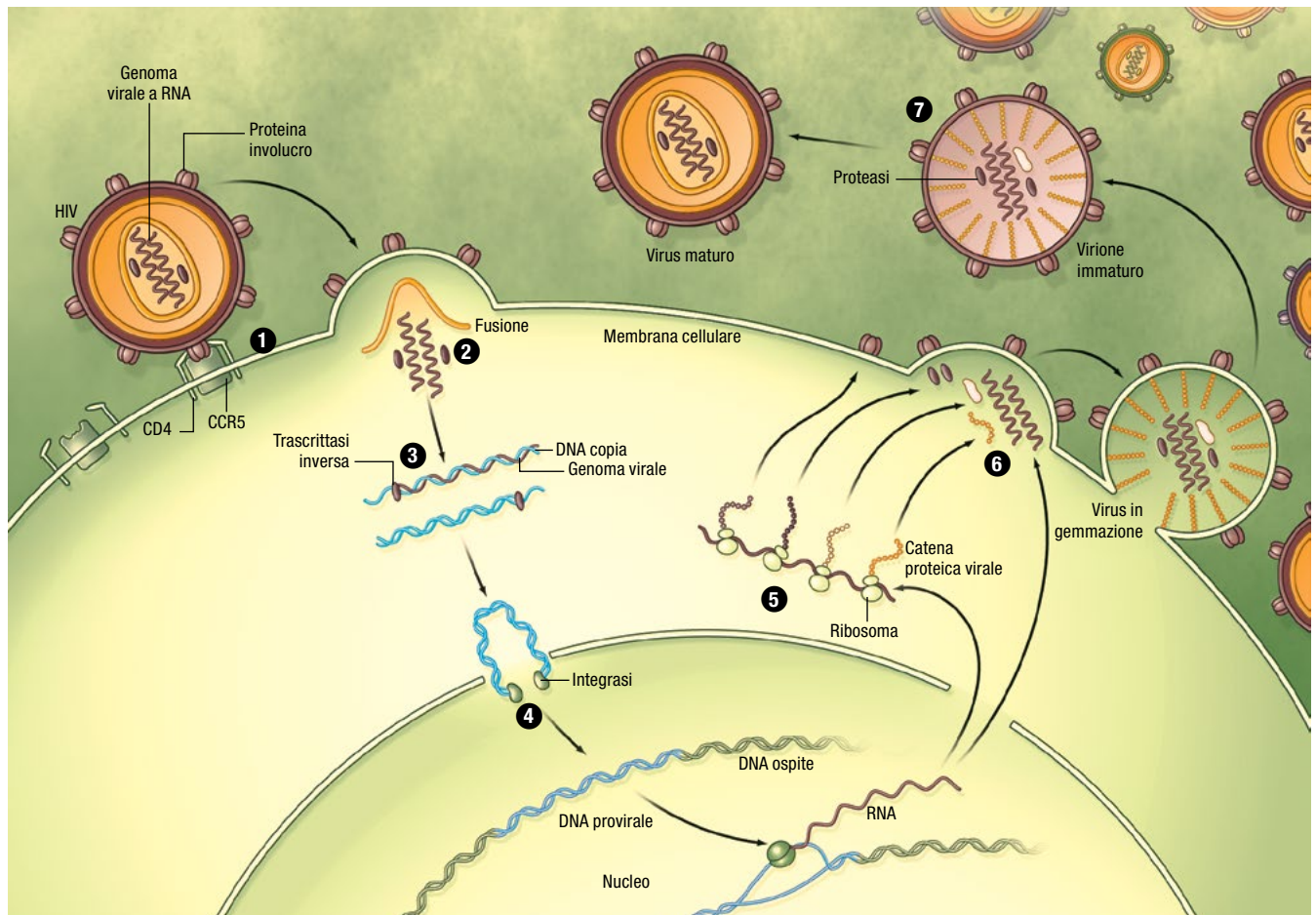
In questo rapporto di lunga data i virus hanno imparato a «conoscere» il nostro sistema immunitario, in termini evolutivisti, molto meglio degli stessi immunologi. Ecco perché per sconfiggere i virus è nata l'idea di «andare a scuola» proprio dai virus stessi, con l'obiettivo di imparare a manipolare il sistema immunitario.

Porte d'entrata, segnali di allarme

In che modo i virus entrano nel nostro organismo? Patogeni anche molto diversi tra loro adottano tattiche simili per aggredirci. Mettono in atto strategie molto sofisticate e astuti stratagemmi per camuffarsi e non farsi riconoscere, e dunque contrastare, dalle nostre difese naturali: i globuli bianchi, paragonabili ad agenti di polizia che pattugliano costantemente il nostro organismo.

Alcuni virus usano le molecole del sistema immunitario come porte d'entrata per infettare le nostre cellule e come veicolo per diffondersi, arrivando anche in zone altrimenti inviolabili come il sistema nervoso centrale. L'HIV, per esempio, usa i recettori (strutture presenti sulla superficie delle cellule dell'immunità) indicati con le sigle CD4, CCR5 e CXCR4.

Ingannare le serrature cellulari



Un esempio di manipolazione del sistema immunitario per opera di un virus è fornito dal ciclo vitale dell'HIV. Questo virus invade le cellule dell'immunità e ordina ai meccanismi cellulari di creare nuove copie di se stesso. In primo luogo una proteina del virus – detta involucro, o envelope – si deve legare alle proteine CD4 e CCR5 sulla superficie della cellula (1). In seguito alla fusione con la cellula, il virus riversa il proprio contenuto

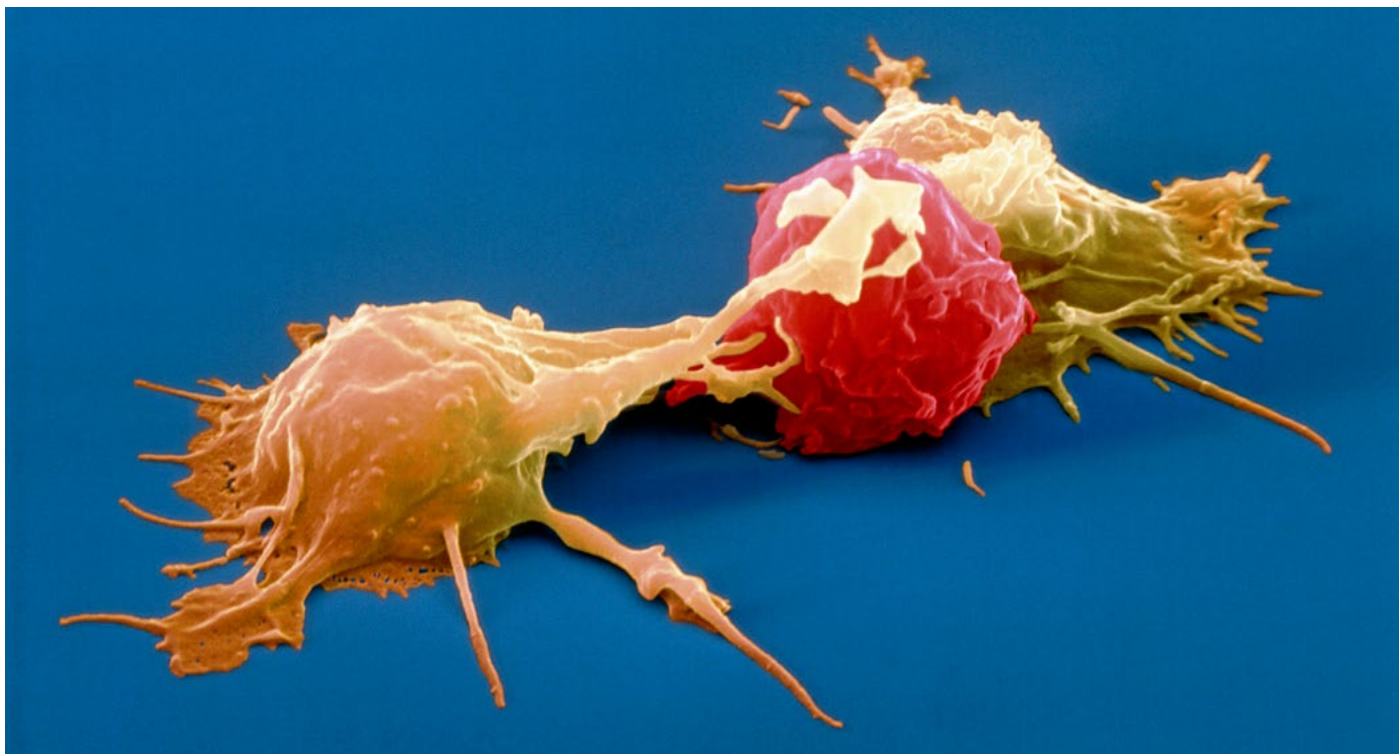
nel citoplasma (2). Un enzima virale, la trascrittasi inversa, copia il genoma a RNA del virus in DNA a doppia elica (3), commettendo spesso errori che generano diversità tra le copie del virus. Un altro enzima virale, l'integrasi, inserisce la copia nel DNA ospite (4). I meccanismi cellulari trascrivono i geni virali, producendo nuovo RNA (tra cui quello che serve da stampo per le proteine) che migra verso il citoplasma, dove i

ribosomi producono le proteine codificate (5). L'RNA e le proteine virali si muovono quindi verso la membrana cellulare, dove si riuniscono in una particella virale in gemmazione. Nella nuova copia immatura del virus, la proteasi (un enzima dell'HIV) modifica le catene proteiche virali, consentendo alle particelle, o «virioni», di maturare in una forma pronta a infettare una nuova cellula (7).

Agli ultimi due si legano le chemochine, vere e proprie «parole» dell'infiammazione, che hanno il compito importante di richiamare – nel luogo, nel momento e nella quantità giusta – i globuli bianchi che difendono il nostro organismo dagli agenti esterni e orchestrano il riparo di tessuti e organi danneggiati. La scoperta di questo meccanismo di aggressione messo in atto dall'HIV ha aperto la strada allo sviluppo del Maraviroc, un farmaco, oggi in uso clinico, che interferisce con questo sistema

chiudendo al virus una delle porte di ingresso. La stessa strategia è usata anche da patogeni più complessi dei virus. Un altro recettore della stessa famiglia di CCR5 (detto DARC), per esempio, è la porta d'entrata nei globuli rossi di uno dei plasmodi che causano la malaria: *Plasmodium vivax*.

Il nostro sistema immunitario ha il compito di riconoscere patogeni e virus come estranei potenzialmente dannosi per reagire ed eliminarli.



Due cellule natural killer (NK) all'attacco di una cellula cancerosa (© SPL/AGF)

E visto che deve affrontare problemi molto diversi – dai parassiti di grosse dimensioni come i vermi intestinali, ai nemici invisibili come i virus – ha sviluppato armi diverse.

All'interno del nostro sistema di difesa si distinguono generalmente due diverse categorie: l'immunità non specifica o innata, la più antica, e l'immunità specifica o adattativa. L'immunità innata funziona come prima linea contro le infezioni, e lancia l'allarme che fa partire le difese più sofisticate. Le cellule di questa parte del sistema immunitario identificano la presenza dei virus riconoscendone DNA e RNA grazie a sensori, localizzati sulla superficie cellulare, nel compartimento endosomiale (i vacuoli che si formano quando le cellule dell'immunità innata inglobano un microbo e lo digeriscono, formando gli acidi nucleici), o nel citoplasma (i recettori della famiglia Toll e Rìg1).

Quella dei sensori dell'immunità innata è una scoperta molto recente, che a partire da microrganismi, batteri e virus sta arrivando alla clinica. In particolare si stanno sviluppando farmaci che interagiscono con i sensori per spegnerli, se accesi in modo inappropriato, o per accenderli, se è necessario amplificare la risposta immunitaria, come nel caso degli adiuvanti nei vaccini.

Se un agente infettivo supera la resistenza iniziale dell'immunità innata, entra in gioco quella adattativa (o acquisita), che produce una risposta immunologica specifica di cui l'organismo conserva memoria. Se a distanza di tempo l'organismo entra di nuovo in contatto

con lo stesso agente infettivo, nella maggior parte dei casi risulta immune, e quindi protetto. Le vaccinazioni, per esempio, sfruttano la specificità e la memoria dell'immunità acquisita, che si manifesta con la produzione di anticorpi che bloccano i virus in circolo, o di linfociti T che uccidono le cellule infettate.

Carte d'identità

I linfociti T sono i direttori d'orchestra del sistema immunitario, perché guidano il traffico delle cellule e delle molecole deputate a difenderci, indirizzandole nel luogo, nel momento e nella quantità giusta. Questi linfociti pattugliano l'organismo controllando la «carta di identità» – cioè le molecole che fanno parte del complesso maggiore di istocompatibilità – delle nostre cellule. Quando i virus ci infettano, aggiungono un pezzo a questa carta di identità: riconoscendolo come estraneo, i linfociti T innescano un complicato processo di reazione al termine del quale uccidono la cellula contaminata.

Alcuni virus, in particolare quelli della famiglia dell'herpes, si sono evoluti in modo da far sparire la carta d'identità delle cellule che infettano, rendendole invisibili agli occhi dei linfociti T. E se da una parte il nostro sistema immunitario riesce comunque, data la sua complessità, a riconoscere e combattere molti di questi virus (i nostri linfociti NK, o cellule natural killer, si accorgono della mancanza di carta d'identità), dall'altra i virus hanno imparato a ingannare e disorientare le nostre cellule di difesa, sviluppando sofisticate strategie di evasione dai loro attacchi.

Cavalli di Troia e pirati molecolari

Per sfuggire al riconoscimento del sistema immunitario o tenerne sotto controllo la reazione, i virus della classe Vaccinia usano come cavallo di Troia le cellule morte: mascherandosi da cellule morte, questi virus sono inglobati dagli spazzini molecolari, cioè cellule che hanno lo specifico compito di mantenere pulito il nostro organismo.

I virus di tipo erpetico, fra cui quello del vaiolo, hanno invece sviluppato strategie per bloccare i segnali di comunicazione dell'immunità (le citochine). Questi virus si comportano come pirati molecolari: nella loro evoluzione genetica hanno catturato alcune molecole dell'immunità e se ne servono per sovvertire e tenere sotto controllo i diversi compartimenti del sistema immunitario. Per esempio producono «specchietti per le allodole», i cosiddetti decoy receptor, che bloccano i sistemi di comunicazione e attacco. In questo modo sono disattivati gli interferoni, che hanno attività antivirale, le chemochine, che attirano i globuli bianchi preposti alla difesa, e le citochine, che inviano segnali di allarme al sistema immunitario.

Il virus del sarcoma di Kaposi (HHV8), che in alcuni casi accompagna l'HIV, fornisce un buon esempio delle sofisticate strategie usate dai patogeni per deviare e sovvertire le difese immunitarie: nel corso dell'evoluzione HHV8 si è comportato come un pirata molecolare. Questo virus causa alcuni tumori rari, fra cui appunto il sarcoma di Kaposi, cancro endemico in alcune aree geografiche (per esempio in Sardegna) la cui incidenza aumenta nei pazienti affetti da HIV e diminuisce in seguito al controllo dell'infezione. HHV8 ha catturato un recettore delle chemochine che usa per trasformare le cellule sane in cellule tumorali: come un interruttore sempre acceso, fa proliferare le cellule di endotelio linfatico infettate, che diventano fusiformi.

Inoltre, studi anche del nostro gruppo hanno dimostrato che HHV8 ha catturato geni di alcune chemochine, scegliendo quelle che richiamano cellule che non fermano né il virus né il tumore, ma che anzi aiutano entrambi a proliferare. Un po' come se in guerra il nemico facesse arrivare ingegneri che costruiscono ponti invece di carri armati.

A scuola dai virus

Nel tempo, quindi, i virus hanno imparato a conoscere il sistema immunitario e a eludere i suoi attacchi per sopravvivere. Per questo gli immunologi ne hanno osservato con attenzione il comportamento, prendendo spunto da alcuni trucchi che usano per sovvertire le nostre difese.

Sulla base anche della scoperta delle molecole piratate dai patogeni abbiamo sviluppato il concetto di trappole molecolari, falsi recettori (i recettori decoy) che intrappolano la molecola che dovrebbe scatenare la risposta immunitaria, impedendo l'inizio dell'infiammazione. Dal concetto di trappole molecolari sono derivate strategie terapeutiche innovative, che hanno migliorato la vita di pazienti con malattie immunitarie e infiammatorie. Ora l'obiettivo degli immunologi è piratare gli stessi virus, usando le loro molecole per bloccare o controllare la risposta immunitaria. La scoperta di virus all'origine dello sviluppo di tumori ha aperto la strada a studi fondamentali per l'identificazione degli oncogeni, i bersagli contro cui sono puntate le armi terapeutiche.

Emblematico il caso del virus di Epstein-Barr, all'origine di alcune forme di linfoma, tra cui quello di Burkitt, e coinvolto anche nella patogenesi di alcuni tumori della testa e del collo. Oggi in clinica sono sperimentate terapie cellulari (linfociti rieducati) mirate a colpire il virus di Epstein-Barr per curare linfomi e cancro del rinofaringe.

L'autore

Alberto Mantovani è direttore scientifico dell'Istituto clinico «Humanitas», Istituto di ricovero e cura a carattere scientifico (IRCCS)

["Le Scienze", n. 505, settembre 2010](#)

I fattori virali che facilitano il contagio tra esseri umani

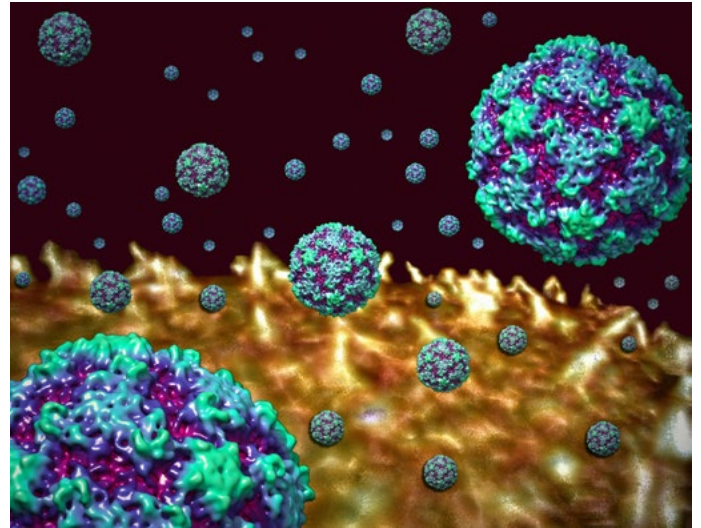


Illustrazione computerizzata di particelle di rinovirus, che si trasmette facilmente tra esseri umani (© Louise Hugues/SPL/AGF)

Per dare origine a un'epidemia non basta che un virus infetti gli esseri umani: deve anche poter passare da una persona all'altra. L'individuazione delle caratteristiche virali che favoriscono questa trasmissione permetterà di pianificare in modo più mirato gli interventi necessari per ridurre il rischio di pandemie

Una serie di fattori biologici che permettono di prevedere la probabilità di diffusione dei diversi tipi di virus nella popolazione umana sono stati identificati da un gruppo di ricercatori dell'Università di Sidney, che firmano un articolo sui "Proceedings of the National Academy of Sciences".

La maggior parte delle infezioni emergenti nasce dalla trasmissione di virus dagli animali all'uomo, ma molte di esse non provocano epidemie perché il patogeno non riesce a mantenere la trasmissione della malattia da una persona all'altra. Scoprire il prima possibile se l'infezione virale è in grado di trasmettersi tra esseri umani è quindi fondamentale per predisporre piani di intervento efficaci ma che non comportino uno spreco di risorse.

Emma L. Geoghegan e colleghi hanno preso in esame 203 virus che possono infettare gli esseri umani (38 a DNA e 165 a RNA), 105 dei quali sono capaci di trasmettersi da persona a persona, per poi analizzare con una serie di modelli statistici tutti i dati disponibili relativi ad aspetti chiave della storia di vita del virus e della sua ecologia.

I ricercatori hanno posto particolare attenzione a fattori come il tasso di mortalità dell'ospite; il tipo di genoma (DNA o RNA); la lunghezza del genoma (numero di nucleotidi); la durata dell'infezione (acuta o cronica); l'eventuale segmentazione in più parti del genoma; la frequenza della ricombinazione del genoma (classificata

come alta o bassa); la presenza o assenza di un involucro esterno di protezione, e le modalità di trasmissione del virus.

E' risultato che la probabilità di trasmissione da persona a persona è maggiore per i virus privi di involucro e con un genoma non segmentato, e che questa probabilità è tanto più elevata quanto minore è la mortalità dell'ospite e maggiore la capacità del virus di sopravvivere per un tempo prolungato nell'ospite (dando luogo a una patologia cronica).

"Per contro, i virus che hanno un involucro protettivo sembrano più facilmente degradabili dall'organismo umano e non sono stabili nell'ambiente. Inoltre, i virus che vengono trasmessi da insetti come le zanzare hanno meno probabilità di diffondersi tra gli esseri umani. Così, anche se malattie come la dengue e Zika sono giustamente oggetto di grande attenzione, costituiscono un'eccezione e non la regola."

www.lescienze.it, 22 marzo 2016

Una mappa dei virus che possono passare dai mammiferi all'uomo



© Kike Calvo/AGF

Pipistrelli, primati e roditori sono, nell'ordine, i mammiferi che ospitano i virus che si trasmettono più facilmente agli esseri umani. La probabilità del salto di specie dipende però anche da altri fattori, come l'area geografica, le opportunità di contatto con gli esseri umani e le caratteristiche specifiche dei virus

La prima mappatura globale del rischio che un virus patogeno diffuso in altre specie di mammiferi faccia un salto di specie causando una nuova malattia umana è stata pubblicata su "Nature" da un gruppo di ricercatori della EcoHealth Alliance di New York - una fondazione che studia i rapporti fra salute ambientale e salute umana.

Kevin Olival, Peter Daszak e colleghi hanno analizzato un database di oltre 2800 associazioni fra 754 specie di mammiferi (pari il 14 per cento di tutte le specie di mammiferi) e virus, identificando 586 differenti virus, 263 dei quali (il 44,8 per cento) sono stati rilevati sia negli esseri umani sia in altri mammiferi. Di questi 263, 75 sono virus tipici della nostra specie e la loro occasionale presenza in altri animali è dovuta a un salto di specie da noi a loro. I restanti 188 virus sono invece zoonotici, vale a dire che hanno fatto il percorso inverso.

I ricercatori hanno confermato che il rischio di trasmissione dei virus zoonotici all'uomo varia a seconda della vicinanza evolutiva con l'ospite abituale, ma anche dal numero di specie di altri mammiferi che i virus sono in grado di aggredire. Il precedente adattamento di un virus tipico di una specie lontana dalla nostra a una specie più vicina a noi rende infatti più probabile un ulteriore salto verso l'essere umano. Altrettanto importanti si sono comunque rivelate le opportunità di contatto con gli esseri umani e le specifiche caratteristiche del virus.

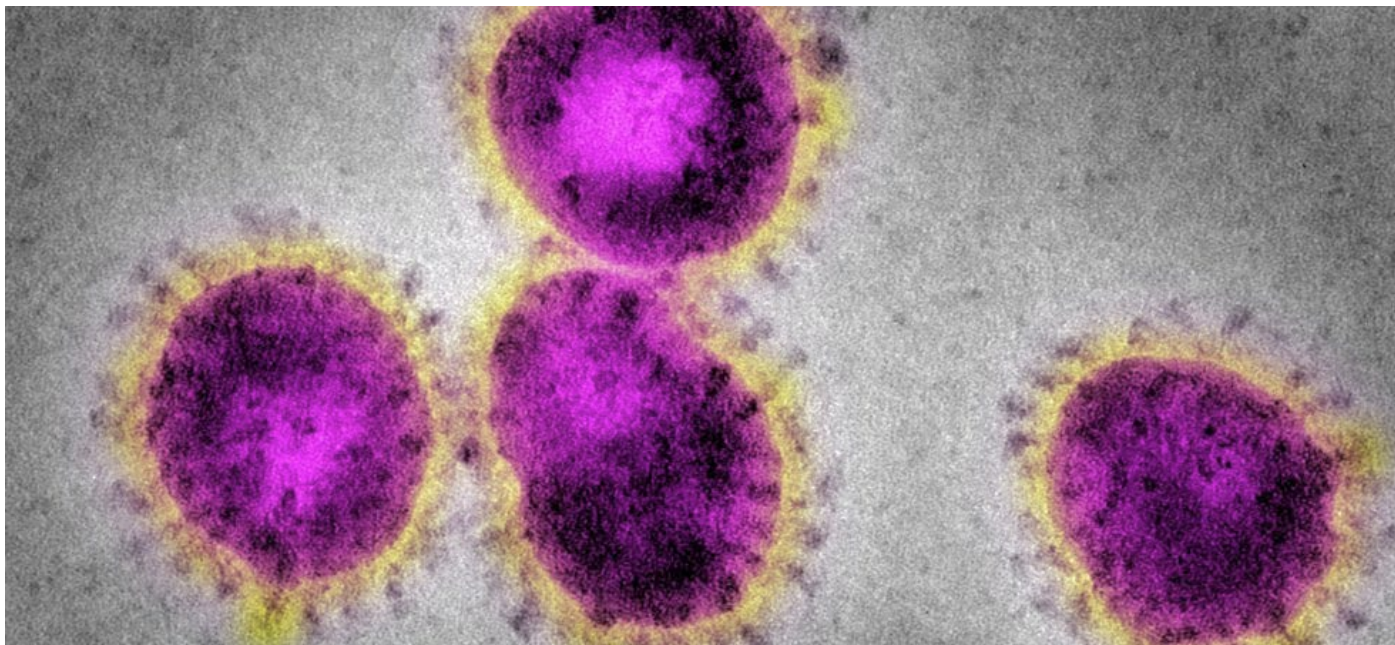
Dall'analisi dei dati raccolti, è risultato che i pipistrelli sono

i mammiferi che ospitano la più alta percentuale di virus zoonotici, seguiti dai primati e dai roditori. Quanto alle aree geografiche di endemismo dei virus zoonotici, sono emersi differenti modelli di diffusione. Per esempio, i virus zoonotici legati ai pipistrelli sono più diffusi in America meridionale e centrale e in alcune regioni dell'Asia. Al contrario, quelli dei primati tendono concentrarsi in America Centrale, Africa e Sud-Est asiatico; infine quelli provenienti dai roditori si trovano principalmente in alcune aree del Nord e del Sud America e dell'Africa Centrale.

Poiché la maggior parte delle nuove malattie infettive umane - come l'HIV, l'Ebola e la SARS - deriva da mammiferi selvatici, questo tipo di ricerche potrebbe aiutare il monitoraggio delle malattie emergenti e la prevenzione o il rapido confinamento di potenziali focolai. Un nota di commento allo studio firmata da James O. Lloyd-Smith, dell'Università della California a Los Angeles, sottolinea però che per arrivare a questo traguardo saranno necessari ancora molti studi.

www.lescienze.it, 22 giugno 2017

La minaccia dei coronavirus, dal raffreddore alla polmonite



Fotografia al microscopio elettronico del coronavirus che causa la SARS © Agf/Callista Images

L'epidemia attualmente in corso è causata dal virus 2019-nCoV, appartenente alla famiglia dei coronavirus, che comprende ceppi all'origine sia del comune raffreddore sia della letale SARS. I ricercatori stanno cercando di capire come evolvono questi patogeni e che cosa rende leggere oppure gravi le malattie che provocano

di Simon Makin

Il nuovo coronavirus del 2019 (2019-nCoV) responsabile dell'epidemia in corso – che l'Organizzazione mondiale della Sanità ha dichiarato emergenza sanitaria pubblica internazionale – prende il nome dalla famiglia di virus a cui appartiene. Il termine "coronavirus" poteva essere inizialmente sconosciuto a molti, ma la maggior parte di noi ha incontrato forme più blande di questi virus: quattro ceppi causano circa un quinto dei comuni casi di raffreddore. Altri tipi causano malattie endemiche in alcune popolazioni animali. Ma fino a meno di due decenni fa, tutte le varietà umane conosciute causavano malattie così lievi che la ricerca sui coronavirus è rimasta un po' indietro.

Tutto è cambiato nel 2003, quando l'agente patogeno dietro l'epidemia di SARS (sindrome respiratoria acuta grave) in Cina è stato identificato come un coronavirus. "Nell'ambiente siamo rimasti tutti sorpresi", dice la microbiologa Susan Weiss dell'Università della Pennsylvania. "E abbiamo iniziato a preoccuparci davvero

di questo gruppo di virus". Si ritiene che quell'epidemia sia iniziata quando un coronavirus è passato dagli animali – molto probabilmente zibetti – agli esseri umani, dando luogo a un tipo di malattia chiamata zoonosi. La propensione di questi virus a tali salti è stata evidente nel 2012, quando un altro virus è passato dai cammelli all'uomo, causando la MERS (sindrome respiratoria del Medio Oriente), che finora ha ucciso 858 persone, soprattutto in Arabia Saudita, cioè circa il 34 per cento dei contagiati.

Quasi certamente, la SARS, la MERS e il nuovo coronavirus hanno avuto tutti origine nei pipistrelli. L'analisi più recente del genoma 2019-nCoV ha rilevato che condivide il 96 per cento del suo RNA con un coronavirus precedentemente identificato in una precisa specie di pipistrello in Cina. "Questi virus sono stati a lungo diffusi tra i pipistrelli" senza far ammalare gli animali, spiega Stanley Perlman microbiologo dell'Università dell'Iowa.

Ma non c'erano pipistrelli in vendita al mercato animale di Wuhan, in Cina, dove si pensa che sia iniziata l'attuale epidemia, suggerendo che probabilmente era coinvolta una specie ospite intermedia. Questa situazione sembra essere una caratteristica comune a queste epidemie: gli ospiti intermedi possono aumentare la diversità genetica dei virus facilitando più o diverse mutazioni.

Ma cos'è un coronavirus? Qual è il fattore che determina se, quando e come passa agli esseri umani e quanto sarà contagioso? E cos'è che fa la differenza tra un caso di raffreddore e una malattia mortale? Negli anni trascorsi da quando questi virus sono emersi per la prima volta come una grave minaccia globale per la salute, i ricercatori hanno studiato la loro biologia molecolare nel tentativo di rispondere a queste domande.

Anatomia di un coronavirus

I coronavirus sono virus capsulati a RNA a singolo filamento: ciò significa che il loro genoma consiste di un filamento di RNA (invece che di DNA) e che ogni particella virale è avvolta in un "involucro" proteico. I virus fanno tutti fondamentalmente la stessa cosa: invadono una cellula e cooptano alcuni dei suoi componenti per fare molte copie di se stessi, che poi infettano altre cellule. Ma la replicazione dell'RNA manca tipicamente dei meccanismi di correzione degli errori che le cellule utilizzano quando copiano il DNA, quindi i virus a RNA sono affetti da errori durante la replicazione.

I coronavirus hanno il genoma più lungo di qualsiasi virus a RNA – consiste di 30.000 lettere o basi – e quanto più materiale viene copiato da un agente patogeno, tante più possibilità ci sono di commettere errori. Il risultato è che questi virus mutano molto rapidamente. Alcune di queste mutazioni possono conferire nuove proprietà, come la capacità di infettare nuovi tipi di cellule o persino nuove specie.

Una particella di coronavirus è costituita da quattro proteine strutturali: nucleocapside, pericapside, membrana e spicola. Il nucleocapside forma il nucleo genetico, incapsulato in una bolla formata dalle proteine del pericapside e della membrana. La proteina della spicola forma delle sporgenze a forma di clava che sporgono da tutta la bolla, facendo somigliare il tutto a una corona regale o alla corona del Sole, da cui il nome del virus. Queste protrusioni si legano ai recettori presenti sulle cellule ospiti, determinando i tipi di cellule – e quindi la gamma di specie – che il virus può infettare.

La differenza principale tra i coronavirus che causano un raffreddore e quelli che causano una grave malattia è che

i primi infettano principalmente le vie aeree superiori (il naso e la gola), mentre i secondi prosperano nelle vie aeree inferiori (i polmoni) e possono portare alla polmonite.

Il virus della SARS si lega ad un recettore chiamato ACE2, e la MERS si lega a un recettore chiamato DPP4: entrambi si trovano, tra l'altro, nelle cellule polmonari. Le differenze nella distribuzione di questi recettori nei tessuti e negli organi possono spiegare le differenze tra le due malattie, come il fatto che la MERS è più letale della SARS e presenta sintomi gastrointestinali più evidenti. La MERS non è molto contagiosa, però, il che potrebbe essere correlato ai recettori. "Il DPP4 è altamente espresso nei bronchi inferiori, le vie aeree che portano ai polmoni, quindi bisogna avere un gran numero di virus in entrata, perché le nostre vie aeree sono molto efficienti nel filtrare gli agenti patogeni", dice la virologa Christine Tait-Burkard dell'Università di Edimburgo. "È necessaria un'esposizione prolungata e intensa per raggiungere i polmoni, ed è per questo che vediamo ammalarsi persone che lavorano a stretto contatto con i cammelli".

Al contrario, poiché gli agenti patogeni possono entrare e uscire più facilmente dalle vie aeree superiori, i virus che si replicano lì sono più contagiosi. Inoltre, "la capacità di replicarsi a temperature diverse fa una grande differenza, perché le vie respiratorie superiori sono più fredde", dice Tait-Burkard. "Se il virus è più stabile a quelle temperature, non arriva alle vie aeree inferiori". Le vie aeree inferiori sono anche un ambiente più ostile dal punto di vista biochimico e immunologico, aggiunge.

L'analisi del 2019-nCoV suggerisce che il nuovo virus, come la SARS, utilizzi l'ACE2 per entrare nelle cellule. Questo è coerente con il fatto che finora sembra essere meno letale della MERS (l'attuale tasso di mortalità stimato per il nuovo coronavirus sembra di circa il 2 per cento, ma la cifra potrebbe cambiare con l'evolversi dell'epidemia e l'aumento dei casi rilevati).

Il quadro però si complica rapidamente, perché i virus che utilizzano lo stesso recettore possono portare a malattie drasticamente diverse. Un coronavirus umano chiamato NL63 si lega allo stesso recettore della SARS, ma provoca solo infezioni delle vie respiratorie superiori, mentre la SARS infetta principalmente le vie respiratorie inferiori. "Non sappiamo perché", dice Perlman. Un'altra stranezza è che il recettore ACE2 è espresso prevalente nel cuore, ma la SARS non infetta le cellule del cuore. "Questa è una chiara indicazione che sono coinvolti anche altri recettori, o co-recettori", dice il biologo molecolare Burtram Fielding dell'University of Western Cape di Città del Capo, in Sudafrica.



Tecnici studiano campioni del nuovo coronavirus in un laboratorio in Thailandia, uno dei tanti impegnati nelle ricerche sul patogeno (© Lillian SuwanrumphA/AFP via Getty Images)

Il virus che si lega a un recettore è solo il primo passo nel processo di ingresso delle cellule. Quando un virus si lega a una cellula ospite, i due iniziano a trasformarsi insieme, e altre proteine virali possono legarsi ad altri recettori. "A rendere efficiente l'ingresso non è solo l'unico recettore principale", dice Fielding. "Potrebbero essercene anche altri".

La corsa agli armamenti con il sistema immunitario

Un'altra importante caratteristica dei coronavirus sono le loro proteine "accessorie", che sembrano coinvolte nell'eludere la risposta immunitaria innata dell'ospite, la prima linea di difesa dell'organismo. La risposta viene innescata quando una cellula rileva un invasore e rilascia proteine chiamate interferoni, che interferiscono con la replicazione del patogeno. Gli interferoni innescano cascate di attività antivirale, dall'arresto della sintesi proteica dell'ospite alla morte cellulare indotta.

Purtroppo, la maggior parte di questi processi è anche negativa per l'ospite. "Gran parte della malattia è in realtà dovuta alla reazione immunitaria – l'infiammazione – e agli effetti distruttivi indotti dai virus", dice Weiss. "Questo determinerà anche quanto è virulento un virus: in che misura viene indotta una risposta immunitaria distruttiva invece di una semplice risposta protettiva?"

Questo aspetto è anche il motivo per cui le condizioni mediche esistenti sono così importanti. La maggior parte delle persone decedute a causa del nuovo coronavirus fino a oggi "aveva delle comorbidità, come malattie autoimmuni, o infezioni secondarie, che possono diventare molto più aggressive quando il nostro sistema immunitario innato è impegnato a combattere un virus", dice Tait-Burkard. "Ecco perché la cosa importante è curare le persone per le comorbidità e dare loro antibiotici per fermare le infezioni batteriche che prendono piede".

Naturalmente, lo scopo della risposta immunitaria è eliminare gli invasori, quindi i virus mettono in atto alcune contromisure. È questo il tratto che differisce maggiormente tra i vari coronavirus.

"Questi virus sono strettamente correlati tra loro, ma hanno diverse proteine accessorie", dice Weiss, aggiungendo che "si sono evoluti per eliminare vari aspetti della risposta immunitaria innata". Alcuni ricercatori pensano che i pipistrelli siano portatori di coronavirus perché non innescano l'intensa risposta immunitaria degli esseri umani. "Molte delle molecole di segnalazione che avvertono il nostro sistema immunitario sono invece sopresse nei pipistrelli: è per questo che non si ammalano", dice Tait-Burkard. Invece di reagire, i pipistrelli mantengono una risposta costante a basso livello, che può contribuire all'evoluzione dei virus. "I pipistrelli hanno un'espressione costante di interferoni, che seleziona i virus che sono efficienti nell'eludere tale risposta", dice Tait-Burkard. "Quindi i pipistrelli sono ottimi serbatoi di selezione per i virus che sono molto bravi a nascondersi".

Tuttavia, le proteine accessorie sono ben lungi dall'essere completamente comprese. "In alcuni virus possono essere eliminate senza alcun effetto sulla capacità del virus di crescere", dice Perlman. "Si potrebbe pensare: se ci fosse una proteina cruciale per contrastare la risposta immunitaria e la si togliesse, la risposta immunitaria vincerebbe: ma non è necessariamente così".

Alcuni ricercatori ritengono che le proteine accessorie influenzino la mortalità dei coronavirus. Ci sono stati studi sulla SARS in cui la rimozione di una proteina accessoria non ha cambiato l'efficienza di replicazione del virus, che però è diventato meno patogeno. "Sarebbero comunque prodotti molti virus, ma apparirebbero meno dannosi", dice Fielding.

I coronavirus hanno una certa capacità di correggere gli errori genetici, ma trascurano alcune regioni del loro genoma, dice Tait-Burkard. Di conseguenza, due sezioni in particolare sono specialmente soggette a mutazioni: quelle che codificano per la proteina della spicola e le regioni proteiche accessorie. "In queste due aree, i coronavirus permettono molti errori, il che ne guida l'evoluzione, perché riescono a legarsi a nuovi recettori e a eludere la risposta immunitaria dei nuovi sistemi", dice Tait-Burkard, "ed è per questo che i coronavirus sono così bravi a passare da una specie all'altra".

www.lescienze.it, 6 febbraio 2020

I pipistrelli e l'origine del virus della SARS



Pipistrello ferro di cavallo (© ARCO/I Schulz/AGF)

Lo scambio di materiale genetico fra diversi ceppi di coronavirus che infestano i pipistrelli di una grotta dello Yunnan, in Cina, sembra essere all'origine del virus che fra il 2002 e il 2003 ha causato la pandemia di SARS, la sindrome respiratoria acuta grave che provocò centinaia di morti

Il virus che provoca la SARS - la sindrome respiratoria acuta grave che fra il 2002 e il 2003 provocò un'epidemia con centinaia di morti in decine di paesi - ha avuto origine dalla ricombinazione genetica fra diversi ceppi di coronavirus ospitati da pipistrelli a ferro di cavallo cinesi (*Rhinolophus sinicus*). Fra le vittime vi fu, ricordiamo, anche il medico e microbiologo italiano Carlo Urbani, il primo a identificare la SARS.

La scoperta è di un gruppo di ricercatori dell'Accademia cinese delle scienze a Wuhan, in Cina, che hanno trascorso cinque anni studiando i virus individuati in diverse specie di pipistrelli ferro di cavallo che vivono in una grotta nella provincia dello Yunnan. Lo studio è illustrato su "PLoS Pathogens".

Il sospetto che all'origine della SARS vi fosse un virus che aveva fatto il salto di specie dai pipistrelli agli esseri umani emerse poco dopo lo sviluppo della pandemia, dato che molti di questi animali ospitano facilmente i coronavirus, il gruppo di virus a RNA a cui appartiene quello che provoca la malattia. Tuttavia, nessuno dei campionamenti eseguiti su pipistrelli aveva identificato un ceppo di coronavirus affine a quello che aveva provocato la malattia.

L'analisi del genoma dei virus di diverse specie di pipistrelli a ferro di cavallo che vivono nella grotta dello Yunnan ha ora permesso a Ben Hu e colleghi di identificare 11 nuovi ceppi di coronavirus e di tracciarne le relazioni evolutive. I ricercatori hanno così scoperto che diversi ceppi contenevano tutti gli elementi essenziali per la

"costruzione" genetica del coronavirus umano all'origine della SARS. I ricercatori ipotizzano quindi che in qualche cellula infettata da più virus sia avvenuta una ricombinazione genetica, ossia lo scambio di porzioni di RNA. Da questo virus devono poi essersi evoluti diversi ceppi di coronavirus, compreso quello che provoca la SARS.

Ulteriori esperimenti di laboratorio hanno poi dimostrato che alcuni dei ceppi virali identificati da Hu e colleghi sono in grado di penetrare nelle cellule umane attraverso lo stesso recettore cellulare usato dal coronavirus della SARS.

La scoperta suggerisce che in quella particolare grotta dello Yunnan vi siano, con i pipistrelli, ceppi virali che potrebbero passare direttamente agli esseri umani. Per questo i ricercatori hanno proposto di istituire un monitoraggio continuo della grotta studiata, così come di altri siti che possono presentare rischi simili.

www.lescienze.it, 1° dicembre 2017

La lezione dell'epidemia di Spagnola del 1918



Ospedale di emergenza negli Stati Uniti durante l'epidemia del 1918 (© SPL/AGF)

A cent'anni dalla pandemia influenzale del 1918, che causò 50 milioni di morti, uno studio mostra che il suo eccezionale tasso di mortalità fu il risultato di una complessa interazione tra fattori virali, ospiti e fattori sociali. La comprensione di questi elementi è vitale per prepararsi a una possibile pandemia futura altrettanto letale, in particolare potenziando la risposta delle strutture sanitarie pubbliche

Una metanalisi delle ricerche sulla pandemia influenzale del 1918, la cosiddetta Spagnola, di cui quest'anno ricorre il centenario, ha fatto emergere una serie di indicazioni sulle precauzioni che le autorità sanitarie nazionali e internazionali devono prendere in vista di possibili future pandemie virali.

Lo studio, condotto da un gruppo di ricercatori dell'Università del Queensland a Brisbane dell'Università di Melbourne, in Australia, è illustrato su "Frontiers in Cellular and Infection Microbiology".

Nel 1918 l'intero globo fu interessato da una gravissima malattia influenzale, di cui all'epoca era ignoto l'agente eziologico, che in tre successive ondate - nella primavera e nell'autunno del 1918 e nell'inverno 1918-1919 - infettò oltre un terzo della popolazione mondiale provocando circa 50 milioni di vittime, molte delle quali erano giovani adulti precedentemente sani.

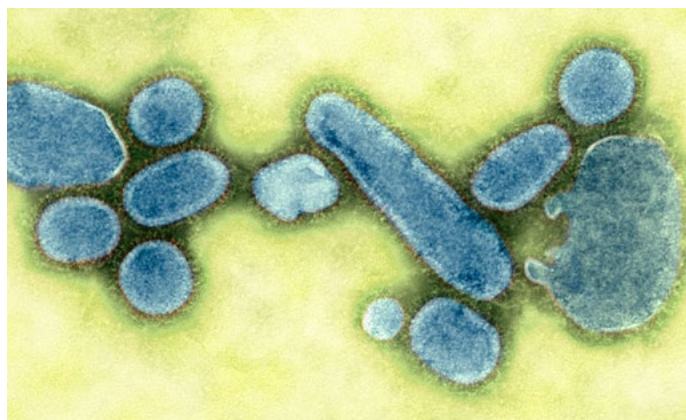
In seguito, ci sono state altre tre pandemie influenzali (la cosiddetta Asiatica del 1957, la Hong Kong del 1968

e l'influenza suina del 2009) che, pur avendo avuto conseguenze molto meno devastanti, hanno mostrato che i virus influenzali continuano a essere una grave minaccia: alcuni studi hanno stimato che se oggi si scatenasse una pandemia simile alla Spagnola per contagiosità e virulenza il numero di morti potrebbe arrivare a 147 milioni.

L'impressionante mortalità della Spagnola - ha detto Carolien E. van de Sandt, coautrice dello studio - "è stata il risultato di una complessa interazione tra fattori virali, ospiti e fattori sociali. La comprensione di questi fattori è vitale per prepararsi a una possibile futura pandemia influenzale".

Un elemento importante sono state anzitutto le caratteristiche del virus, un ceppo del sottotipo H1N1 dell'influenza A (lo stesso sottotipo dell'influenza suina del 2009). Il virus del 1918 aveva alcune peculiarità genetiche che, come hanno dimostrato alcuni studi, gli consentivano di diffondersi anche a tessuti diversi da quelli delle vie respiratorie, causando ulteriori danni, e di trasmettersi più facilmente tra gli esseri umani.

Oggi, a differenza del 1918, è possibile valutare il potenziale pandemico dei nuovi virus, sia negli animali che ne sono il serbatoio naturale, sia negli esseri umani una volta che un ceppo è riuscito a fare il salto di specie. Ma perché queste analisi siano davvero utili bisogna però che la capacità di eseguirle e gli sforzi di monitoraggio virale siano estesi e potenziati in tutto il mondo. Tanto più che "i cambiamenti climatici colpiscono i serbatoi animali di virus influenzali e i modelli di migrazione degli uccelli" ha detto van de Sandt, "e questo potrebbe diffondere i virus in nuove località e in una gamma più ampia di specie di uccelli."



Particelle del virus influenzale H1N1 1918 ricostruite dagli scienziati dei Centers for Disease Control and Prevention nel 2005 (© SPL/AGF)

Un altro fattore importante, secondo gli autori, è lo stato della salute pubblica. Nel 1918, la malnutrizione era piuttosto diffusa, così come diverse malattie batteriche (a partire dalla tubercolosi) che rendevano molto più

probabile un esito infausto della malattia virale. Oggi la malnutrizione potrebbe aumentare in seguito alla riduzione dei raccolti provocata in molte regioni dai cambiamenti climatici, e l'aumento della resistenza agli antibiotici potrebbe causare una maggiore diffusione e problematicità delle superinfezioni batteriche. Anche l'obesità e i disturbi che la accompagnano potrebbero aumentare il rischio di morire a causa dell'influenza.

Ma anche il profilo demografico della popolazione ha un ruolo. Stranamente, uno dei gruppi più falcidiati nel 1918 furono i giovani adulti. I ricercatori pensano che forse gli anziani furono relativamente risparmiati a causa di precedenti esposizione a virus simili, ma meno virulenti, che avevano dato loro una maggiore resistenza al ceppo del 1918. Tuttavia, dato che l'influenza stagionale uccide tipicamente gli anziani, l'attuale invecchiamento della popolazione (che arriva in media a un'età ben superiore a quella degli anziani del 1918) potrebbe rappresentare un'altra drammatica sfida.

I ricercatori osservano anche che durante la Spagnola alcuni presidi di base contro la trasmissione della malattia, come il divieto di raduni pubblici e il lavaggio delle mani, in alcuni paesi contribuirono a ridurre i livelli di infezione e di morte, ma solo là dove erano stati applicati con tempestività e per tutta la durata della pandemia.

"Fino a quando non sarà disponibile un vaccino ampiamente protettivo, i governi devono informare il pubblico su cosa aspettarsi e come agire durante una pandemia", ha concluso van de Sandt. "Una lezione importante dalla pandemia influenzale del 1918 è che una risposta pubblica ben preparata può salvare molte vite umane."

www.lescienze.it, 9 ottobre 2018

Resuscitare un virus killer



Vittime dell'influenza ricoverate all'U.S. Army Camp Hospital n. 45, a Aix-les-Bains, in Francia, nel 1918. L'epidemia uccise 43.000 militari americani, vale a dire quasi il 40 per cento delle perdite militari degli Stati Uniti d'America (© US National Library of Medicine/AGF)

Il ceppo influenzale più mortale della storia è stato resuscitato. Il virus della Spagnola può rivelarci perché ha ucciso milioni di persone e dove si nascondono altri killer simili a lui?

di Jeffery K. Taubenberger, Ann H. Reid e Thomas G. Fanning

Il 7 settembre 1918, al culmine della prima guerra mondiale, in un campo di addestramento militare alla periferia di Boston un soldato marcò visita accusando una febbre molto elevata. I medici gli diagnosticarono una meningite, ma il giorno seguente il ricovero di un'altra dozzina di soldati con sintomi respiratori li costrinse a cambiare parere.

Il 16 settembre si manifestarono 36 nuovi casi di questa malattia sconosciuta. Ma per il 23 settembre i casi registrati tra i 45.000 soldati del campo avevano raggiunto l'incredibile cifra di 12.604. Alla fine dell'epidemia, la malattia aveva colpito un terzo dei militari del campo, uccidendo quasi 800 uomini. Spesso la pelle dei soldati

agonizzanti assumeva una colorazione bluastra, e gli uomini soffrivano orribilmente prima di morire per soffocamento. Molti morirono meno di 48 ore dopo la comparsa dei primi sintomi, e l'autopsia rivelò che i loro polmoni erano pieni di fluido o di sangue.

Poiché questa insolita serie di sintomi non corrispondeva ad alcuna malattia conosciuta, William Henry Welch, insigne patologo dell'epoca, ipotizzò che si trattasse «di un nuovo tipo di infezione o di peste». Ma non era né l'una né l'altra: era soltanto influenza. Eppure, si ritiene che tra il 1918 e il 1919, questo ceppo di virus influenzale così virulento e infettivo abbia ucciso almeno 40 milioni di persone in tutto il mondo.

La più letale epidemia influenzale della storia moderna sparì con la stessa velocità con cui era comparsa, e per molto tempo si pensò che le cause fossero troppo remote per essere scoperte. Nel 1930 si scoprì che l'influenza è provocata da un virus, ma nessuno aveva conservato campioni di quell'agente patogeno per studi posteriori. Grazie all'incredibile previdenza dello U.S. Army Medical Museum, alla tenacia di un patologo di nome Johan Hultin, e ai progressi ottenuti nell'analisi genetica di vecchi campioni di tessuto, siamo però riusciti a recuperare porzioni del virus del 1918 e a studiarne le caratteristiche.

Oggi, a più di ottant'anni di distanza dall'orrendo disastro del 1918-1919, i tessuti recuperati da un esiguo numero di vittime stanno fornendo la risposta a domande fondamentali sulla natura di questo ceppo pandemico e in generale sulle modalità d'azione dei virus influenzali.

Queste ricerche non sono motivate da semplice curiosità storica. Poiché i virus influenzali si evolvono di continuo, sono sempre nuovi i ceppi che minacciano l'umanità. Dopo il 1918 i virus influenzali umani di tipo pandemico sono ricomparsi per ben due volte, nel 1957 e nel 1968, e ceppi influenzali che di solito infettano solo gli animali hanno periodicamente provocato la malattia anche negli esseri umani, come si è visto con l'epidemia di influenza aviaria scoppiata recentemente in Asia. I due obiettivi principali del nostro gruppo consistono nel determinare che cosa rese così virulenta l'influenza del 1918, in modo da orientare lo sviluppo di cure antinfluenzali e di misure preventive, e nello stabilire l'origine del virus pandemico, in modo individuare meglio le possibili origini di ceppi pandemici futuri.



Infermiere della Croce Rossa trasportano un malato d'influenza a St. Louis, Missouri, nel 1918. Il personale sanitario, la polizia e molti comuni cittadini terrorizzati dalla malattia portavano mascherine per proteggersi dal contagio (© NATA/AGF)

Caccia al virus della Spagnola

Sotto molti punti di vista, l'influenza del 1918 fu simile ad altre che la precedettero e la seguirono. Ogni volta che compare un nuovo ceppo influenzale dotato di caratteristiche con cui il sistema immunitario delle persone non è mai venuto in contatto, la probabilità che scoppino focolai infettivi diffusi aumenta. Ma alcune caratteristiche della pandemia del 1918 sono rimaste a lungo incomprensibili. Per esempio, la diffusione e la violenza del fenomeno furono eccezionali. I focolai dell'epidemia si diffusero rapidamente attraverso l'Europa e il Nord America, raggiungendo le lande desolate dell'Alaska e le isole più remote del Pacifico. Alla fine, rimase contagiato forse un terzo della popolazione mondiale. La malattia si rivelò anche insolitamente grave, con tassi di mortalità che andavano dal 2,5 al 5 per cento: fino a 50 volte più alti di quelli osservati in altre epidemie influenzali.

Nell'autunno del 1918 l'Europa intera chiamava questa influenza «la Spagnola», probabilmente perché la Spagna, neutrale, non aveva imposto la censura sulle notizie relative all'epidemia che imperversava nei paesi belligeranti. Il nome rimase, a dispetto del fatto che i primi focolai, l'ondata primaverile, si fossero sviluppati all'interno e nei pressi degli accampamenti militari negli Stati Uniti, nel marzo 1918. La seconda ondata della pandemia si manifestò tra il settembre e il novembre 1918, e in molte regioni un'altra grave ondata influenzale si abbatté all'inizio del 1919.

Gli antibiotici non erano ancora stati scoperti, e la maggior parte delle vittime della pandemia morì di polmonite, causata da batteri opportunisti che infettavano coloro che erano già stati indeboliti dall'influenza. Una parte delle vittime morì invece pochi giorni dopo la comparsa dei sintomi a causa di una forma più grave di polmonite virale – provocata dall'influenza stessa – che in alcuni soggetti produsse estese emorragie polmonari, mentre in altri riempì i polmoni di siero. Inoltre, la maggior parte delle vittime furono giovani fra i 15 e i 35 anni, una fascia di età che raramente viene decimata dall'influenza. Sorprendentemente, più del 99 per cento di tutte le morti «in eccesso» (cioè al di sopra delle medie annuali) causate dall'influenza nel 1918-1919 si ebbe tra le persone con meno di 65 anni.

I tentativi di comprendere la causa della pandemia del 1918 e le sue insolite caratteristiche incominciarono quasi subito dopo la fine del fenomeno, ma il virus responsabile dell'epidemia continuò a nascondersi per ottant'anni. Nel 1951, un gruppo di scienziati dell'Università dello Iowa, fra cui uno studente di nome Johan Hultin, appena giunto dalla Svezia, si recarono in Alaska, fino alla Seward

Ostinazione premiata

Durante un viaggio in Alaska nel 1949, Johan Hultin, studente di medicina svedese, incontrò a Fairbanks alcuni missionari luterani che gli raccontarono gli effetti della pandemia influenzale del 1918 sui villaggi inuit. Nel novembre di quell'anno uno di essi, un piccolo insediamento della Seward Peninsula chiamato Teller Mission, fu letteralmente cancellato. Sopraffatti, i missionari dovettero chiedere l'aiuto dell'esercito per seppellire i 72 corpi delle vittime in una fossa comune, che fu marcata con due croci.

Turbato dal racconto, Hultin si trasferì all'Università dell'Iowa per iniziare il dottorato in microbiologia ma continuò a riflettere sulla Spagnola, chiedendosi se il virus responsabile avrebbe potuto essere recuperato, e studiato, dai cadaveri conservati nel permafrost dell'Alaska. Nell'estate del 1951 convinse due colleghi, un virologo e un patologo, a visitare il villaggio, che nel frattempo era stato ribattezzato Brevig Mission. Con il permesso degli anziani della tribù, i tre ricercatori scavarono nella fossa comune e recuperarono campioni di tessuto dai resti dei polmoni di varie vittime. Rientrati nell'Iowa, i tre tentarono inutilmente di ottenere virus vivi dai campioni.



Hultin in una tomba a Brevig nel 1951 (© J. Hultin)

E probabilmente fu una fortuna, visto che all'epoca non c'erano attrezzature in grado di controllare patogeni pericolosi.

La delusione spinse Hultin a diventare un patologo. Nel 1997, quando – ormai in pensione – viveva a San Francisco, lesse la prima descrizione del recupero di geni del 1918 da campioni autoptici, e questo risvegliò la sua speranza di trovare un intero virus della Spagnola.

Scrisse a Taubenberger, proponendogli di partire per l'Alaska per procurare nuovi campioni di tessuto polmonare a Brevig Mission, e lo scienziato accettò. Hultin chiese anche ai colleghi della spedizione del 1951 se avessero conservato qualche campione, nell'ipotesi che, risalendo solo a 33 anni dalla fine della



Hultin in una tomba a Brevig nel 1997 (© J. Hultin)

pandemia, fossero in condizioni migliori di quelli prelevati più tardi. Uno di loro aveva conservato il materiale per anni, ma ritenendolo privo di qualunque utilità, alla fine l'aveva buttato: l'ultimo campione era stato eliminato esattamente un anno prima, nel 1996. Per fortuna, nell'agosto del 1997 Hultin ottenne nuovamente il permesso di scavare nella tomba di Brevig Mission. E questa volta trovò il corpo di una donna giovane e obesa. In seguito, Hultin disse di aver saputo subito che i suoi tessuti avrebbero contenuto il virus: insieme alla bassa temperatura, lo spesso strato di grasso aveva preservato perfettamente i polmoni della donna. Aveva ragione: quei tessuti hanno fornito il genoma completo del virus responsabile dell'epidemia del 1918.

Peninsula, alla ricerca del ceppo della Spagnola.

Nel novembre 1918, in un villaggio di pescatori inuit oggi chiamato Brevig Mission, l'influenza si era propagata in cinque giorni, uccidendo 72 persone: circa l'85 per cento della popolazione adulta. Da allora, i loro corpi giacevano sepolti nel permafrost e i componenti della spedizione speravano di ritrovare il virus conservato nei polmoni delle vittime. Sfortunatamente, tutti i tentativi di coltivare il virus dell'influenza proveniente da quei campioni fallirono.

Nel 1995 il nostro gruppo iniziò a cercare di ritrovare il

virus del 1918 utilizzando tessuti provenienti dall'archivio di reperti autoptici dell'Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) a Washington.

Ci eravamo specializzati nell'estrazione a scopo diagnostico di materiale genetico virale molto delicato da tessuti danneggiati o putrefatti. Nel 1994, per esempio, eravamo riusciti a usare le nostre nuove tecniche per aiutare un patologo dell'AFIP specializzato in mammiferi marini a indagare sul decesso di un gran numero di delfini provocato, in apparenza, da una marea rossa. Sebbene i

campioni di tessuto di delfino a nostra disposizione fossero in pessimo stato di conservazione, riuscimmo a estrarre frammenti di RNA in quantità sufficiente a identificare un nuovo virus, simile a quello che provoca il cimurro nei cani, che risultò essere la causa della moria di delfini. Presto incominciammo a chiederci se ci fosse qualche altro mistero più antico di natura medica che avremmo potuto risolvere utilizzando le risorse del nostro istituto.

L'AFIP, emanazione diretta dell'Army Medical Museum fondato nel 1862, ha una collezione di tre milioni di campioni. Quando capimmo che nell'archivio c'erano anche campioni autoptici provenienti dalle vittime dell'influenza del 1918, decidemmo di metterci alla ricerca del virus responsabile della pandemia. Inizialmente esaminammo 78 campioni di tessuto appartenuti alle vittime decedute durante l'ondata autunnale del 1918, concentrandoci su quelle che presentavano i gravi danni polmonari caratteristici dei pazienti che morivano in brevissimo tempo. Poiché il virus influenzale normalmente abbandona i polmoni nel giro di pochi giorni dall'inizio dell'infezione, siamo stati davvero fortunati a scoprire frammenti virali in queste vittime!

All'epoca, il protocollo standard per la conservazione dei reperti autoptici prevedeva una prima fissazione in formaldeide e una successiva inclusione in paraffina: ciò ha messo a dura prova le tecniche che avevamo sviluppato, quando abbiamo iniziato a estrarre minuscoli frammenti genetici del virus da questi tessuti «fissati» ottant'anni prima. Dopo un tormentato anno di insuccessi, nel 1996 scoprimmo il primo campione positivo all'influenza: si trattava del tessuto polmonare di un soldato morto nel settembre del 1918 a Fort Jackson, nel South Carolina. Da questo campione fummo in grado di determinare la sequenza nucleotidica di cinque geni influenzali presenti in piccoli frammenti. Ma per avere la conferma che le sequenze appartenessero al virus letale del 1918 continuammo a cercare ulteriori risultati positivi e, nel 1997, riuscimmo a identificarne un altro. Anche questo soldato era morto nel settembre del 1918: a Camp Upton, New York. Il secondo campione ci permise di confermare le sequenze genetiche in nostro possesso, anche se dubitavamo che la minuscola quantità di tessuto rimasta da queste autopsie ci avrebbe consentito di produrre una sequenza completa del virus.

La soluzione giunse nel 1997, da una fonte inaspettata: Johan Hultin, che ormai era un patologo di 73 anni in pensione, lesse i nostri risultati e si offrì di ritornare a Brevig Mission per tentare una nuova esumazione delle vittime della Spagnola sepolte nel permafrost. Quarantasei anni dopo il suo primo tentativo, con l'autorizzazione del

Brevig Mission Council, Hultin ottenne alcune biopsie polmonari congelate provenienti da quattro vittime dell'influenza. In uno di questi campioni, appartenuto a una donna di età sconosciuta, trovammo l'RNA del virus influenzale che fornì la chiave di accesso per sequenziare l'intero genoma del virus del 1918.

Più recentemente il nostro gruppo, in collaborazione con colleghi britannici, ha esaminato anche dei campioni di tessuti autoptici di vittime della Spagnola provenienti dal Royal London Hospital. Siamo riusciti ad analizzare i geni del virus dell'influenza ritrovati in due dei casi esaminati, e abbiamo scoperto che erano quasi identici ai campioni del Nord America, confermando la rapida diffusione mondiale di un virus uniforme. Ma che cosa possono raccontarci queste sequenze sull'origine e sulla virulenza del ceppo del 1918? Per rispondere è necessario conoscere almeno un po' come funzionano i virus influenzali e come provocano la malattia in ospiti diversi.

Le mutazioni dei virus influenzali

Tutti e tre i nuovi ceppi che hanno causato pandemie nell'ultimo secolo appartenevano al sierotipo A dei virus influenzali. L'influenza si manifesta in tre forme principali: A, B e C. Le ultime due infettano solo gli esseri umani e non hanno mai provocato pandemie, mentre i virus del sierotipo A contagiano una gran varietà di animali, incluso il pollame, i suini, i cavalli, gli esseri umani e altri mammiferi. Gli uccelli acquatici, come le anatre, fungono da serbatoio naturale per tutti i sottotipi conosciuti di influenza A: il virus infetta l'intestino dell'uccello senza causare sintomi. Questi ceppi aviari selvatici, però, possono mutare nel tempo o scambiare materiale genetico con altri ceppi influenzali, producendo nuovi virus che sono in grado di diffondersi fra i mammiferi e il pollame domestico.

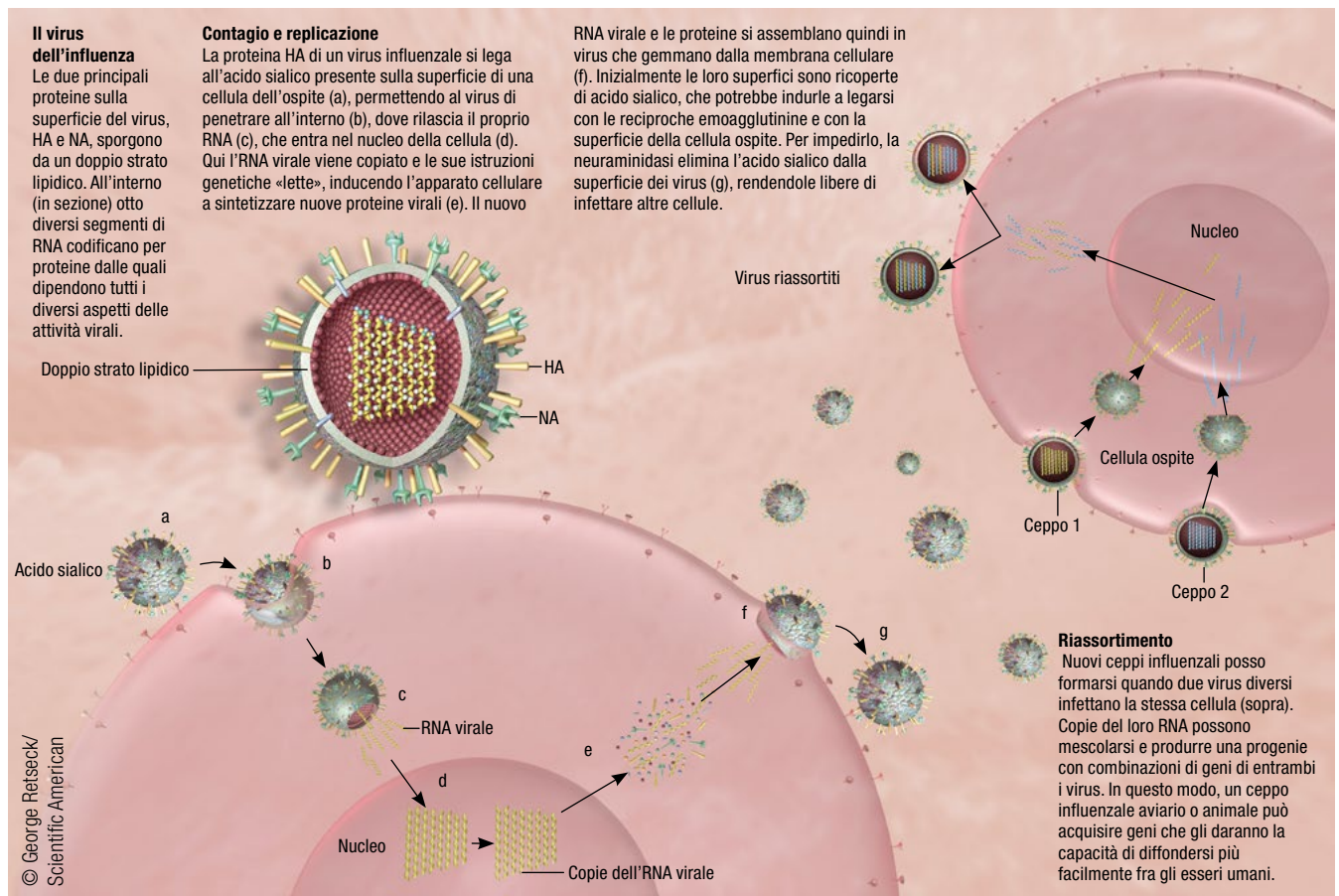
Il ciclo vitale e la struttura genomica del virus dell'influenza A gli consentono di evolvere e di scambiare facilmente i propri geni. Il genoma virale è costituito da otto frammenti separati di Rna avvolti da una membrana lipidica su cui sono ancorate molte proteine (si veda il box qui sopra). Per riprodursi, il virus si lega a una cellula vivente e penetra al suo interno, dove prende il controllo degli apparati metabolico-enzimatici cellulari, inducendoli a produrre nuove proteine virali e ulteriori copie di RNA virali. Queste parti, poi, vengono assemblate fra loro per dare origine a nuovi virus, che escono dalla cellula ospite e vanno a infettare altre cellule. Poiché nessun meccanismo assicura che le copie di RNA siano corrette, spesso si verificano errori che portano a nuove mutazioni. Per di più, nel caso in cui due diversi virus influenzali infettino la stessa cellula, i loro frammenti di RNA sono in grado di mescolarsi liberamente, dando origine a una progenie virale che contiene una combinazione di geni provenienti

Sfruttare la cellula ospite

Il virus dell'influenza è piccolo e semplice: una sfera lipidica cava, sulla cui superficie sono inserite alcune proteine, che contiene soltanto otto segmenti genomici (qui sotto). Ma tutto questo è più che sufficiente per indurre le cellule degli ospiti viventi a produrre nuovi virus (in basso). Una proteina particolarmente importante situata sulla superficie del virus influenzale,

l'emoagglutinina (HA), consente al virus di penetrare nelle cellule viventi. La sua forma determina quale ospite può essere infettato da un ceppo virale. Un'altra proteina, la neuraminidasi (NA), libera i virus neoformati da una cellula infettata, determinando l'efficienza con cui il virus si diffonde. Lievi cambiamenti in queste e in altre proteine influenzali possono aiutare

il virus a infettare nuovi tipi di ospite e a eludere l'aggressione del sistema immunitario. Le mutazioni possono aver origine da errori avvenuti durante la copiatura dei geni virali o essere acquisite mediante un meccanismo di scambio quando i geni di due virus influenzali diversi che infettano la stessa cellula si mescolano (a destra).



da entrambi i virus originali. Questo «riassortimento» genico è un meccanismo sfruttato dai virus per generare nuovi ceppi.

I diversi virus influenzali di tipo A in circolazione vengono identificati facendo riferimento a due particolari proteine situate sulla loro superficie. Una è l'emoagglutinina (HA), di cui si conoscono almeno 15 varianti o sottotipi, l'altra è la neuraminidasi (NA), che ha nove sottotipi. L'esposizione a queste proteine determina in un ospite la produzione di anticorpi caratteristici, così il ceppo del 1918 fu il primo a essere classificato: sulla base degli anticorpi ritrovati nel

sangue dei sopravvissuti, gli venne attribuita la sigla H1N1. In realtà, i discendenti meno virulenti dell'H1N1 sono stati i ceppi influenzali predominanti in circolazione fino al 1957, quando comparve un virus, H2N2, che provocò una nuova pandemia. Dal 1968 è divenuto dominante il sottotipo H3N2, che provocò la pandemia di quell'anno.

I sottotipi proteici HA e NA presenti su un virus influenzale A sono molto di più che semplici caratteri identificativi: essi sono essenziali per la riproduzione virale e costituiscono i bersagli principali del sistema immunitario di un ospite infettato. La molecola HA avvia l'infezione legandosi ai

recettori posti sulla superficie di alcune cellule ospiti, che in genere sono cellule dell'endotelio respiratorio nei mammiferi e cellule endoteliali intestinali negli uccelli. La proteina NA consente alle nuove copie di virus di uscire dalla cellula ospite in modo da andare a infettare altre cellule.

Dopo l'iniziale esposizione dell'ospite a un sottotipo HA, gli anticorpi impediranno il futuro legame dei recettori e quindi risulteranno molto efficaci nel prevenire la reinfezione da parte dello stesso ceppo. Eppure, con una certa periodicità compaiono virus influenzali dotati di sottotipi HA nuovi per gli esseri umani, molto probabilmente per un fenomeno di riassortimento con l'ampio serbatoio di virus influenzali che infettano gli uccelli selvatici.

Di solito, i sottotipi influenzali HA che si sono adattati agli ospiti aviari mostrano una debole affinità di legame nei confronti dei recettori cellulari di superficie che abbondano nel tratto respiratorio degli esseri umani; così, l'affinità di legame di un sottotipo HA di un virus aviario deve essere in qualche modo modificata prima che il virus possa replicarsi e diffondersi efficacemente nell'uomo.

Fino a poco tempo fa, i dati suggerivano che un virus influenzale esclusivamente aviario probabilmente non sarebbe stato in grado di infettare direttamente l'uomo: eppure nel 1997, a Hong Kong, 18 persone furono contagiate dal virus influenzale aviario H5N1 e sei di esse morirono. Focolai di una forma ancora più patogena di quel ceppo si sono diffusi nel pollame asiatico tra il 2003 e il 2004, e in seguito al contagio con questo virus in Vietnam e in Thailandia sono morte più di 30 persone.

Dopo che un virus influenzale ha infettato l'ospite, la sua virulenza è determinata da un complesso di fattori, tra cui la rapidità con cui il patogeno penetra nei diversi tessuti, la velocità con cui si replica e la risposta del sistema immunitario dell'ospite. Di conseguenza, capire esattamente quali fattori resero così infettiva e virulenta la pandemia influenzale del 1918 potrebbe aiutarci a capire che cosa trasforma un qualsiasi ceppo influenzale in una minaccia più o meno grave.

Il volto del killer

Usando l'RNA del 1918 che abbiamo recuperato siamo stati in grado di utilizzare i geni del virus come ricetta per confezionare le sue componenti, ricreando sostanzialmente pezzi del virus killer. Il primo di questi pezzi che ci premeva esaminare era la proteina emoagglutinina, dalla cui analisi speravamo di scoprire caratteristiche che spiegassero l'eccezionale virulenza del ceppo del 1918.

Osservammo, per esempio, che la regione dell'HA del 1918 che si lega con la cellula ospite è quasi identica al sito di legame di una HA influenzale esclusivamente aviaria. In due dei campioni del 1918, questo sito di legame per i recettori differisce dalla forma aviaria soltanto per un amminoacido, mentre negli altri tre isolati risulta alterato anche un secondo amminoacido. Queste mutazioni apparentemente trascurabili possono rappresentare il cambiamento minimo di cui un'HA di tipo aviario ha bisogno per legarsi ai recettori caratteristici dei mammiferi.

Ma se è vero che l'acquisizione di una nuova affinità di legame è un passo critico che permette a un virus di infettare un nuovo tipo di ospite, è anche vero che questo evento non spiega necessariamente la ragione per cui il ceppo del 1918 fu così letale. Ci siamo quindi messi ad analizzare le sequenze del gene per cercare caratteristiche che potessero essere collegate direttamente alla virulenza, fra cui due mutazioni note in altri virus influenzali.

Una di esse riguarda il gene HA: per attivarsi all'interno di una cellula, la proteina HA deve essere scissa in due frammenti da uno specifico enzima intestinale, o proteasi, fornito dall'ospite. Alcuni sottotipi virali aviari di H5 e H7 vanno soggetti a una mutazione genica che aggiunge uno o due amminoacidi fondamentali al sito di taglio, consentendo all'HA di essere attivata anche da altre proteasi ubiquitarie. Nei polli e in altri uccelli l'infezione da parte del virus si diffonde a numerosi organi diversi e anche al sistema nervoso centrale, determinando un tasso di mortalità molto elevato. Questa mutazione è stata osservata nei virus H5N1 che circolano in Asia: ma non l'abbiamo riscontrata nel virus della Spagnola.



Ambulanze della Croce Rossa in servizio nell'ottobre 1918 a St Louis, Missouri (© US Library of Congress)

L'altra mutazione con un effetto significativo sulla virulenza è stata rilevata nel gene NA di due ceppi virali influenzali che infettano i topi. Ancora una volta, le mutazioni di un singolo amminoacido sembrano consentire al virus di replicarsi in molti tessuti diversi del corpo, e nei topi da laboratorio questi ceppi influenzali sono solitamente letali. Ma nel virus del 1918 non osservammo nemmeno la mutazione dell'NA. E poiché l'analisi genetica del virus del 1918 non stava portando alla luce alcuna caratteristica in grado di spiegarne l'estrema virulenza, iniziammo a collaborare con altre istituzioni per ricreare alcune porzioni in modo da poter osservare i loro effetti sui tessuti viventi.

Una nuova tecnica, chiamata «genetica inversa basata sui plasmidi», permette di copiare segmenti del virus e di combinarli con i geni di un ceppo influenzale attualmente esistente, producendo un virus ibrido. Così, possiamo prendere un ceppo influenzale adattato ai topi e dargli combinazioni diverse di geni virali del 1918. In seguito, infettando un animale vivo o un tessuto umano in coltura con questo virus ingegnerizzato, possiamo osservare quali componenti del ceppo pandemico potrebbero spiegarne la patogenicità.

Per esempio, il fatto che il virus della Spagnola fosse in grado di produrre rapidamente un danno esteso ai tessuti respiratori superiori e inferiori suggerisce che la sua replicazione era quantitativamente elevatissima e la sua velocità di diffusione da una cellula all'altra molto rapida. Sappiamo che la proteina virale NS1 può impedire la produzione dell'interferone di tipo I (IFN), un sistema di «allarme precoce» che la cellula utilizza per dare l'avvio alla risposta immunitaria contro un'infezione virale. Quando testammo i virus ricombinanti in coltura utilizzando cellule polmonari umane, scoprimmo che un virus con il gene NS1 del 1918 era in effetti più efficace nel bloccare il sistema di produzione dell'IFN di tipo I dell'ospite.

Finora abbiamo prodotto virus influenzali ricombinanti che contenevano da uno a cinque geni del 1918. Fatto curioso, abbiamo scoperto che i virus ricombinanti che possedevano entrambi i geni HA e NA del 1918 erano letali nei topi: provocavano danni polmonari simili a quelli osservati in alcune vittime della pandemia. Quando abbiamo analizzato questi tessuti polmonari abbiamo trovato traccia dell'attivazione di geni coinvolti nelle normali risposte infiammatorie. Ma abbiamo anche scoperto un'attivazione maggiore del normale di geni associati con le armate offensive del sistema immunitario, i linfociti T e i macrofagi, come pure di geni collegati a lesioni tissutali, a danni ossidativi e all'apoptosi, o suicidio cellulare.

Più di recente, Yoshihiro Kawaoka dell'Università del Wisconsin a Madison ha reso pubblici analoghi esperimenti effettuati nei topi con geni influenzali della Spagnola, nei quali ha ottenuto risultati simili. Testando però separatamente i geni HA e NA, Kawaoka ha scoperto che soltanto il gene HA del 1918 generava una risposta immunitaria potente; ciò sembra indicare che, per ragioni ancora ignote, questa proteina avrebbe avuto un ruolo di primo piano nella virulenza di quel ceppo.

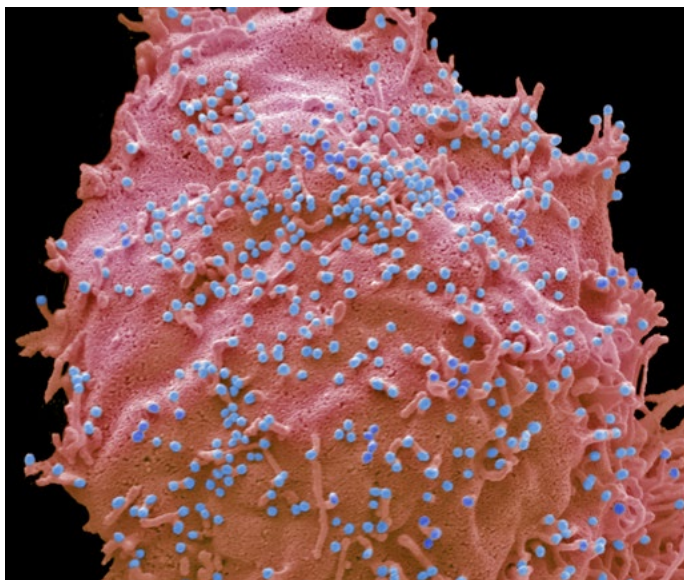
Questi esperimenti stanno aprendo una finestra sul passato, e aiutano gli scienziati a comprendere le insolite caratteristiche della pandemia di Spagnola. Allo stesso modo, queste tecniche si usano per studiare i cambiamenti del ceppo influenzale aviario H5N1 diffusosi in Asia, e capire quali potrebbero provocare una pandemia fra gli esseri umani di questo virus estremamente letale (si veda il box nella pagina a fronte). Una domanda altrettanto urgente è in che modo un ceppo così virulento possa, a un certo punto, comparire da qualche parte; perciò il nostro gruppo sta analizzando anche i geni del virus del 1918 per ottenere degli indizi sul suo probabile luogo di origine.

Alla ricerca del luogo d'origine

Il modo migliore per analizzare le relazioni fra i diversi virus influenzali è quello filogenetico, per mezzo del quale vengono costruiti ipotetici alberi genealogici utilizzando le sequenze geniche virali e le conoscenze sulla frequenza tipica di mutazione dei geni. Poiché il genoma di un virus influenzale è formato da otto distinti segmenti di RNA che possono spostarsi in maniera indipendente mediante riassortimento, è necessario condurre le analisi evoluzionistiche separatamente, per ciascun segmento genico.

Il nostro gruppo ha completato l'analisi di cinque degli otto segmenti di RNA del virus del 1918, e finora il confronto fra i geni influenzali della Spagnola e quelli di numerosi virus influenzali umani, suini e aviari colloca il virus del 1918 all'interno delle famiglie degli esseri umani e dei suini, confermandone l'estraneità con la famiglia dei virus aviari. Comunque, i geni del virus del 1918 hanno anche alcune caratteristiche aviarie, e quindi è probabile che il virus abbia avuto origine inizialmente da un serbatoio aviario, in un'epoca non precisata prima del 1918. Tuttavia, in quell'anno il virus si era chiaramente adattato a sufficienza ai mammiferi tanto da funzionare come un virus pandemico per gli esseri umani. La domanda è: dove?

Analizzando il gene dell'emoagglutinina del 1918 abbiamo scoperto che la sua sequenza è molto più diversa dalle sequenze aviarie di quanto lo siano il sottotipo H2 del 1957 e il sottotipo H3 del 1968.



Micrografia elettronica di una cellula umana infettata da virus dell'influenza A (© Steve Gschmeissner/SPL/AGF)

Così, abbiamo concluso che o il gene HA del 1918 aveva trascorso un certo tempo in un ospite intermedio, dove aveva accumulato molte mutazioni rispetto alla sequenza aviaria originale, oppure derivava direttamente da un virus aviario; un virus, però, notevolmente diverso dalle sequenze aviarie note dell'H1.

Per verificare la possibilità che i geni aviari dell'H1 fossero sostanzialmente cambiati negli anni trascorsi dalla pandemia di Spagnola, abbiamo iniziato a collaborare con scienziati dello Smithsonian Institution's Museum of Natural History e della Ohio State University. Dopo aver esaminato molti reperti di uccelli dell'epoca, abbiamo isolato un ceppo influenzale aviario di sottotipo H1 da un'oca colombaccio raccolta nel 1917 e conservata in etanolo allo Smithsonian. Analizzando l'animale è emerso che la sequenza aviaria dell'H1 del 1917 era strettamente correlata ai moderni ceppi aviari H1 del Nord America, il che suggeriva che le sequenze aviarie hanno subito pochissime mutazioni negli ultimi ottant'anni. Il sequenziamento particolareggiato di altri ceppi H1 provenienti da uccelli selvatici potrebbe portare a identificarne uno più simile all'HA del 1918, ma dato che l'HA non ha subito un riassortimento diretto da un ceppo aviario, può darsi che non si ritrovi nessun H1 aviario simile al ceppo del 1918.

In questo caso, deve essere intervenuto qualche ospite intermedio. I maiali sono una delle ipotesi favorite perché è nota la loro sensibilità a entrambi i virus, quello umano e quello aviario. In effetti, durante la pandemia di Spagnola si assistette allo scoppio simultaneo di focolai influenzali negli esseri umani e nei suini: noi però riteniamo che probabilmente l'infezione sia stata trasmessa dagli esseri umani ai maiali.

Ci sono numerosi esempi di ceppi del virus influenzale umano A che risultano infettivi per i maiali a partire dal 1918, ma negli esseri umani sono stati isolati solo sporadicamente ceppi influenzali suini. Tuttavia, per verificare la possibilità che l'HA del 1918 possa aver avuto un'origine aviaria, abbiamo preso in esame un esempio attuale di evoluzione virale aviaria nei maiali: un ceppo influenzale aviario H1N1 che è diventato endemico nei suini europei negli ultimi 25 anni. Ma anche dopo vent'anni di evoluzione nei suini, questo ceppo non raggiungeva il numero di mutazioni rispetto alle sequenze aviarie che presentava il ceppo pandemico del 1918.

Quando abbiamo applicato questo tipo di analisi ad altri quattro geni del virus della Spagnola siamo giunti a conclusioni simili: il virus che ha innescato la pandemia del 1918 potrebbe essere stato un ceppo aviario rimasto evolutivamente isolato per un certo periodo dal pool di geni influenzali tipico degli uccelli acquatici; un virus che, come il coronavirus che causa la SARS, ha iniziato a circolare fra gli esseri umani provenendo da un ospite animale ancora sconosciuto.

Progetti per il futuro

Le nostre analisi hanno aperto uno spiraglio di luce sull'origine della Spagnola: suggeriscono che il virus responsabile della pandemia fosse un antenato comune di entrambi i ceppi successivi H1N1 umani e suini, confutandone un'ipotetica origine suina. Finora, l'analisi dei geni virali non ha fornito prove definitive in grado di spiegare l'eccezionale virulenza del ceppo virale. Tuttavia esperimenti effettuati con virus ingegnerizzati contenenti i geni del 1918 indicano che alcune di quelle proteine virali erano in grado di stimolare la rapida replicazione del virus e di provocare una risposta immunitaria altamente devastante da parte dell'ospite.

In futuro, speriamo di poter collocare il ceppo virale della Spagnola nel contesto dei virus influenzali che lo hanno immediatamente preceduto e seguito. Il diretto precursore del virus responsabile della pandemia, il ceppo virale dell'ondata primaverile, era privo dell'eccezionale virulenza che avrebbe caratterizzato l'ondata autunnale e sembrava diffondersi meno facilmente.

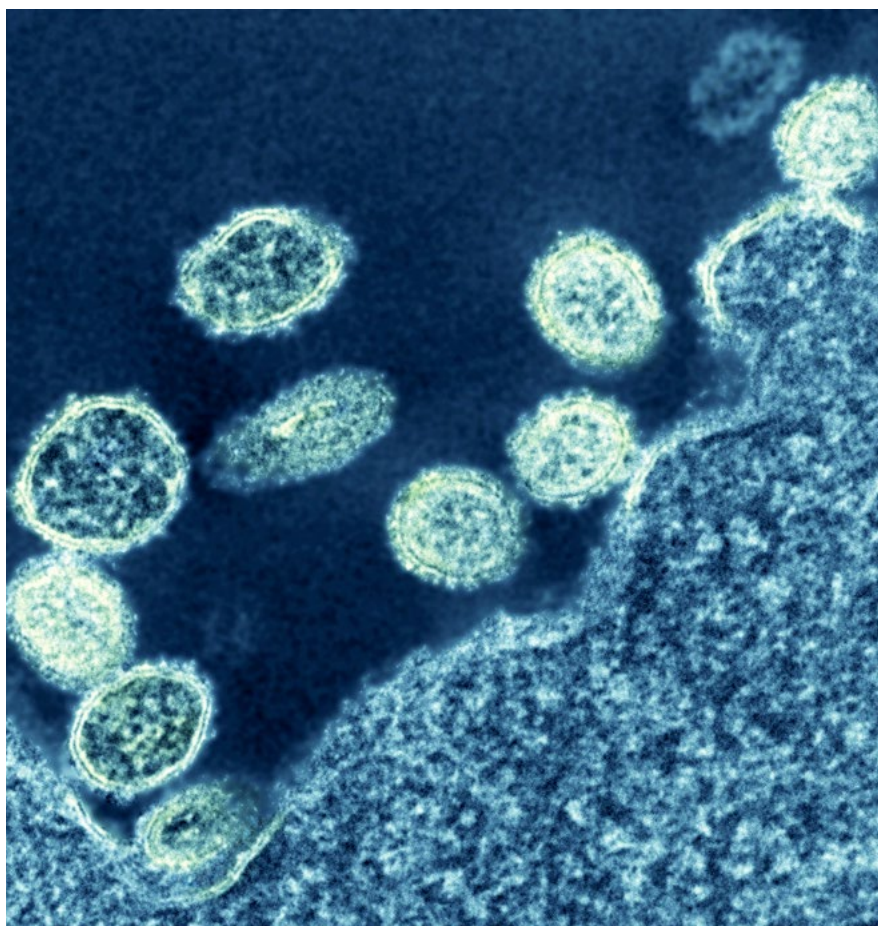
Attualmente stiamo cercando campioni di RNA influenzale provenienti da vittime della prima ondata per identificare qualsiasi differenza genetica fra i due ceppi che possa aiutarci a comprendere perché l'ondata autunnale fu molto più grave. Analogamente, il ritrovamento di campioni di RNA virale influenzale umano antecedenti al 1918 dovrebbe chiarire quali segmenti genetici presenti nel virus di quell'anno erano del tutto nuovi per gli esseri umani.

Come si ricostruisce un virus

Quando l'analisi dei geni del virus del 1918 non rivelò nulla che giustificasse la virulenza del ceppo pandemico, il nostro gruppo è ricorso alla genetica inversa, un metodo per comprendere la funzione dei geni studiando le proteine per cui codificano. Insieme a ricercatori della Mount Sinai School of Medicine, dei Centers for Disease Control and Prevention, del Department of Agriculture, dell'Università di Washington e dello Scripps Research Institute, abbiamo «costruito» alcuni virus influenzali contenenti due o più geni del virus del 1918, in modo da vedere come si comportavano questi virus ricombinanti in colture cellulari animali e umane.

Per costruire questi virus, abbiamo utilizzato la genetica inversa basata sui plasmidi, che parte dalla creazione di copie a Dna dei geni influenzali normalmente presenti sotto forma di Rna. Ciascuna copia viene poi inserita in un plasmide, un piccolo anello di Dna. Combinazioni diverse di plasmidi possono essere iniettate in cellule viventi, dove il meccanismo cellulare ne eseguirà le istruzioni genetiche fabbricando solo virus dell'influenza con la combinazione di geni desiderata. Oltre a consentire lo studio del virus del 1918, la genetica inversa permetterà di indagare sulla reale pericolosità del virus H5N1 per gli esseri umani. Dal gennaio 2004, questo ceppo – presente negli uccelli di 10 paesi asiatici – ha infettato oltre 40 persone, uccidendone più di 30. Una delle vittime è una madre che si pensa abbia contratto il virus dalla figlia, e non direttamente da un uccello.

Il contagio uomo-uomo potrebbe suggerire che il virus aviario si sia adattato in modo da diffondersi



Micrografia elettronica di particelle del virus 1918 H1N1 responsabile della Spagnola (© NIAID/AGF)

più facilmente fra gli esseri umani, sia per mutazione sia acquisendo nuovi geni mediante riassortimento con un ceppo influenzale umano in circolazione. Questo sviluppo potrebbe aumentare la probabilità di una pandemia umana. Sperando di poter prevedere, e quindi prevenire, un simile disastro, scienziati dei CDC e della Erasmus University, in Olanda, intendono testare alcune combinazioni dell'H5N1 con ceppi influenzali umani, per valutarne la virulenza e la probabilità che compaiano spontaneamente. I risultati di questi esperimenti saranno cruciali per capire come hanno origine le pandemie influenzali. Qualcuno si chiede se sia prudente condurre esperimenti con ceppi influenzali letali, ma tutte queste ricerche sono condotte in laboratori sicuri, progettati

specificamente per manipolare virus influenzali altamente patogeni. La ricostruzione delle proteine del virus del 1918 ci ha consentito anche di stabilire che i farmaci antivirali attuali, come l'amantadina o gli inibitori della neuraminidasi più recenti, come l'oseltamivir, sarebbero efficaci contro il ceppo del 1918 in caso di infezione accidentale. Anche i virus H5N1 sono sensibili agli inibitori della neuraminidasi. Recentemente, scienziati americani e inglesi hanno usato la genetica inversa basata sui plasmidi per creare un ceppo di base per un vaccino contro l'H5N1. È stata prodotta una versione del virus H5N1 priva delle caratteristiche più letali del ceppo selvatico, in modo che i produttori possano usarlo in totale sicurezza per sintetizzare un vaccino.

L'insolita mortalità fra i giovani si potrebbe spiegare ipotizzando che il virus avesse alcune caratteristiche in comune con i primi ceppi circolanti, verso i quali gli anziani avevano sviluppato una certa immunità. Se riuscissimo a ritrovare campioni dell'H1N1 del 1920 e di anni successivi potremmo forse comprendere come mai il virus del 1918 si sia poi trasformato in forme meno virulente.

I meccanismi con cui si generano i ceppi influenzali della pandemia non sono ancora del tutto chiari. Dal momento che i ceppi pandemici del 1957 e del 1968 avevano proteine HA simili a quelle aviarie, è probabile che se ne debba cercare l'origine nel riassortimento diretto dei ceppi virali aviari e umani. Comunque, poiché le circostanze di questi eventi di riassortimento non sono mai state identificate, non si sa quanto tempo fu necessario ai nuovi ceppi per svilupparsi nella pandemia umana.

Il ceppo della pandemia del 1918 è addirittura più sconcertante, perché le sue sequenze geniche non sono compatibili né con un riassortimento diretto da un ceppo aviario noto, né con l'adattamento di un ceppo aviario nei suini. Se riuscissimo a dimostrare che il virus del 1918 ha acquisito geni insoliti per mezzo di un meccanismo diverso da quello dei ceppi pandemici successivi, ciò potrebbe avere importanti implicazioni per la salute pubblica. Un'origine alternativa potrebbe anche aver contribuito all'eccezionale virulenza del ceppo del 1918. Il sequenziamento di un maggior numero di virus influenzali aviari e la ricerca, oltre che nei suini e in ospiti intermedi alternativi – come il pollame, gli uccelli selvatici o i cavalli – potrebbe chiarire meglio l'origine della pandemia del 1918. Fino a quando non comprenderemo meglio le origini di quei ceppi, è probabile che gli sforzi che compiamo per individuarli e prevenirne la diffusione ci impediscano di individuare l'inizio della prossima pandemia.

Gli autori

Jeffrey K. Taunberger, Ann H. Reid e Thomas G. Fanning lavorano all'Armed Forces Institute of Pathology di Rockville, in Maryland. Taunberger, patologo molecolare, ha contribuito a creare un laboratorio per la diagnostica molecolare, la tecnica per individuare malattie dalla loro firma genetica. Reid, biologa molecolare, ha progettato letecniche per estrarre DNA e RNA da tessuti danneggiati o decomposti che hanno permesso di recuperare frammenti genetici del virus del 1918. Fanning, genetista specializzato nell'evoluzione dei genomi, ha aiutato ad analizzare le relazioni genetiche tra i virus dell'uomo e di altri animali.

["Le Scienze", n. 439, 1° marzo 2005](#)

Come studiare l'evoluzione futura dei virus influenzali



© Felipe Caparros/AGF

L'analisi genetica di vecchi campioni virali prelevati da persone che avevano contratto un'influenza durata molto a lungo ha mostrato che le mutazioni dei loro virus sono le stesse che si sono manifestate nella popolazione generale nel corso di epidemie scoppiate anni dopo

L'evoluzione dei virus dell'influenza in alcuni individui può indicarne i possibili percorsi evolutivi degli stessi virus in tutto il mondo negli anni successivi; non solo: il numero di questi percorsi è relativamente limitato. La scoperta è di un gruppo di ricercatori dell'University of Washington, del Fred Hutchinson Cancer Research Center e del Seattle Children's Research Institute, tutti a Seattle, che ne riferiscono sulla rivista "eLife".

La rapida evoluzione dei virus dell'influenza, che costringe a creare un nuovo vaccino antinfluenzale ogni anno, è dovuta a mutazioni casuali, il cui sviluppo è molto difficile da studiare. L'infezione da influenza è infatti in genere molto breve, circa una settimana, un lasso di tempo durante il quale le mutazioni si presentano solo in poche centinaia di virus sui milioni o miliardi di particelle virali presenti nel corpo, per cui è pressoché impossibile individuarle.

Katherine S. Xue e colleghi hanno studiato campioni prelevati oltre dieci anni fa da persone che avevano subito un trapianto di midollo osseo e sviluppato un'infezione da virus dell'influenza grave e particolarmente protratta. Ciò ha reso possibile seguire l'evoluzione dei virus.

Grazie al cosiddetto sequenziamento profondo del genoma dei virus nei diversi campioni prelevati a quei pazienti, i ricercatori hanno potuto seguire passo passo l'evoluzione dei virus. In questo modo hanno identificato numerose mutazioni, alcune delle quali si sono diffuse interessando alla fine tutte le particelle virali presenti nel paziente.

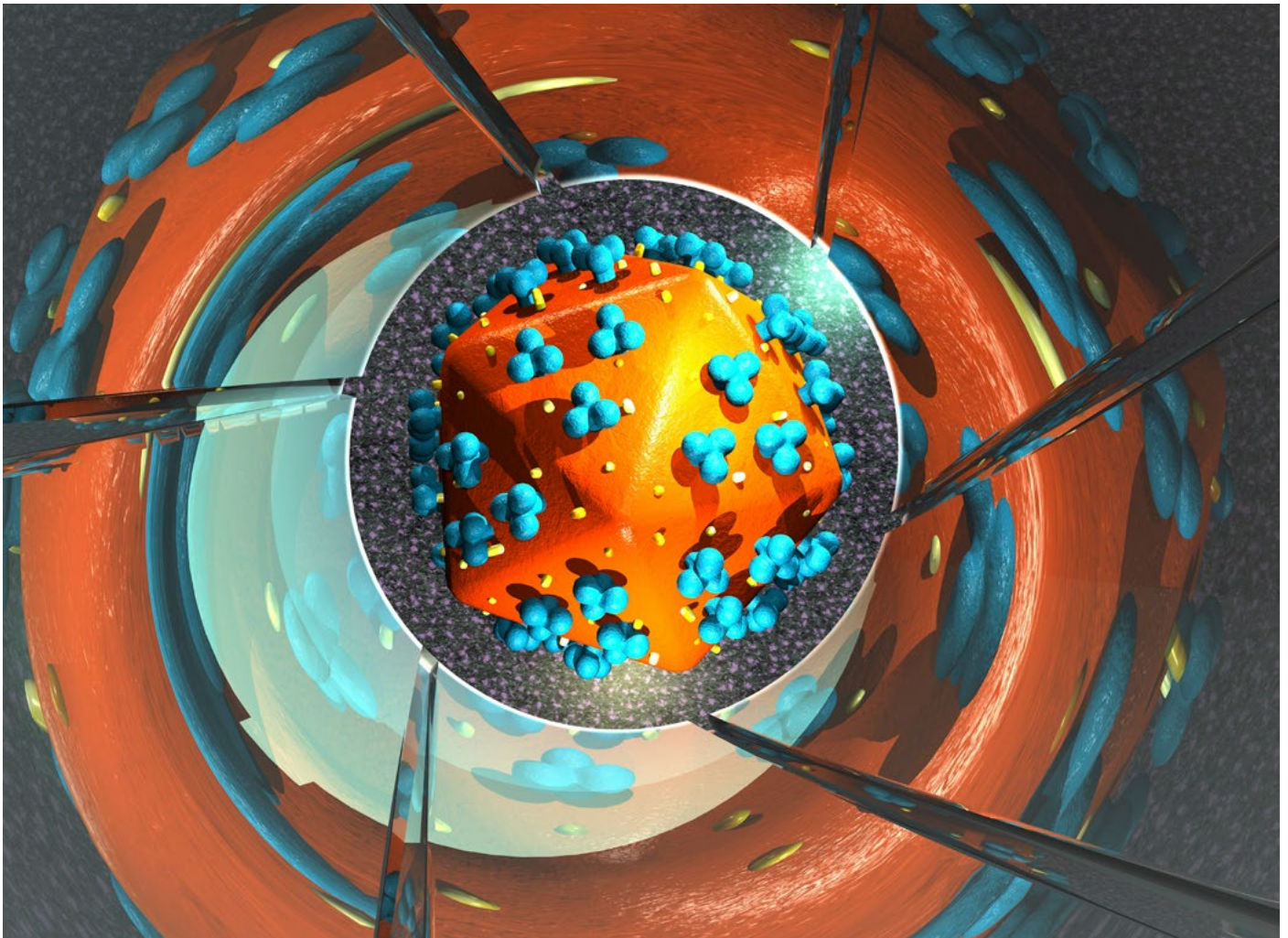
Quando i ricercatori hanno confrontato i campioni più recenti prelevati ai pazienti hanno scoperto con sorpresa che le mutazioni dei virus che infettavano i diversi soggetti erano molto simili fra loro. Non solo alcune di esse corrispondevano alle mutazioni del virus riscontrate nelle epidemie influenzali verificatesi anni dopo.

Ciò indica, osservano i ricercatori, che i percorsi evolutivi che permettono ai virus di aggirare i sistemi immunitari delle persone sono pochi, e che le mutazioni che poi si diffondono nel mondo sono frutto di un lungo processo in cui - grazie all'efficienza del sistema immunitario della persona in cui si è sviluppata o di quella da questa contagiata - solo alcune riescono ad affermarsi.

In prospettiva lo studio delle infezioni negli individui con un decorso influenzale di media durata potrebbe servire a prevedere l'evoluzione globale dell'influenza e a mettere a punto vaccini contro i probabili ceppi virali dell'anno successivo. Attualmente è necessario che il ceppo mutante sia identificato nella popolazione generale, per poi procedere alla sua coltivazione e alla produzione di un nuovo vaccino, un processo che richiede in media nove mesi.

www.lescienze.it, 3 luglio 2017

Come uccidere l'HIV colpendo i suoi "influencer"



© SPL/AGF

Applicando la teoria matematica delle reti, un nuovo studio ha scoperto quali sono gli amminoacidi più importanti per la sopravvivenza dell'HIV aprendo la strada a una strategia terapeutica che stimola il sistema immunitario dell'ospite a colpirli in modo specifico

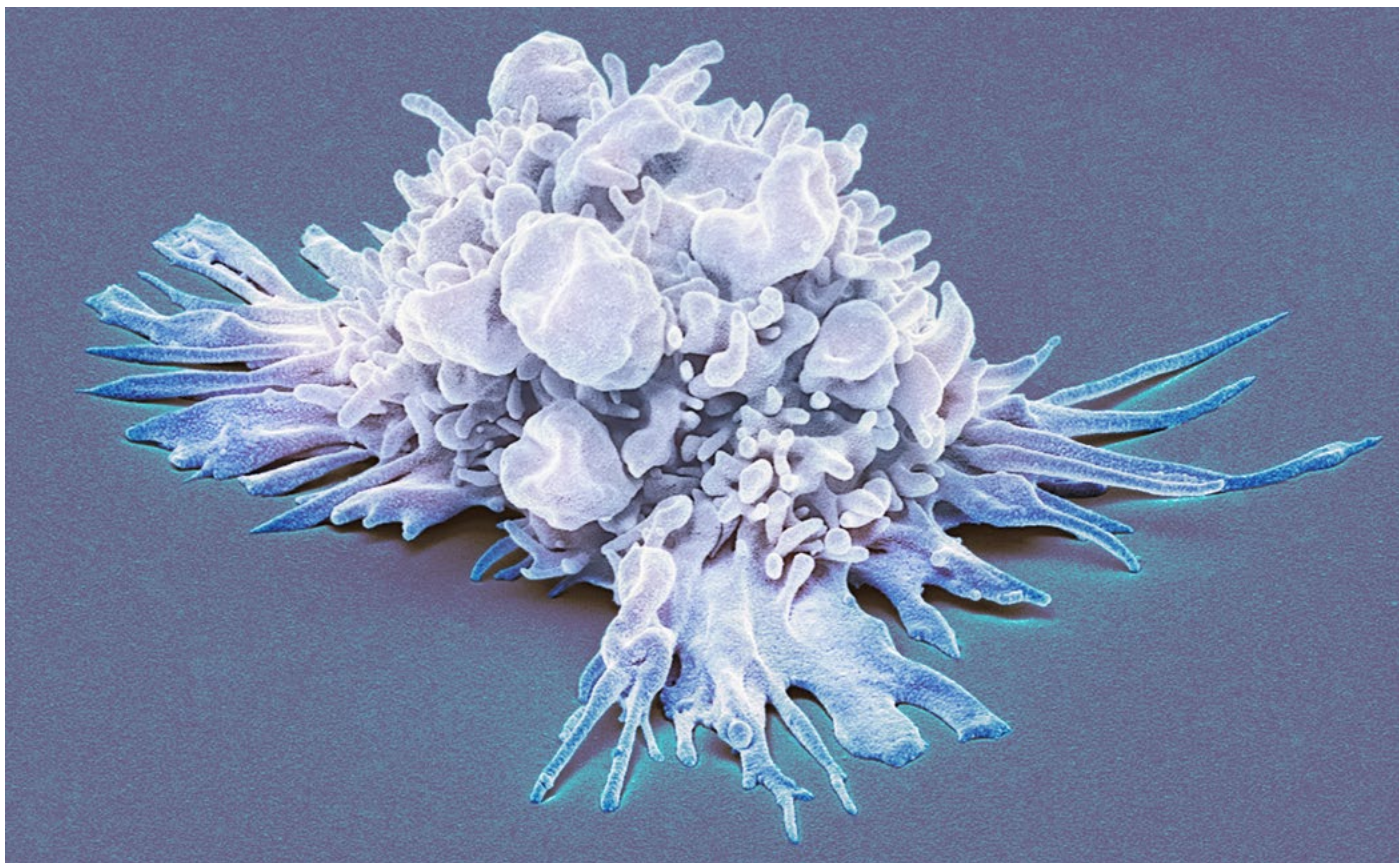
di Apoorva Mandavilli

Praticamente in qualsiasi sistema o gruppo, gli elementi con un numero maggiore di connessioni tendono ad avere più influenza di altri, basti pensare agli influencer su Instagram, per esempio, o agli amministratori delegati delle società.

Anche all'interno di un virus, alcuni componenti strutturali, in questo caso parti di proteine, hanno più collegamenti tra loro rispetto ad altri. E insegnare al sistema immunitario a riconoscere e distruggere quegli influencer è un modo

efficace per uccidere l'HIV, suggerisce un nuovo studio pubblicato su "Science".

Lo scorso marzo, la notizia che una seconda persona, spesso definita "paziente di Londra", era stata curata con un trapianto di midollo osseo, ha destato molto entusiasmo nel campo dell'HIV. Il donatore aveva una mutazione che rende naturalmente resistenti all'HIV; in pratica, la procedura ha sostituito il sistema immunitario del paziente con uno nuovo e resistente.



Micrografia elettronica di linfocita T attivato. I linfociti T sono una componente essenziale del sistema immunitario (© STEVE GSCHMEISSNER/APL/AGF)

Tuttavia, i trapianti di midollo osseo sono rischiosi e invasivi e molti esperti ritengono più probabile che una cura praticabile per i 37 milioni circa di persone affette da HIV in tutto il mondo arrivi da qualche brillante studio di tipo molecolare. La maggior parte delle ricerche su una cura per l'HIV si è finora concentrata sul rafforzamento del sistema immunitario, ma il nuovo studio ribalta completamente quell'approccio cercando le parti più critiche del virus.

Nel nuovo lavoro, i ricercatori si sono concentrati sui cosiddetti *elite controller*, soggetti i cui organismi controllano il virus senza l'ausilio di alcun farmaco e che si stima rappresentino circa un caso ogni 300 individui infetti.

Era logico che indagare su come il loro sistema immunitario elimina l'HIV potesse indicare la strada per una cura, dice Bruce Walker, autore senior dell'articolo e direttore del Ragon Institute del Massachusetts General Hospital, Massachusetts Institute of Technology e Harvard University. "Secondo me, non ci sono due persone che sono guarite dall'infezione da HIV", spiega Walker. "Ce ne sono migliaia, e molte di loro controllano il virus da sole. Nel nostro campo di ricerca dobbiamo perseguire questo obiettivo con la massima priorità".

Walker e colleghi hanno scoperto che i sistemi immunitari degli elite controller prendono di mira le regioni più

influenti del virus. I ricercatori hanno fatto questa scoperta applicando la teoria delle reti, un tipo di analisi frequentemente utilizzato in matematica per tracciare una relazione tra gli oggetti. Hanno usato la teoria per mappare le connessioni tra amminoacidi, i mattoni elementari delle proteine, nelle strutture molecolari tridimensionali delle proteine dell'HIV. (Hanno usato le strutture 3D perché due amminoacidi che appaiono distanti nella sequenza lineare di una proteina possono essere molto più vicini e collegati in tre dimensioni).

I ricercatori hanno scoperto che alcuni amminoacidi tendono ad avere numerose strutture ramificate che li inducono a interagire con molti altri amminoacidi. Questi amminoacidi ramificati hanno un elevato "punteggio di rete", dice Walker, e sono quindi i più importanti per l'integrità dell'HIV. L'HIV può mutare, quando mette in atto una risposta difensiva a un farmaco che prende di mira una parte specifica della sua struttura.

Ma gli amminoacidi con alti punteggi di rete sono così importanti che il virus non può cambiarli senza un grande costo per se stesso: se quegli amminoacidi cambiano, le connessioni si perdono. "Se prendi un amminoacido altamente connesso in rete e lo fai mutare, il virus va letteralmente in pezzi", spiega Walker. "Perde drasticamente la sua efficienza".

La scoperta rende quegli amminoacidi dei bersagli ideali

per la terapia, perché attaccarli mette il virus in una situazione senza via di uscita: finisce distrutto, che muti o meno. Il team di Walker ha scoperto che il sistema immunitario degli elite controller tende a bersagliare selettivamente questi amminoacidi influencer; nella maggior parte delle altre persone infette, il sistema immunitario invece conduce attacchi inutili su altre parti meno importanti del virus.

"Questo lavoro è notevole e importante," dice Andrew McMichael, professore emerito di medicina molecolare presso l'Università di Oxford, che ha scritto un commento che accompagna l'articolo, ma non è stato coinvolto nella nuova ricerca. "Analizza perché alcune [risposte immunitarie] sono efficaci e altre meno".

La nuova ricerca aiuta anche a chiarire alcune scoperte, considerate finora incoerenti, su una molecola immunitaria chiamata B*57, ritenuta un'arma magica che gli elite controller usano contro l'HIV.

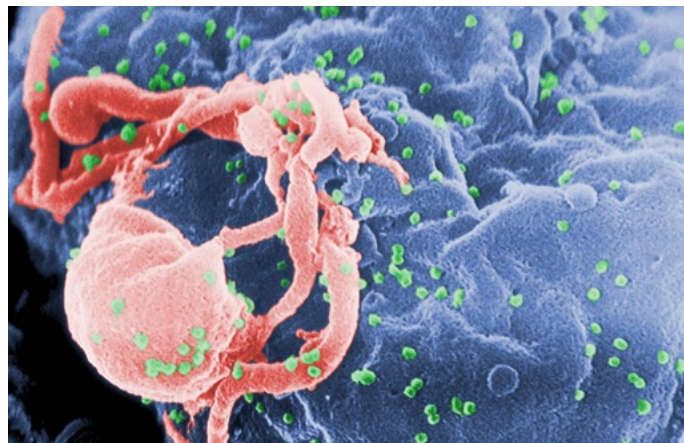
B*57 è un sottotipo di molecole chiamate antigeni leucocitari umani (HLA), che costituiscono una parte fondamentale del sistema immunitario. Gli HLA trasportano frammenti di virus sulla superficie di una cellula infetta in modo che le cellule immunitarie killer che circolano nel sangue possano riconoscere la cellula contrassegnata come infetta e distruggere sia la cellula sia il virus al suo interno.

Esistono migliaia di tipi di HLA, alcuni più comuni di altri e alcuni più efficaci nel controllo di alcune infezioni. Tra questi, si ritiene che B*57 sia particolarmente potente contro l'HIV. Ma gli scienziati sono rimasti sconcertati dal fatto che non tutti i soggetti con B*57 sono elite controller, né tutti i elite controller sono portatori di B*57. Il nuovo articolo suggerisce che la chiave non è tanto la stessa B*57, ma gli amminoacidi influencer che bersaglia.

B*57 "è il principale determinante della progressione o della non progressione dell'infezione da HIV, ma non è del tutto perfetto", afferma McMichael, aggiungendo che il nuovo articolo "in qualche modo va verso una spiegazione del perché".

Walker e altri hanno studiato gli elite controller per decenni. Una di loro, Loreen Willenberg, che ora ha 65 anni, fu diagnosticata nel 1992 e da allora ha donato centinaia di campioni per la ricerca. Willenberg, che afferma di avere "un incredibile sistema immunitario", è invulnerabile a decine di agenti patogeni, incluso l'HIV. I test che misurano la sua risposta immunitaria all'HIV risultano ancora positivi, ma nessun test riesce a rilevare il

virus. "Non è mai stata misurata una carica virale, mai. È sempre stato inosservabile", dice Willenberg.



Micrografia elettronica del virus HIV (in verde) (©AGF)

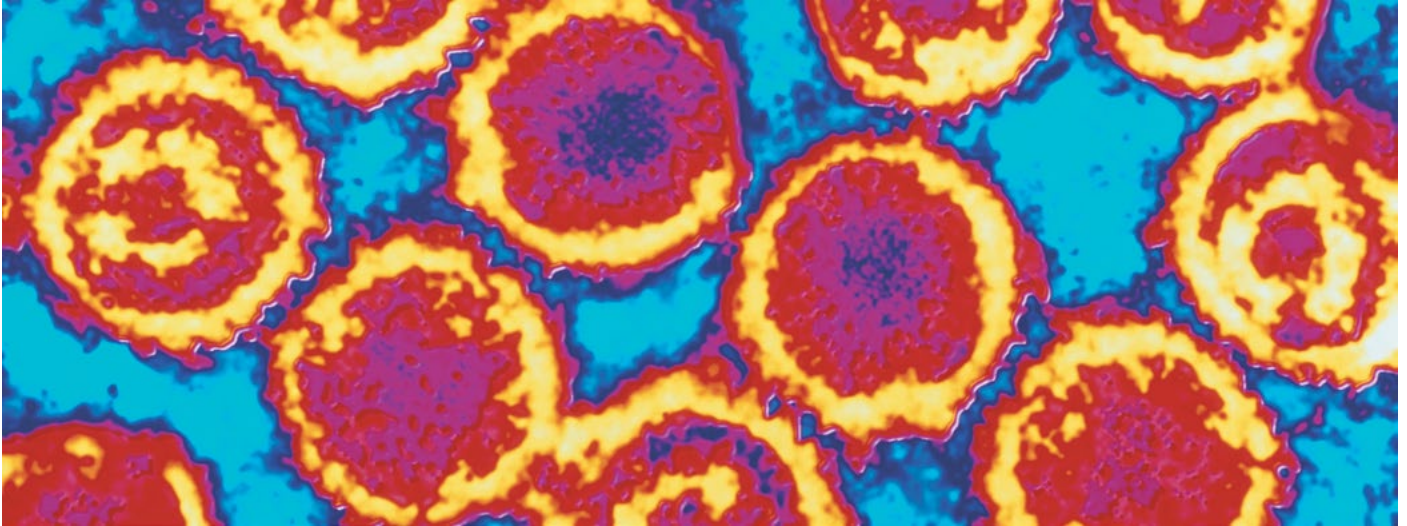
Walker ha studiato Willenberg per circa 15 anni. Ma stavolta, invece di concentrarsi sugli aspetti della sua genetica che la proteggono dall'HIV, il gruppo si è dedicato ad alcune parti dell'HIV che vengono attaccate dal suo sistema immunitario. "Qui non prendiamo in considerazione la genetica dell'ospite", dice Walker.

Eppure lo studio spiega comunque che cosa rende il suo sistema immunitario così straordinario: attacca selettivamente gli amminoacidi con i punteggi di rete più alti. "Si adatta perfettamente allo schema", aggiunge. Con questa conferma dell'importanza degli amminoacidi influencer, Walker spera di sviluppare un "vaccino terapeutico" che possa essere somministrato a persone già infette da HIV. Il vaccino conterrebbe circa 30 parti virali con i punteggi di rete più alti. La speranza è che prepari il sistema immunitario di una persona infetta a riconoscere e inseguire questi obiettivi cruciali, distruggendo il virus.

"Riteniamo di poter reindirizzare la risposta immunitaria", afferma Walker. "Non sappiamo se funzionerà, ma c'è una ragione molto forte per farlo."

www.lescienze.it, 6 maggio 2019

Quando i virus inducono il cancro



Il virus di Epstein-Barr, o EBV è stato il primo virus oncogeno umano a essere identificato (© SPL/AGF)

Oggi sappiamo che i virus possono indurre tumori, ma la nozione ha faticato a farsi strada. Gli studi sui virus oncogeni hanno portato a risultati fondamentali. Per esempio, grazie a queste ricerche si può dire che il cancro è una malattia dei geni e che deriva da un'unica cellula. Questi risultati sono stati importanti per la biologia dei tumori ma anche per la prevenzione di alcuni tipi di cancro attraverso lo sviluppo di vaccini

di Lisa Vozza e Luigi Chieco-Bianchi

Un tumore umano su cinque ha origine infettiva. Per definire questa frazione ci è voluto oltre un secolo di studi e ricerche che hanno alternato momenti fervidi e convulsi a lunghe pause di incertezza e scetticismo. La nozione che, in alcuni casi, i tumori potessero essere malattie trasmesse da un agente infettivo ha faticato a farsi strada.

Malgrado le fasi alterne, da queste ricerche sono arrivati alcuni fra i più straordinari risultati della storia dell'oncologia sperimentale, con un emergere di conoscenze che è andato ben oltre l'individuazione dei principali virus in grado di causare tumori.

Senza queste ricerche, oggi non potremmo dire che il cancro è una malattia dei geni, né che un tumore deriva da un'unica cellula. Non avremmo elaborato il concetto di oncogene e non conosceremmo alcune fra le principali molecole implicate nella perdita di regolazione cellulare tipica dei tumori. E infine non disporremmo di strumenti di prevenzione in grado di difenderci da due forme di cancro molto comuni.

Se questi studi hanno costruito buona parte dell'armatura concettuale e sperimentale di quello che oggi sappiamo

sulla biologia del cancro, non è da meno la scia di Nobel che ha premiato gli artefici di queste scoperte, da Peyton Rous a Baruch Blumberg, Renato Dulbecco, Howard Temin, David Baltimore, Harold Varmus e J. Michael Bishop, fino ad Harald zur Hausen. E altri ne verranno di certo. Proviamo a ripercorrere la storia di queste vicende.

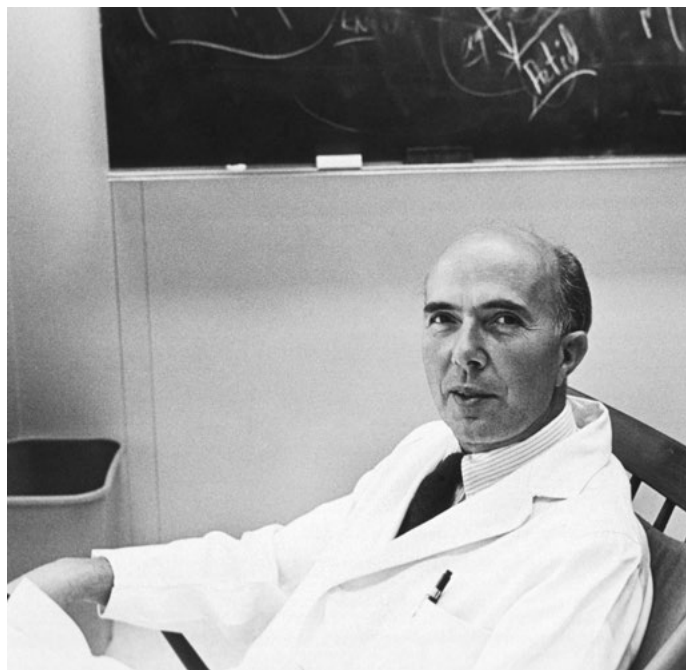
Una nuova disciplina

Nel 1911 Peyton Rous, al Rockefeller Institute di New York, scopre che un virus è in grado di causare un tumore dei polli. Il cancro è una malattia descritta fin dall'antichità, ma la nozione che possa essere una malattia infettiva è una novità assoluta (in realtà c'erano state precedenti avvisaglie da studi in Italia e in Danimarca, che però non avevano raggiunto una eco sufficiente). Con la scoperta di quello che sarà poi chiamato virus del sarcoma di Rous (Rous sarcoma virus, RSV), il medico statunitense fonda una nuova disciplina, e la caccia ad altri virus oncogeni è aperta.

Negli anni venti, tuttavia, un'altra malattia animale apparentemente tumorale è attribuita a un parassita invece che, correttamente, a una carenza alimentare. L'errore costa caro: l'associazione fra agenti infettivi e cancro perde il favore della comunità scientifica, già parecchio scettica,

e lo studio sui virus che causano il cancro entra in un lungo letargo. Dovrà passare oltre mezzo secolo prima che Rous possa ricevere il meritato premio Nobel per la medicina o la fisiologia.

Arriviamo così agli anni sessanta. Nel laboratorio di Renato Dulbecco, al California Institute of Technology di Pasadena, Howard Temin e Harry Rubin scoprono che l'infezione con RSV di fibroblasti di pollo in coltura trasforma le cellule in modo simile a quello che si osserva nei sarcomi animali. Temin e Rubin capiscono che il processo di sviluppo di un tumore, o trasformazione, è una malattia delle cellule che può essere indotta in vitro e osservata al microscopio. Sempre in questi esperimenti, Temin e Rubin notano che il cancro ha origine da un'unica cellula progenitrice in grado di trasmettere le caratteristiche tumorali, per esempio il cambiamento di forma e la capacità di proliferare indefinitamente, alle cellule figlie.



Renato Dulbecco ha vinto il premio Nobel per la medicina nel 1975 "per le sue scoperte concernenti le interazioni fra virus tumorali e il materiale genetico della cellula" (© AGF)

Gli esperimenti di Temin e Rubin determinano il risveglio di questo settore di ricerca, e le domande a cui gli scienziati cercano di dare risposte sono tante e importanti. Ci si chiede, per esempio, se il carattere tumorale delle cellule trasformate dipenda dalla continua presenza del virus. Un ingegnoso esperimento, eseguito nel 1970 all'Università della California a Berkeley, chiarisce la questione. Un virus RSV mutante sensibile alla temperatura, in grado di trasformare le cellule in vitro alla temperatura di 37 gradi Celsius, ma non a 41, è usato per dimostrare che le cellule assumono l'aspetto tumorale solo a 37 gradi, mentre ritornano allo stato normale a 41 gradi. In altre parole, il

mantenimento dello stato trasformato non è una vicenda da «colpisci e corri» (mutuando il gergo del baseball), ma richiede presenza e attività continua del virus e la sua capacità di perpetuarsi nella discendenza cellulare.

Negli stessi anni si sviluppano i primi test di tumorigenicità, in cui cellule estratte da un animale e trasformate in vitro sono usate per indurre un tumore in un animale dello stesso ceppo, evitando il rigetto da parte del sistema immunitario.

Il primo virus tumorale umano

Torniamo indietro di un decennio. Verso gli anni sessanta la lista dei virus in grado di provocare tumori si è ormai allungata; non ci sono solo virus a RNA, come l'RSV, ma anche virus a DNA, come i papovavirus, gli adenovirus, gli herpesvirus e i poxvirus, e gli animali soggetti a queste malattie non si limitano più agli uccelli, ma comprendono anche diversi mammiferi. Così si diffonde l'idea che anche gli esseri umani possano essere coinvolti.

I virus oncogeni sono di nuovo al centro dell'attenzione, al punto che il governo degli Stati Uniti lancia, nel 1964, lo Special Virus Cancer Program. Nello stesso anno Anthony Epstein e Yvonne Barr individuano al microscopio elettronico particelle di un virus della famiglia degli herpes in cellule derivate dal linfoma di Burkitt, un tumore pediatrico endemico in Africa orientale e descritto per la prima volta negli anni cinquanta dal medico britannico Dennis Burkitt.

Il virus di Epstein-Barr (EBV) è dunque il primo virus oncogeno umano a essere identificato, e presto si scopre che oltre il 90 per cento degli esseri umani adulti è abitualmente contagiato e risulta positivo al test per la presenza di anticorpi contro questo virus. Però soltanto una piccolissima frazione degli individui infetti sviluppa il linfoma di Burkitt. Questa osservazione chiarisce che generalmente i virus agiscono come fattori necessari ma non sufficienti allo sviluppo del cancro, un processo che, come oggi sappiamo, è dovuto al cumulo di numerosi eventi. In Africa orientale, per esempio, la concomitante infezione malarica, lo stato nutrizionale carente e un sistema immunitario debilitato possono concorrere a rendere più probabile la proliferazione tumorale scatenata dall'EBV.

Nel 1994 salirà alla ribalta un virus strettamente imparentato con l'EBV, grazie all'isolamento da parte di Yuan Chang e Patrick Moore del KSHV, il virus responsabile del sarcoma di Kaposi, tristemente associato all'epidemia di AIDS. Oggi il virus è considerato il fattore causale di questo sarcoma, al cui sviluppo contribuisce

tuttavia anche la concomitante infezione da HIV, dato il suo ruolo immunosoppressivo sul sistema immunitario.

Anche per i virus a DNA sembra necessaria la continua presenza di molecole virali per mantenere la trasformazione cellulare. In che modo, però, i virus siano in grado di effettuare questa trasformazione e trasmetterla alle cellule figlie è, quasi alla fine degli anni sessanta, ancora un mistero. Nel 1968 si scopre che in cellule trasformate il DNA di SV40 (un papovavirus isolato originariamente in cellule di scimmia) è associato al DNA dei cromosomi della cellula, e non può essere separato da questi con nessun trattamento. Di fatto il DNA virale è integrato in un cromosoma dell'ospite. Anni dopo si chiarirà che questo meccanismo di integrazione è essenziale allo sviluppo del tumore della cervice uterina, causato da alcuni ceppi del papillomavirus umano, parente stretto del virus SV40.

Virus a RNA nel genoma cellulare

Se per i virus a DNA si è fatta un po' di chiarezza, i meccanismi con cui i virus a RNA trasformano le cellule sono ancora sconosciuti. Alla fine degli anni sessanta Howard Temin propone un'ipotesi fantasiosa: una volta entrato in una cellula, un virus a RNA potrebbe produrre una copia di DNA a doppio filamento del proprio materiale genetico; questa copia sarebbe quindi integrata nel genoma della cellula ospite, assumendo il nome di provirus. Da qui, il provirus potrebbe essere duplicato e trasmesso alle cellule figlie, oltre che trascritto in RNA per costruire nuove particelle virali.

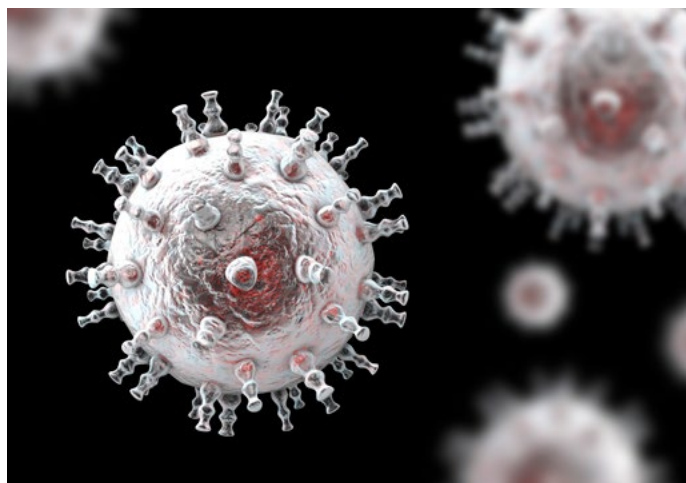


Illustrazione computerizzata del virus del sarcoma di Kaposi (© Kateryna Kon/SPL/AGF)

La proposta va contro il dogma che l'informazione biologica fluisca in un'unica direzione, dal DNA all'RNA, alle proteine. Ma quell'idea bizzarra, respinta con forza dalla comunità scientifica, è confermata nel 1970, quando Howard Temin e David Baltimore scoprono in maniera indipendente che nell'RSV e in altri virus simili c'è un

enzima, la trascrittasi inversa, in grado di trascrivere l'RNA in DNA a doppio filamento. Il comitato per l'assegnazione dei Nobel è al lavoro.

I virus a RNA che si comportano in questo modo prendono il nome di retrovirus, termine adottato per riflettere la direzione inversa dell'informazione dall'RNA al DNA. Fra virus a DNA e retrovirus emerge una differenza fondamentale: mentre per i retrovirus l'integrazione nel DNA dell'ospite è una tappa obbligata del ciclo di replicazione virale, nel caso dei virus a DNA l'inserimento nel cromosoma dell'ospite è un evento facoltativo, e anche molto raro.

Gli oncogeni cellulari

Il genoma dei retrovirus è in genere molto piccolo, spesso limitato a meno di una decina di geni. Grazie all'uso di mutanti, la genetica individua facilmente, nel caso di RSV, i geni necessari alla replicazione virale; tutto ciò che rimane fuori, nel caso in questione il gene src, è candidato a essere implicato nella trasformazione.

Nel 1974 Michael Bishop e Harold Varmus mettono alla prova questa ipotesi, costruendo una sonda per trovare il gene src e seguirne il percorso all'interno delle cellule infette. L'idea è che le cellule non infette non debbano avere src. Con grande sorpresa i due ricercatori dell'Università della California a San Francisco trovano sequenze molto simili a src nel DNA di cellule di pollo non infettate da RSV.

E non finisce qui: sequenze simili a src sono comuni a molte specie animali, dagli uccelli ai mammiferi, con differenze tracciabili su un albero evolutivo molecolare. In altre parole, src è un gene altamente conservato: nella forma in cui si trova nel genoma di molte specie animali (c-src) è compatibile con la vita normale e non cancerosa delle cellule, mentre la forma virale (v-src) è un potente oncogene. Ma quale delle due forme si è evoluta prima?

La scoperta che il virus della leucosi aviaria (ALV), retrovirus antesignano di RSV, è privo del gene v-src aiuta a sciogliere l'arcano: RSV si è modificato rispetto ad ALV, «sequestrando» un gene cellulare che, in seguito a qualche mutazione, è diventato capace di trasformare le cellule.

In realtà la lezione di questa scoperta è ancora più profonda, perché fa intuire che lo stesso gene cellulare c-src può essere convertito in un oncogene in seguito a mutazioni da parte di agenti di varia natura che lo rendano simile a v-src o comunque diverso dall'originale. Per la potenzialità di trasformarsi in un oncogene, c-src inaugura la categoria dei cosiddetti proto-oncogeni. Il Nobel a Bishop e Varmus non tarderà molto.

Numeri virali

I virus che nell'uomo possono indurre tumori sono diversi, come diversa è la loro diffusione nella popolazione.

Ecco i principali, con i dati dell'Organizzazione mondiale della sanità.

Papilloma virus umano (HPV)

La prevalenza globale delle infezioni ai genitali causate da questo virus è 440 milioni di casi. Ogni anno l'HPV provoca 500.000

casi di cancro alla cervice uterina.

Virus di Epstein-Barr (EBV)

Si stima il 90 per cento della popolazione mondiale sia infettato da questo virus. Ma solo una piccolissima percentuale di individui infetti sviluppa i tumori associati all'EBV, tra cui il linfoma di Burkitt.

Virus dell'epatite B (HBV)

Circa due miliardi di persone sono

infettate dall'HBV, da 50 a 100 volte più infettivo dell'HIV.

Il virus HBV può indurre cancro al fegato.

Virus dell'epatite C (HCV)

Si stima che il 3 per cento della popolazione mondiale, 170 milioni di persone, sia infettato dall'HCV, e che ogni anno si verifichino tra 3 e 4 milioni di nuove infezioni. L'HCV può indurre carcinoma epatocellulare.

La corsa all'oncogene è cominciata. La lista dei proto-oncogeni riconosciuti a partire dalla presenza di un oncogene virale in un retrovirus si allunga, fino agli oltre 70 di oggi. Fra i primi ad aggiungersi, l'oncogene myc, individuato in versione v-myc nel virus della mielocitatosi del pollo; fes, nel virus della leucemia felina; e i due oncogeni H-ras e K-ras, in un virus ibrido della leucemia del ratto e del topo. Sempre dagli studi sulla relazione fra virus oncogeni e ambiente cellulare emergeranno anche p53 e retinoblastoma (Rb), due fra i principali oncosoppressori dei tumori umani. Buona parte dei proto-oncogeni e degli oncosoppressori identificati hanno funzioni chiave nel controllo della proliferazione cellulare e dell'apoptosi (il processo di morte cellulare programmata).

Retrovirus a trasformazione lenta

Nella categoria dei retrovirus oncogeni ci sono anche virus che, diversamente dai retrovirus dotati di oncogeni virali, sono molto diffusi in natura, e sebbene non portino nel genoma un oncogene riescono comunque a indurre lo sviluppo di un tumore, anche se più lentamente. Come fanno? La risposta arriva nel 1981, dallo studio del genoma di cellule di pollo infettate e trasformate da ALV, cioè il virus privo di oncogene src da cui si è evoluto RSV.

Si scopre che le cellule trasformate da ALV portano sempre una copia del provirus integrata nel genoma. Il punto in cui un provirus si integra nel genoma cellulare è casuale. Tuttavia nell'80 per cento dei genomi delle cellule leucemiche trasformate da ALV, il provirus è sempre integrato nel DNA in una posizione adiacente al proto-oncogene c-myc. Questo proto-oncogene passa così sotto il controllo della macchina di replicazione virale, assumendo un comportamento trasformante analogo a quello

dell'oncogene v-myc, individuato nel frattempo in un altro retrovirus aviario. A questo processo di inserzione casuale, cui segue l'attivazione di proto-oncogeni, viene dato il nome di mutagenesi inserzionale.

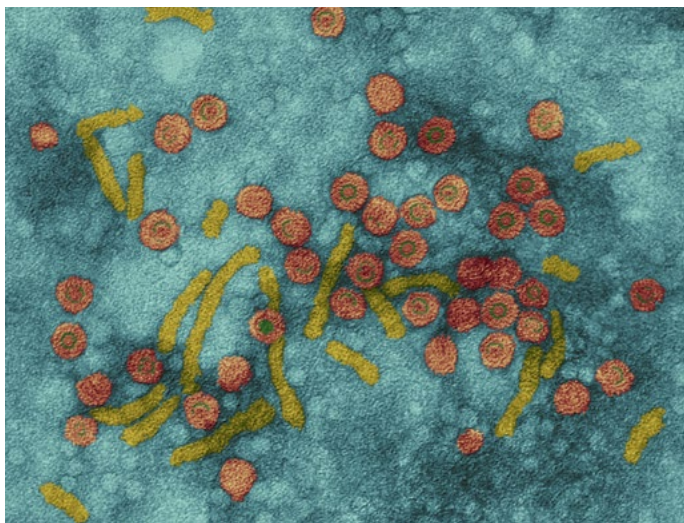
Alle due classi di retrovirus oncogeni, lenti e veloci, si aggiunge nel 1980 un'ulteriore categoria, quando Robert Gallo scopre HTLV-1. Si tratta del primo retrovirus tumorale umano, individuato come causa di una forma di leucemia in circa l'1 per cento degli abitanti di Kyushu, un'isola del Giappone. Il virus non contiene oncogeni nel genoma, ma il suo potere trasformante sembra riconducibile al gene virale tax, il cui prodotto genico è allo stesso tempo un fattore essenziale per la replicazione del virus e un attivatore di alcuni fattori di crescita cellulare. A loro volta, questi fattori possono condurre a una proliferazione incontrollata di diversi tipi di cellule del sangue.

Prevenire i tumori indotti da virus

La storia della ricerca sui virus oncogeni non si è limitata ad accumulare conoscenze di base sulla biologia dei tumori. Lo sviluppo di due vaccini e di altri sistemi capaci di prevenire due tumori molto diffusi indotti da virus sono traguardi notevoli.

Il primo vaccino è stato sviluppato alla fine degli anni settanta, contro l'epatite B, da Maurice Hilleman e colleghi al Merck Institute for Vaccinology di West Point, in Pennsylvania. È il primo vaccino in grado di prevenire lo sviluppo di un tumore umano, il carcinoma epatocellulare, che deriva nella maggior parte dei casi dall'infezione cronica da virus dell'epatite B (HBV). Si stima che nel mondo ci siano circa 350 milioni di portatori cronici di questo virus, e l'infezione è associata a un aumento del

rischio di sviluppare il tumore di 100 volte rispetto a chi non è infetto. La relazione fra l'HBV e questo tumore è messa in evidenza negli anni settanta da Baruch Blumberg, dell'Institute for Cancer Research di Philadelphia, il principale studioso di questo virus. Per i suoi studi, Blumberg otterrà il premio Nobel nel 1976.



Virus dell'epatite B (© AGF)

Dagli studi sull'epatite B emerge negli anni settanta un'altra forma della malattia epatica che non è indotta dall'HBV e si trova soprattutto in individui che hanno ricevuto sangue trasfuso. Sebbene lieve in apparenza, questa infezione tende a diventare cronica e in alcuni casi associata al carcinoma epatocellulare. Il virus responsabile, non coltivabile in vitro, è isolato nel 1989 da Michael Houghton e Harvey Alter, rispettivamente alla Chiron Corporation e ai National Institutes of Health. Si chiamerà virus dell'epatite C (HCV), un agente da cui si stima che siano infettate nel mondo oltre 170 milioni di persone. Sebbene contro l'HCV non sia ancora disponibile un vaccino, Houghton e Alter mettono a punto un metodo di screening del sangue che riduce a zero il rischio di contrarre l'epatite da trasfusione (nel 1970 questo rischio era di circa il 30 per cento). Per queste scoperte meriteranno il premio Lasker nel 2000.

Il secondo vaccino antitumorale è contro i ceppi 16 e 18 del papillomavirus umano (HPV). Questi due ceppi provocano circa il 70 per cento dei tumori della cervice uterina, una malattia che è la terza causa di morte da cancro per le donne a livello mondiale. Anche se recente, la storia del vaccino ha radici antiche. Gli studi sui papillomavirus risalgono ai primi del Novecento, quando Giuseppe Ciuffo dimostra la trasmissione di verruche nell'uomo tramite filtri acellulari; la capacità di causare tumori di questi virus è poi confermata dalle ricerche di Richard Shope sui conigli, negli anni trenta. Nel 1974 Harald zur Hausen propone che l'HPV sia l'agente causale del carcinoma

della cervice umana, contro l'opinione comune dell'epoca, secondo cui la causa di questa malattia era l'Herpes simplex di tipo 2. Malgrado l'accoglienza gelida, zur Hausen non si scoraggia, e nei primi anni ottanta dimostra la presenza di DNA di HPV in campioni di tumore umano della cervice uterina.

Il Nobel a zur Hausen arriva nel 2008. Anche per lo sviluppo del vaccino è stato necessario qualche anno, perché si sono dovuti caratterizzare i ceppi più ad alto rischio e si è cercata la strategia più adeguata per un vaccino sicuro ed efficace. L'opera è dell'australiano Ian Frazer, negli anni novanta. Il vaccino, approvato e diffuso, potrebbe prevenire più di 300.000 casi all'anno di tumore della cervice uterina a livello mondiale.

La posta in gioco

Oggi la complessa relazione fra virus e cancro sta vivendo una seconda rinascita. Le tecniche genomiche stanno mettendo in evidenza la presenza di marcatori virali in diversi tipi di tumore. Ci sono, per esempio, tracce significative di alcuni poliomavirus in vari tipi di tumore umano, fra cui il carcinoma di Merkel, ed è quindi opinione diffusa fra gli esperti che nei prossimi anni la lista dei virus oncogeni crescerà significativamente.

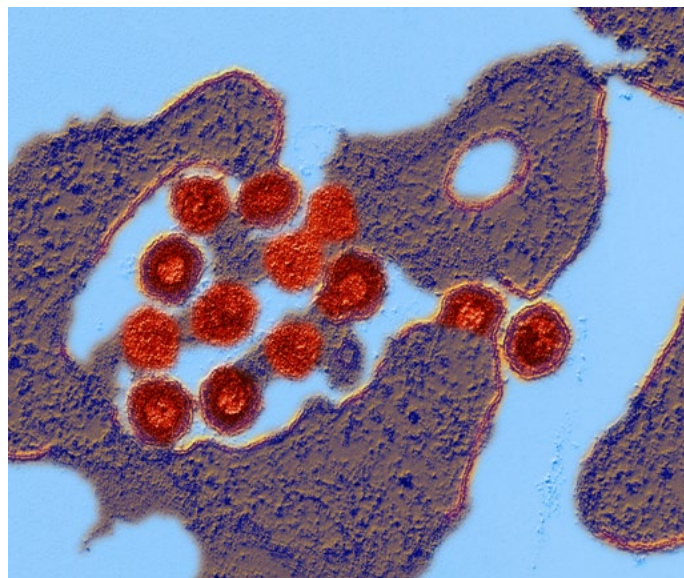
Ma la sola presenza di frammenti di geni virali non è sufficiente a stabilire un nesso causale, e dunque molti casi dubbi restano aperti. Probabilmente le ricerche richiederanno, come in passato, molti anni e tanta pazienza e tenacia rispetto alle alte dosi di scetticismo della comunità scientifica. Ma un fatto è certo: i virus non sono destinati a lasciare il proprio ruolo di protagonisti della ricerca sul cancro. Anche perché la posta in gioco, in termini di prevenzione, è potenzialmente altissima.

Gli autori

Luigi Chieco-Bianchi è oncologo, esperto di immunologia e virologia dei tumori, e professore emerito di oncologia all'Università di Padova. Lisa Voza, biologa e divulgatrice scientifica, è scientific officer dell'Associazione italiana per la ricerca sul cancro

[*"Le Scienze", n. 505, settembre 2010*](#)

La resurrezione dei retrovirus ancestrali



Particelle del retrovirus endogeno umano HERV_K (© SPL/AGF)

Normalmente, i retrovirus endogeni, resti di infezioni ancestrali diventati parte integrante del DNA, sono silenti e innocui. Ma in assenza di alcuni anticorpi possono sperimentare traslocazioni e ricombinazioni genetiche che restituiscono loro la capacità di riprodursi e diffondersi nell'organismo

I retrovirus endogeni - resti di ancestrali infezioni retrovirali che sono diventati parte integrante del DNA ereditato - possono riattivarsi in mancanza di una serie di specifici anticorpi, la cui produzione è legata anche allo stato della flora intestinale. Questa riattivazione potrebbe inoltre essere in relazione con lo sviluppo di alcune forme di cancro. E' questo il risultato ottenuto da una ricerca diretta da George Kassiotis, del MRC National Institute for Medical Research di Londra, in collaborazione con biologi dello statunitense National Cancer Institute e dell'Università francese di Aix-Marseille, pubblicata su "Nature".

Nel corso della loro evoluzione, tutti i mammiferi hanno sviluppato rapporti di simbiosi con un gran numero di specie microbiche e anche alcuni retrovirus endogeni. Le conseguenze a lungo termine delle interazioni tra l'ospite e i microrganismi possono variare dal mutualismo, in cui entrambi traggono reciproco vantaggio dal rapporto, fino al parassitismo più spinto, e non sempre sono del tutto chiare. Kassiotis e colleghi hanno dimostrato che solitamente questi retrovirus endogeni mancano di alcune parti del materiale genetico necessarie a innescare il processo di replicazione, cosa che li rende silenti e innocui.

In questo ultimo studio, i ricercatori hanno lavorato con un ceppo di topi portatori di un'alterazione genetica che li rende incapaci di produrre alcuni tipi di anticorpi, in particolare quelli in grado di prevenire la produzione da

parte di batteri presenti nell'organismo, soprattutto nel tratto intestinale, di determinate sostanze (nello specifico, alcuni lipopolisaccaridi).

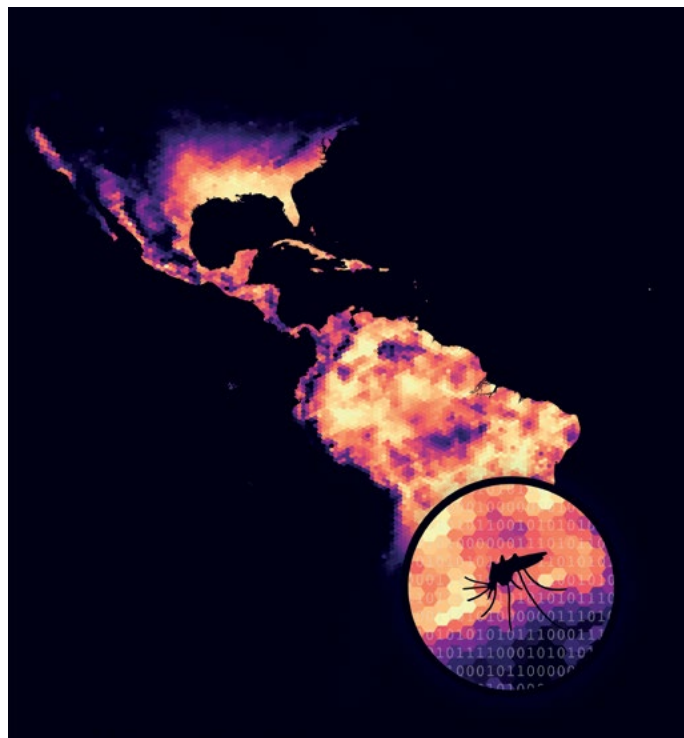
I ricercatori hanno dimostrato che, in presenza di questi liposaccaridi, i retrovirus endogeni silenziati, o parti di essi, possono sperimentare fenomeni di traslocazione e ricombinazione con altro materiale genetico, riuscendo a volte a recuperare la loro capacità di replicazione e quindi generare virus infettivi trasmissibili.

Lo sviluppo dei batteri in grado di produrre i liposaccaridi in questione è apparso in relazione all'equilibrio del microbiota intestinale, sensibile alle condizioni di allevamento e alla dieta dei topi. La presenza di questi retrovirus attivi, a sua volta, ha facilitato lo sviluppo di linfomi.

Secondo gli autori dello studio, il potenziale oncogeno dei retrovirus endogeni, ben stabilito nel topo, non è stato osservato nell'essere umano, tuttavia alcune famiglie di "frammenti" di questi retrovirus sono state identificate come causa di tumori umani attraverso un meccanismo di spostamento e inserimento in altri punti del genoma di cellule somatiche, nelle quali innescano la degenerazione cancerosa.

www.lescienze.it, 26 ottobre 2012

Prevedere la prossima pandemia



© N. Samay, Northeastern University

Simulazioni al computer permettono di anticipare e seguire la trasmissione di malattie nel mondo, suggerendo le mosse per affrontare patogeni in grado di scatenare crisi sanitarie globali

di Alessandro Vespignani

Durante l'estate 2014, i dati che arrivavano giorno dopo giorno sull'epidemia di Ebola in Africa occidentale offrivano il quadro sempre più evidente di una crisi internazionale di proporzioni disastrose. La situazione sembrava fuori controllo, con un numero di casi e di decessi in crescita esponenziale. A peggiorare il clima internazionale era la minaccia di una globalizzazione dell'epidemia, evidenziata dai primi casi negli Stati Uniti e in altri paesi sia europei sia africani.

Per il mio gruppo di ricerca, che fa parte del centro d'eccellenza dei National Institutes of Health degli Stati Uniti per l'inferenza e la dinamica delle malattie infettive, era quindi naturale unire le forze con una squadra di ricercatori provenienti da tre università statunitensi – Fred Hutchinson di Seattle, Università della Florida, Northeastern University di Boston – e da due centri di ricerca italiani – Fondazione Bruno Kessler di Trento, Fondazione Istituto interscambio scientifico di Torino – e tentare di portare il nostro contributo all'attività internazionale che cercava di contenere l'epidemia. Ma invece di fare le valigie e partire per le zone afflitte dall'epidemia ci siamo allacciati a dei supercomputer e siamo rimasti per mesi, come si dice in gergo, «a macinare numeri».

Facciamo un passo indietro. Il nostro lavoro di ricerca si svolge nell'ambito della cosiddetta epidemiologia computazionale. In altre parole, ricreiamo al computer una rappresentazione algoritmica della popolazione mondiale il più fedele possibile alla realtà. In questo mondo sintetico inseriamo la descrizione più accurata possibile dei meccanismi di trasmissione di una malattia e cerchiamo di prevedere la traiettoria futura dell'epidemia, nel tempo e nello spazio, tramite simulazioni dettagliate.

Questo lavoro ovviamente non si sostituisce al personale medico, agli operatori sanitari e ai tanti volontari che sono i veri eroi di ogni epidemia. Sono loro che, spesso a rischio della propria vita, combattono in prima linea negli ospedali a contatto con i malati. L'epidemiologia computazionale è però un'arma aggiuntiva, la cosiddetta *intelligence* che può aiutare chi è sul campo ad anticipare le mosse del nemico indicando le migliori strategie per combatterlo.

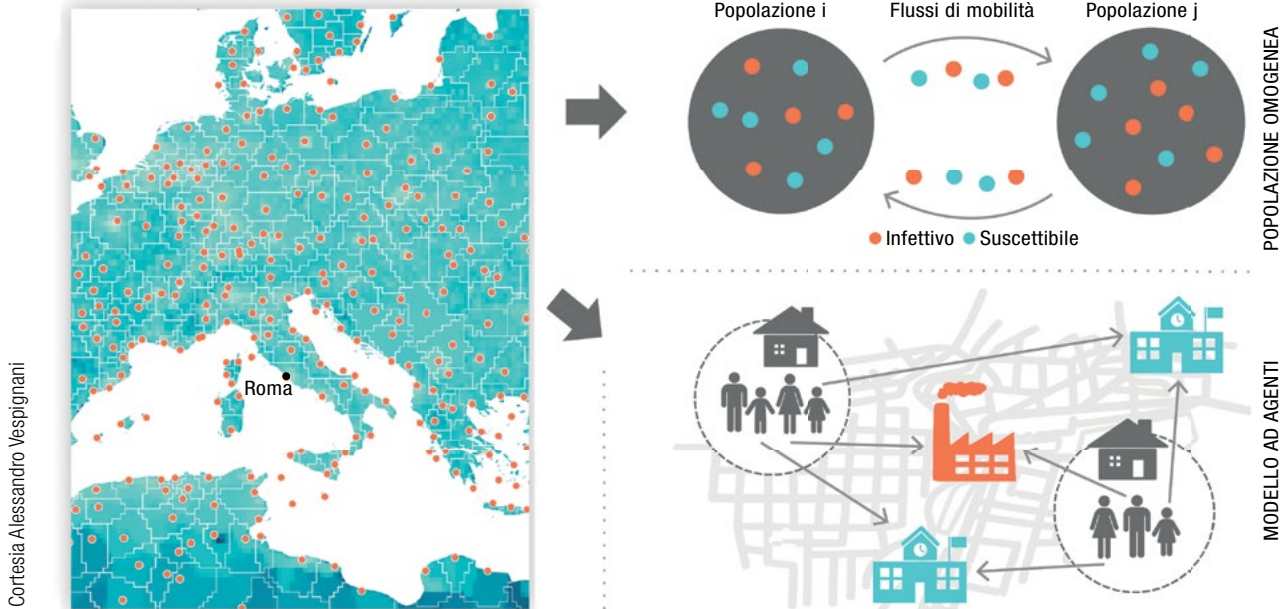
Nel caso di Ebola abbiamo tracciato scenari per valutare l'efficacia di interventi come la costruzione delle unità di isolamento per i malati, la costituzione di squadre per la sepoltura in sicurezza dei deceduti e, non ultimo, l'impiego del vaccino che è stato poi sperimentato con successo durante le fasi finali dell'epidemia.

Modelli per epidemie

A



B



La mappa (A) illustra la ricchezza dei dati di mobilità generalmente inclusi nei modelli epidemiologici computazionali. Nel modellizzare la mobilità degli individui di una grande città come Roma sono considerati sia i flussi di traffico internazionali sia le dinamiche di mobilità locali visibili nell'ingrandimento a sinistra, in colore rosso.

L'illustrazione (B) mostra un tipico schema di modellizzazione della diffusione epidemica. Prima

sono definite le popolazioni di interesse tramite una suddivisione di aree geografiche che campiona la superficie terrestre intorno ai principali aggregati urbani (punti in rosso sulla mappa). Poi il computer simula in modo esplicito la mobilità delle persone attraverso le varie popolazioni tracciando gli individui infetti (in rosso) e gli individui ancora suscettibili alla malattia (in blu) con diverse strategie che possono rappresentare i singoli in modo

omogeneo, senza particolari distinzioni, oppure usando modelli ad agenti che associano a ciascun individuo il nucleo familiare e altre attività quotidiane. Nei modelli più dettagliati il computer risolve milioni di equazioni che descrivono la dinamica dell'epidemia a livello di singolo individuo. Una piattaforma computazionale aperta al pubblico per la simulazione epidemica è disponibile sul sito web: www.gleamviz.org.

Dati, dati e ancora dati

Come i modelli atmosferici cercano di prevedere ogni anno la traiettoria dei cicloni tropicali, così i modelli di trasmissione delle malattie infettive cercano di prevedere la traiettoria dell'epidemia e la sua diffusione geografica. In questo contesto sembra ragionevole pensare che l'uso dei modelli numerici per la previsione delle epidemie si sia evoluto di pari passo con quello relativo alle previsioni meteorologiche. Ma non è così.

La prima previsione meteorologica eseguita da un computer digitale risale al 1950. Il gruppo di meteorologi del New Jersey's Institute for Advanced Study la produssero usando ENIAC, uno dei primi computer elettronici, contenente oltre 20.000 valvole e 70.000 resistenze. Dopo solo cinque anni, un progetto sia civile sia militare definiva il primo servizio operativo per le previsioni meteorologiche numeriche negli Stati Uniti. Oggi, nel 2018, le previsioni meteorologiche numeriche sono alla portata di miliardi di persone tramite servizi governativi o commerciali, accessibili da qualsiasi piattaforma mobile o su Internet. Le previsioni meteo fanno parte della nostra vita quotidiana, e hanno di fatto reso comuni importanti concetti scientifici come i sistemi caotici e «l'effetto farfalla».



Volontari della Croce Rossa a Kailahun, nella Sierra Leone, durante l'epidemia di Ebola nell'agosto 2014 (© ZumaPress.com/AGF)

L'epidemiologia matematica risale addirittura alla metà del XVIII secolo, con la pionieristica attività del matematico svizzero Daniel Bernoulli, e vede la sua formalizzazione teorica agli inizi del XX secolo negli Stati Uniti e in Inghilterra con i lavori di William Kermack, Anderson McKendrick, Lowell Reed e Wade Hampton Frost. Nonostante questa lunga tradizione teorica, la definizione dei modelli epidemici previsionali ha sofferto per lungo tempo dalla mancanza di dati di alta qualità necessari alla previsione in tempo reale delle emergenze epidemiche. Basti pensare che un pionieristico lavoro scientifico del 1985 che definiva le basi per la descrizione della circolazione delle epidemie influenzali attraverso il

trasporto aereo ha dovuto attendere quasi un lustro prima di vedere la sua completa realizzazione. Allo stesso modo, il primo confronto incrociato tra diversi modelli e agenti che esaminano le conseguenze delle strategie di intervento contro una pandemia influenzale negli Stati Uniti ha visto la luce solamente nel 2008.

È solo negli ultimi 15 anni che il campo ha sperimentato una notevole accelerazione, grazie alla disponibilità di dati in settori che vanno dalle sequenze genetiche degli agenti patogeni alla mobilità umana, passando per l'enorme numero di informazioni provenienti dai social network e dai dispositivi mobili. La rivoluzione dei big data è generalmente associata ad approcci «induttivi» (per esempio la modellizzazione statistica) o a metodologie basate sull'apprendimento automatico (*machine learning*) e sull'intelligenza artificiale.

Un esempio clamoroso di questi approcci è rappresentato da Google Flu Trends, che usando il volume delle domande al motore di ricerca associate a parole chiave come «febbre» e «tosse» ha definito un sistema automatico per la previsione della stagione influenzale negli Stati Uniti. Nonostante le limitazioni che ne hanno poi portato alla chiusura (molte dovute all'assenza di una reale comprensione della dinamica epidemica), Google Flu Trends ha di fatto aperto la strada a quella che oggi è definita epidemiologia digitale.

Nel mondo epidemiologico questi nuovi dati sono però una rivoluzione, anche perché permettono la comprensione teorica e la formalizzazione matematica dei meccanismi di propagazione epidemica a livello di singolo individuo e, di conseguenza, lo sviluppo di modelli che simulano in maniera esplicita la dinamica dell'epidemia sia nel tempo sia nello spazio.

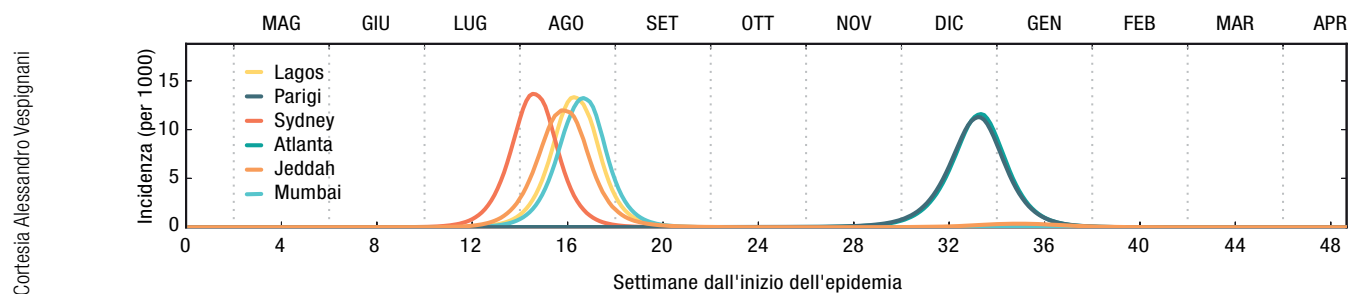
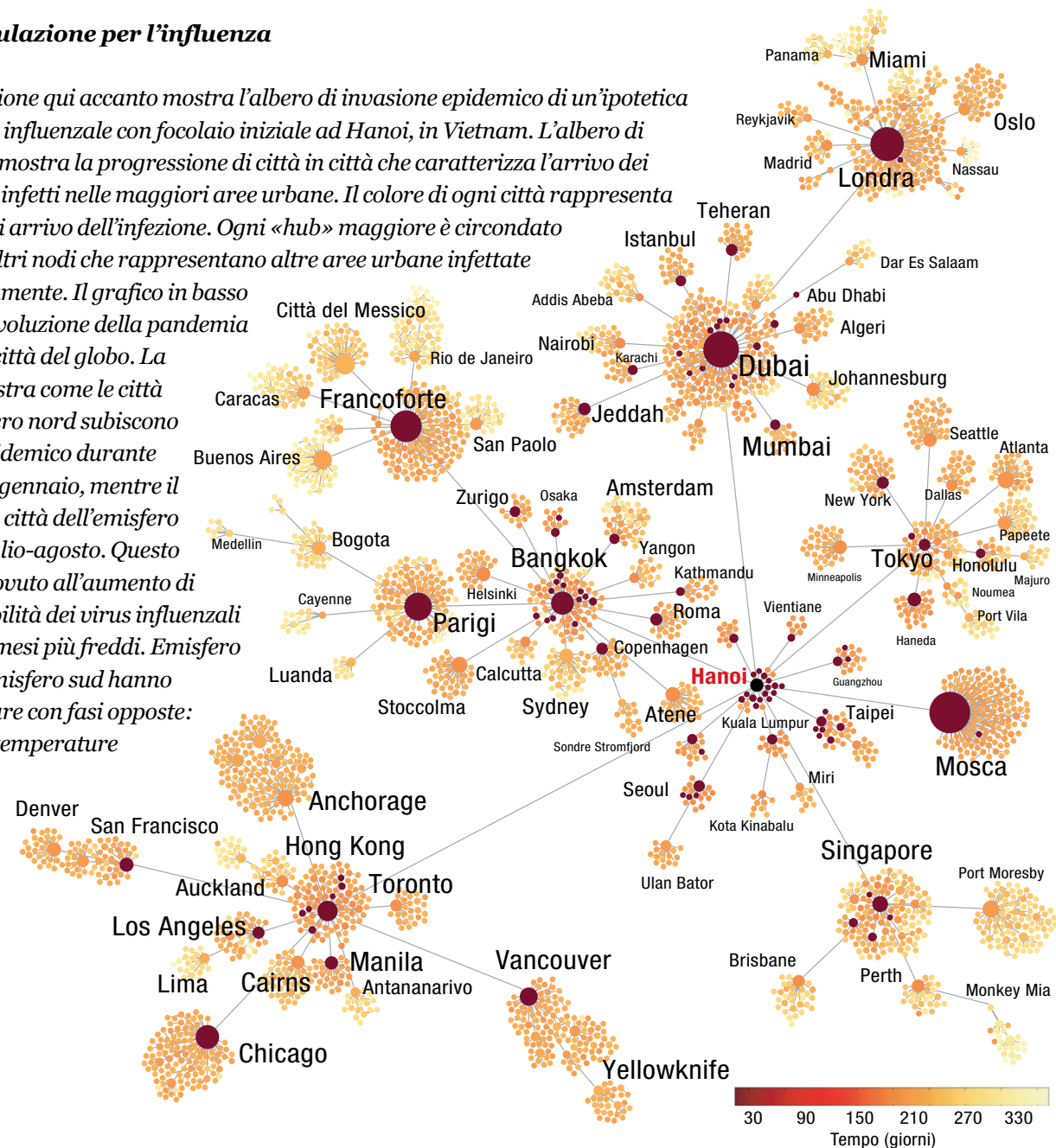
Dai dati alle previsioni

Alla base dei modelli epidemici c'è la descrizione spaziale della popolazione umana. Progetti come LandScan, sponsorizzato dalla NASA, stimano con grande precisione la popolazione mondiale fino a una risoluzione di un chilometro quadrato. Su questa griglia che descrive la posizione geografica degli individui si possono poi aggiungere dati di origine sociodemografica, identificando così il numero di individui per età e sesso.

Popolazioni sintetiche più dettagliate sono invece quelle in cui si riesce a costruire l'associazione degli individui ai nuclei familiari, ai posti di lavoro e alle scuole, ricreando così nel computer una popolazione che dal punto di vista statistico è equivalente a quella reale. Si possono poi aggiungere ulteriori elementi importanti per la descrizione

Una simulazione per l'influenza

L'illustrazione qui accanto mostra l'albero di invasione epidemico di un'ipotetica pandemia influenzale con focolaio iniziale ad Hanoi, in Vietnam. L'albero di invasione mostra la progressione di città in città che caratterizza l'arrivo dei primi casi infetti nelle maggiori aree urbane. Il colore di ogni città rappresenta il giorno di arrivo dell'infezione. Ogni «hub» maggiore è circondato da molti altri nodi che rappresentano altre aree urbane infettate successivamente. Il grafico in basso mostra l'evoluzione della pandemia in alcune città del globo. La figura illustra come le città dell'emisfero nord subiscono il picco epidemico durante dicembre-gennaio, mentre il picco delle città dell'emisfero sud è a luglio-agosto. Questo effetto è dovuto all'aumento di trasmissibilità dei virus influenzali durante i mesi più freddi. Emisfero nord ed emisfero sud hanno temperature con fasi opposte: nel sud le temperature invernali sono associate ai mesi di luglio e agosto.



epidemica, come le infrastrutture ospedaliere e il personale sanitario a disposizione della popolazione locale. Infine, la popolazione sintetica prende vita grazie all'introduzione dei dati sulla mobilità e sul trasporto che determinano i movimenti dei singoli individui.

Questo passaggio è ottenuto integrando dati che vanno

dalla mobilità aerea nazionale e internazionale fino alle dinamiche di pendolarismo su scala locale. In altre parole, viene definito un mondo sintetico che simula nel computer, su scala giornaliera, la vita di milioni o miliardi di individui, i loro movimenti e le loro interazioni (si veda il box nella pagina seguente). Tuttavia, per simulare la diffusione di un'epidemia in questo mondo sintetico non

c'è un modello unico che possa descrivere ogni singolo patogeno. Al contrario, per ogni agente patogeno (virus, batterio e altro ancora) è adottata una descrizione specifica delle fasi attraversate dagli individui durante la malattia e dei meccanismi che caratterizzano la trasmissione dell'infezione da un individuo all'altro. Per esempio: un individuo può essere infetto ma attraversare un periodo di incubazione che in media dura uno o due giorni per i virus influenzali, mentre può arrivare fino a tre settimane di incubazione per un virus come Ebola.

I parametri che caratterizzano il patogeno sono spesso inglobati in grandezze come il tasso di riproduzione o l'intervallo seriale, che specificano il numero di casi secondari generati da ogni individuo infetto, e il tempo che in media trascorre tra l'osservazione del caso primario e il caso secondario. Questi parametri caratterizzano trasmissibilità e velocità di diffusione dell'infezione e, insieme ad altri parametri epidemiologici, definiscono equazioni e algoritmi che descrivono la dinamica dell'epidemia attraverso la popolazione.

Il livello di dettaglio degli approcci può variare di molto: si va da equazioni che descrivono gli individui come semplici particelle sottoposte a una forza di infezione omogenea fino a modelli che simulano ogni singolo processo microscopico di infezione considerando i diversi tipi di interazioni tra gli individui (per esempio a scuola, al lavoro o nel nucleo familiare).

Una volta inizializzati con le condizioni di partenza appropriate dell'epidemia (numero di casi e la loro collocazione iniziale), questi modelli epidemiologici sono dati in pasto al computer, che ne calcola l'evoluzione spaziale e temporale. Le previsioni includono normalmente il quando, il dove e il quanto dell'epidemia, ovvero curve epidemiche che esprimono, in funzione del luogo e del momento, il numero di nuove infezioni, nuove ospedalizzazioni e altre quantità che descrivono il corso dell'epidemia.

Modelli così dettagliati permettono anche di avere informazioni difficili da ottenere con i dati reali, per esempio le reti di invasione dell'epidemia che mostrano, per ciascuna città, da quale altra città sia più probabile che venga importata l'infezione (si veda il box nella pagina a fronte). Queste reti permettono di prevedere le mosse dell'epidemia, e dunque di definire politiche di intervento. Per esempio, poter prevedere la sequenza delle grandi città che sono colpite da un'epidemia permette di coordinare gli sforzi internazionali, ottimizzare l'uso di vaccini e di farmaci e allertare in anticipo i sistemi sanitari dei paesi colpiti.

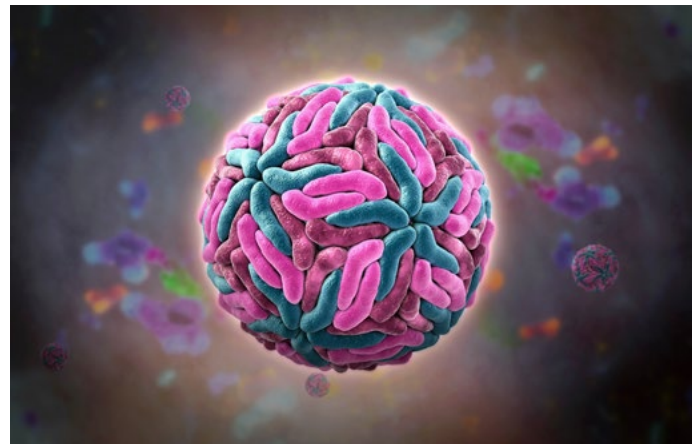


Illustrazione computerizzata del virus Zika (© SPL/AGF)

Previsioni in tempo reale

Durante le emergenze sanitarie, gli epidemiologi computazionali devono confrontarsi con i problemi del mondo reale. Inizialmente i dati che descrivono i meccanismi di trasmissione dell'infezione non sono completi. Lo stesso si può dire per il numero di casi osservati sul campo, dove la confusione che si crea durante le emergenze genera dati inconsistenti e molto spesso incompleti. Per ovviare a questi problemi i modelli devono essere calibrati tramite sofisticate analisi statistiche, basandosi spesso su ipotesi che possono essere verificate solo con analisi di sensitività dei risultati rispetto all'evidenza sperimentale che emerge dai dati.

Questo processo richiede la campionatura dei parametri e delle ipotesi del modello tramite un gran numero di simulazioni numeriche. I risultati di queste simulazioni sono confrontati con i dati disponibili per definire gli intervalli di credibilità dei parametri che determinano il modello e le sue previsioni. Questa operazione di calibrazione deve essere ripetuta via via che nuovi dati si rendono disponibili; così si riduce l'incertezza sui risultati e allo stesso tempo si rappresenta la conoscenza sempre più vasta che viene accumulata in merito ai processi che determinano la propagazione dell'epidemia.

Ovviamente la produzione di un gran numero di simulazioni diventa un problema che richiede l'uso di supercomputer e di tecniche algoritmiche in grado di fornire risultati in tempo reale. Durante la campagna di simulazione dell'epidemia di Zika in America Latina il mio gruppo ha dovuto gestire la creazione di oltre 750.000 macchine virtuali nel cloud per eseguire in tempo reale calcoli che avrebbero richiesto 110 anni su un singolo desktop di ultima generazione. L'epidemiologia computazionale diventa quindi un campo di ricerca in cui anche le scienze informatiche svolgono un ruolo primario nel risolvere i problemi di gestione dati e ottimizzazione algoritmica.

L'andamento di Zika in Sud America



Le illustrazioni mostrano il numero di casi di Zika in Sud America e nei Caraibi dall'inizio dell'epidemia fino al gennaio 2017. Le mappe mostrano la grande eterogeneità dell'incidenza di questo virus che dipende sia da fattori socioeconomici che dalla presenza

di zanzare in grado di sostenere la trasmissione dell'epidemia. Queste mappe sono state generate con un modello computazionale ad alta risoluzione (ogni punto è un chilometro quadrato) che necessita dell'uso parallelo di oltre 10.000 processori di ultima generazione

per risolvere a livello globale la dinamica dell'epidemia in oltre 10.000.000 di simulazioni che includono oltre alla popolazione umana anche la dinamica delle popolazioni di zanzare.

Oltre a permettere di lavorare con i grandi modelli, le nuove tecnologie informatiche permettono anche di accedere alla ricchezza di informazione generata da nuove fonti di dati come i social media. Per esempio il mio gruppo ha lavorato per mesi all'analisi quotidiana di oltre 800.000 post su Twitter per estrarre quelli con riferimenti a tosse e febbre in modo da inizializzare i modelli per la previsione della stagione influenzale negli Stati Uniti.

Nuove applicazioni sui dispositivi mobili permettono di creare reti di cittadini che trasmettono volontariamente il proprio stato di salute in tempo reale. Un esempio è la rete europea Influenzanet (in Italia Influweb), che permette il monitoraggio della stagione influenzale tramite 40.000 volontari in 12 paesi europei. In altre parole, l'arsenale disponibile nella continua battaglia contro le epidemie si è arricchito di una moltitudine di approcci e tecnologie che definiscono la cosiddetta epidemiologia digitale.

I dati di Influenzanet per esempio sono parte del rapporto epidemiologico settimanale sulla sorveglianza integrata

dell'influenza dell'Istituto superiore di Sanità in Italia, e dal 2012 il Center for Disease Control (CDC) degli Stati Uniti raccoglie le previsioni di una dozzina di modelli computazionali per la previsione influenzale in una challenge pubblica. L'approccio digitale rafforza quindi i classici sistemi di sorveglianza di salute pubblica, fornendo dati complementari e in tempo reale che possono essere usati nei sistemi di epidemiologia predittiva di ultima generazione.

Oltre le previsioni

I successi, e talvolta gli insuccessi, dei modelli previsionali epidemici sono stati spesso oggetto dell'attenzione dei mezzi di comunicazione e del pubblico.

In situazioni di crisi come l'epidemia di Ebola del 2014 era ovvio che tutti i modelli e i loro risultati fossero costantemente esaminati rispetto all'evoluzione successiva dell'epidemia dalle maggiori istituzioni sanitarie, come Organizzazione mondiale della Sanità, CDC e Centro europeo per la prevenzione e il controllo delle malattie.



Esemplare di *Aedes aegypti* (© SPL/AGF)

Durante l'epidemia non tutte le previsioni iniziali sono state accurate. In particolare alcune proiezioni che stimavano il numero di casi molti mesi in anticipo hanno prodotto una notevole sovrastima di quello che si è poi avverato nella realtà. I modelli di altri gruppi di ricerca, tra i quali anche il nostro, sono stati più accurati, e sono arrivati molto vicini al numero di casi reali di oltre 28.000 contagi e 11.000 decessi. Come nel caso delle previsioni meteorologiche, la discussione riguardo all'evoluzione dell'epidemia deve considerare l'uso di un insieme di modelli, sviluppati con tecniche differenti da una pluralità di gruppi di ricerca, che sono pesati rispetto alle loro prestazioni storiche. Questo approccio permette di definire il cosiddetto «cono di incertezza», ovvero l'errore statistico associato alle previsioni, che ovviamente cresce con l'aumentare dell'orizzonte temporale considerato.

L'importanza dei modelli computazionali in campo epidemiologico va ben oltre la semplice predizione del numero di casi di una malattia tra una o due settimane. Più in generale, i modelli predittivi forniscono scenari e analisi quantitative che sostengono e informano la pianificazione degli interventi e delle decisioni in materia di salute pubblica. Per esempio, i modelli possono simulare misure di contenimento basate sulla restrizione della mobilità degli individui. Può essere studiato come varia il numero di individui infetti importati in una nazione a fronte della riduzione di viaggiatori provenienti dalle destinazioni colpite dall'epidemia. Ciò permette di analizzare i benefici e i costi delle politiche per la riduzione dei voli o la chiusura delle frontiere come è successo durante l'epidemia di Ebola.

Possiamo analizzare diversi scenari per la distribuzione di vaccini o medicinali, o la chiusura di scuole e posti di lavoro per rallentare la diffusione del contagio. Tutti questi scenari possono essere studiati solo al computer, dato che la loro realizzazione reale non solo ha costi enormi ma anche effetti non reversibili.

Inoltre, spesso le simulazioni al computer portano a risultati non intuitivi che difficilmente possono essere derivati da analisi non quantitative. La dinamica non lineare dei sistemi epidemiologici non è sempre trasparente, e un qualunque cambiamento nei termini delle equazioni che descrivono la trasmissione non si riflette proporzionalmente nei risultati ottenuti.

Un esempio classico è offerto dalla restrizione della mobilità degli individui che produce effetti limitati nel contenimento delle epidemie anche a fronte di riduzioni drastiche di oltre il 50 per cento dei flussi di traffico aereo nazionale e internazionale. Nelle simulazioni si osserva che questo tipo di riduzione porta a ritardi nella diffusione epidemica di solo poche settimane a fronte di un costo economico praticamente insostenibile per le compagnie aeree mondiali, e con effetti domino in altri comparti economici. Basta pensare che la Banca Mondiale ha stimato in 2,2 miliardi di dollari la perdita totale nel 2015 per i paesi colpiti dall'epidemia di Ebola. Questa analisi è stata importante anche nel discutere le politiche di controllo delle frontiere durante la crisi, quando molti paesi pensavano a un isolamento internazionale per le regioni colpite dall'epidemia.

Un altro esempio dell'importanza delle simulazioni è rappresentato dalle situazioni in cui è impossibile acquisire i dati sperimentali sul campo. Come nel caso di Zika, un virus trasmesso da persona a persona tramite la puntura di zanzare *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (zanzara tigre). Questo virus è conosciuto fin dagli anni cinquanta, ed è endemico in alcune regioni di Africa e Asia. Solo nel 2015 nel nord del Brasile si è notato un incremento anomalo dei casi di microcefalia, messa in relazione con l'infezione da Zika in donne in stato di gravidanza. Nel febbraio 2016 l'Organizzazione mondiale della Sanità ha dichiarato un'urgenza di sanità pubblica di portata internazionale, dato che il virus non era mai stato osservato in America Latina. Da quel momento la marcia di Zika attraverso Sud America, Caraibi e infine Stati Uniti è registrata dai servizi di controllo sanitari che cominciano a individuare pazienti infetti tramite la positività sierologica agli anticorpi specifici.

Ma prima della seconda metà del 2015 la storia di Zika in America Latina rimane pressoché sconosciuta, dato che nessun istituto di sanità aveva eseguito analisi specifiche. I modelli diventano allora l'unico modo per aprire una finestra sul passato del virus. In questo caso i modelli devono non solo considerare i dati relativi alla popolazione e alla sua mobilità, ma anche i dati relativi ad abbondanza di zanzare, clima, cambiamenti di temperatura durante l'anno e a tutti i fattori che possono determinare la

trasmissione del virus dall'essere umano alle zanzare e viceversa. Per esempio, i dati emersi dalle analisi del nostro gruppo con un modello che ha simulato la diffusione dell'epidemia in America Latina hanno sorprendentemente indicato che l'introduzione di Zika in Brasile è avvenuta al più tardi nei primi mesi del 2014, ovvero quasi due anni prima della grande ondata di casi osservata nel 2016.

In questo caso i modelli sono uno strumento per ricreare l'evoluzione dell'epidemia e potenzialmente risolvere i molti puzzle relativi all'impatto passato dell'epidemia in altre regioni dell'America Latina (si veda il box nella pagina precedente).

La battaglia contro la prossima pandemia

Negli ultimi decenni abbiamo assistito a molte importanti pietre miliari della storia della medicina, come l'introduzione degli antibiotici, l'eliminazione del vaiolo e la quasi totale eliminazione della poliomielite.

Queste vittorie ci hanno fatto credere di essere vicini alla sconfitta delle malattie infettive una volta per tutte. Purtroppo gli ultimi anni sono stati una doccia fredda. Eventi come la pandemia influenzale del 2009, responsabile di oltre 280.000 morti nel mondo, l'epidemia di Ebola in Africa occidentale nel 2014 con oltre 11.000 morti e l'epidemia di Zika responsabile di milioni di infezioni in America Latina nel 2016 ci hanno dimostrato quanto la nostra società sia fragile rispetto alla minaccia di virus e batteri. Viviamo in un mondo sempre più interconnesso e interdipendente, in cui le epidemie si diffondono usando i grandi hub aeroportuali del mondo. Una nuova epidemia in una remota zona dell'Africa diventa una minaccia globale dall'impatto potenzialmente devastante.

In questo panorama i modelli numerici che descrivono la diffusione epidemica hanno avuto un ruolo sempre più attivo durante varie crisi internazionali. Dobbiamo però essere consapevoli dei molteplici limiti teorici e tecnologici che devono ancora essere superati. Per esempio, mentre gli uragani non si preoccupano delle nostre previsioni, le persone cambiano il loro comportamento in base alla consapevolezza e alla conoscenza dei rischi posti da un'epidemia. La modellizzazione in tempo reale del ciclo di feedback tra progressione della malattia e adattamento comportamentale dei sistemi sociali è ancora un problema importante, che influisce sul potere predittivo dei modelli.

Un altro problema è l'assenza di una comprensione sistematica delle prestazioni predittive di diversi tipi di modelli. In che modo la precisione della previsione si basa sulla complessità dei modelli? Come influisce la qualità

dei dati sull'affidabilità o sulla precisione, ovvero sugli intervalli di confidenza, dei modelli predittivi epidemici? Queste e molte altre domande fondamentali sono ancora oggetto di ricerca da parte di gruppi di diversi paesi del mondo che cercano di far avanzare questo settore verso nuovi obiettivi di affidabilità e precisione.

In questo panorama, c'è urgente bisogno di sviluppare le collaborazioni e le iniziative scientifiche necessarie per promuovere l'epidemiologia computazionale. Non si tratta di se ma di quando. Combatteremo di sicuro un'altra battaglia contro una pandemia, e questa è una chiamata alle armi che dovrebbe riunire l'intero mondo della ricerca, nonché la società civile.

L'autore

Alessandro Vespignani è professore alla Northeastern University di Boston, dove dirige il Network Science Institute e il Laboratory for the Modeling of Biological and Socio-Technical Systems. Vespignani è membro eletto dell'Accademia d'Europa e fellow dell'American Physical Society. Di recente la sua attività di ricerca si è concentrata su modellizzazione computazionale della diffusione delle malattie infettive e studio delle reti tecnologiche e sociali.

www.lescienze.it, n. 595, marzo 2018