

Influenza A H1N1: dal virus alla pandemia

Il virus dell'influenza

Il genoma del virus influenzale di tipo A è costituito da 8 segmenti di RNA a singola elica negativa che codificano 11 proteine, tra cui le glicoproteine di superficie emoagglutinina (H) e neuraminidasi (N) (tabella I e figura 1). Queste due proteine sono determinanti per l'infezione delle cellule bersaglio in quanto essenziali, rispettivamente, per l'adesione del virus al recettore cellulare e per il suo rilascio, una volta completato il processo di replicazione. Esse hanno efficaci proprietà antigeniche e la risposta anticorpale evocata dall'H è capace di prevenire l'infezione, mentre quella rivolta contro la N riduce, indipendentemente, la replicazione virale. I virus influenzali patogeni per l'uomo sono distinti nei tipi A, B e C sulla base delle caratteristiche antigeniche delle proteine del nucleocapside e della matrice, mentre gli antigeni di superficie (H e N) permettono di suddividere ulteriormente i virus di tipo A in sottotipi. Ogni virus dell'influenza ha un gene (HA, segmento 4) che codifica per 1 delle 16 possibili emoagglutinine ed un altro (NA, segmento 6) che codifica per 1 delle 9 possibili neuraminidasi. Solo i sottotipi H1, H2, H3, N1 e N2 – accoppiati soltanto in tre (H1N1, H2N2 e H3N2) delle 144 possibili combinazioni ($16H \times 9N = 144HN$) –

Tabella I. I geni del virus A e le proteine da essi codificate.

Segmento	Gene	Proteina
1	PB2	Proteina PB2*
2	PB1 PB1-F2	Polimerasi 1* Proteina PB1-F2*
3	PA	Polimerasi PA*
4	HA	Emoagglutinina
5	NP	Proteina nucleocapsidica
6	NA	Neuraminidasi
7	M2 M1	Proteina 2 della matrice (M2) Proteina 1 della matrice (M1)
8	NS1 NS2	Proteina non-strutturale NS1 Proteina non-strutturale NS2

*sub-unità della RNA polimerasi RNA-dipendente.

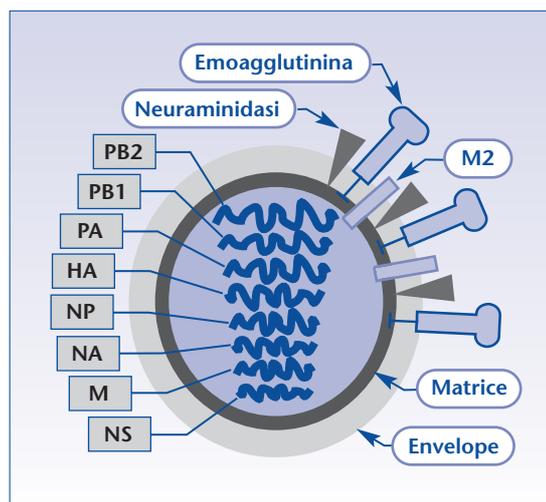


Figura 1. Struttura del virus A: ogni virione è composto (a) dal nucleocapside, che contiene i segmenti di RNA, l'RNA polimerasi RNA-dipendente e le nucleoproteine; esso è circondato (b) dalla matrice, formata dall'assemblaggio dei monomeri di proteina M1; la matrice, a sua volta, è avvolta da (c) un involucro di rivestimento (*envelope*), derivato dalla membrana citoplasmatica della cellula ospite, che ingloba le glicoproteine di superficie emoagglutinina e neuraminidasi e la proteina M2.

sono stati però trovati nei virus realmente adattati all'uomo e in grado, quindi, di causare epidemie stagionali o pandemie. Ciò indica che questi sottotipi possiedono caratteristiche essenziali per l'adattamento all'ospite-uomo e la loro particolare associazione rappresenta un notevole limite nella selezione dei ceppi patogeni. L'infettività esige infatti un genoma completo e geni compatibili non solo con l'ospite ma anche, reciprocamente, tra di loro (interazione epistatica); un requisito, questo, che sembra particolarmente difficile da realizzare, nonostante l'enormità dei numeri in gioco¹⁻³.

Un tipo mutevole

Solo una parte dei prodotti del processo di replicazione e assemblaggio è formato da virus infettanti; molti sono i virioni incompleti o con genomi non funzionanti e, nei virus a RNA come quello influenzale, a questo contribuisce la minore efficienza della RNA-polimerasi rispetto alla DNA-polimerasi⁴. Le frequenti variazioni del materiale genetico che si verificano nel ciclo riproduttivo dei virus in-

fluenzali possono però, raramente, conferire alla progenie un vantaggio selettivo. È il caso, ad esempio, dei cambiamenti che provocano un incremento della virulenza, come le mutazioni del gene PB2, che aumentano l'attività della RNA-polimerasi e quindi la velocità di replicazione². Altri, invece, influiscono sulla diffusibilità, in particolare se riguardano i geni (HA e NA) che codificano le proteine di superficie principalmente coinvolte nell'induzione della risposta da parte del sistema immunitario (SI) dell'ospite. In tal caso, il virus modificato può risultare parzialmente o completamente sconosciuto per il SI dei soggetti che non hanno mai avuto contatti con virus antigenicamente simili. Ne deriva che quote più o meno grandi, o anche la totalità, della popolazione mondiale divengono così suscettibili all'infezione provocata dal nuovo virus⁵⁻⁷.

Le variazioni di entità minore, chiamate *antigenic drift* (deriva antigenica), sono dovute a mutazioni puntiformi che interessano più frequentemente le cinque regioni ipervariabili del gene HA. Esse si verificano normalmente nei virus che circolano nei periodi interpandemici e, pur non modificandone in modo rilevante la patogenicità o la contagiosità, possono influenzare la gravità dell'epidemia stagionale; infatti, specialmente quando sono a carico dei siti antigenici maggiori, le mutazioni possono rendere irriconoscibile la molecola di H, del tutto o in parte, anche per il SI dei soggetti già immunizzati in precedenza, per aver contratto l'infezione con quel virus o per aver ricevuto il vaccino specifico^{1,6}.

Le variazioni maggiori, dette *antigenic shift* (spostamento antigenico), hanno invece importanti conseguenze sul piano clinico ed epidemiologico, potendo anche determinare una pandemia, e sono esclusive dei virus di tipo A. I meccanismi che danno origine ad un nuovo virus con potenzialità pandemiche sono almeno due: il riassortimento genetico tra un virus influenzale umano e uno animale – reso possibile dalla segmentazione del genoma, che consente lo scambio di materiale genetico in caso di coinfezione di uno stesso individuo da parte di due virus differenti – oppure l'adattamento di un virus animale all'uomo^{1,6,8}.

Per meglio comprendere questi fenomeni, come efficacemente suggerito da Morens, Taubenberger e Fauci, può essere utile immaginare il virus influenzale non come una entità distinta ma, piuttosto, come una "squadra di geni" che lavorano insieme e che, a volte, per raggiungere il loro scopo, devono sostituire uno o più "giocatori" con altri dotati di capacità uniche. Il virus dell'influenza sembra così esistere solo come fase transitoria di un complesso di 8 geni che continuamente si assortiscono in modo promiscuo, se non casuale, nell'enorme serbatoio dell'influenza aviaria globale. Negli uccelli, il virus è stabilmente adattato al tratto enterico di centinaia di specie, i cui singoli membri

sono spesso simultaneamente infettati da molteplici virus impegnati in un prolifico riassortimento genetico, che si riproduce senza interruzione e genera una varietà apparentemente infinita di nuovi virus³.

È da questo vaso di Pandora che nel 1918 è emerso un ceppo che ha segnato la storia recente dell'umanità.

Una Spagnola eccezionale

Gli studi condotti su campioni risalenti all'epoca della "Spagnola" hanno dimostrato che il virus H1N1 del 1918 non è originato da un riassortimento tra virus umani e animali^{9,10}. Tutti gli 8 segmenti genetici sono derivati da un virus aviario che, compiendo un "salto di specie", si è adattato all'uomo acquisendo anche una eccezionale capacità di trasmettersi da persona a persona*. Indagini su colture tessutali ed esperimenti su topi hanno inoltre rivelato almeno altre due caratteristiche singolari: la possibilità di replicarsi in assenza di una proteasi, che è invece normalmente richiesta per attivare l'emoagglutinina e innescare l'infezione dei tessuti in coltura, e la letalità nel topo 100 volte superiore a quella di qualsiasi altro virus dell'influenza umana. Queste peculiarità contribuiscono a spiegare la straordinaria gravità della prima grande pandemia del secolo scorso^{8,9,11}.

La possibilità di infrangere la barriera naturale che separa le specie dipende da tre ordini di fattori: i contatti tra specie donatrice e ricevente, le interazioni virus-ospite negli individui della specie ricevente e quelle tra i singoli membri all'interno di essa. Ciascuno richiede la concatenazione di una quantità di eventi che dipendono da meccanismi complessi che sono solo parzialmente conosciuti, quali: quelli che regolano l'ingresso del virus nella cellula, che sono governati da recettori specifici (ad esempio, l'H dei virus aviari si lega prevalentemente all'acido sialico [AS] con terminazione 2,3-Gal, mentre quella dei virus umani all'AS 2,6-Gal-terminale presente nelle prime vie aeree; alcuni rari casi fatali di polmonite sono stati attribuiti alla capacità del virus di origine aviaria [H5N1] di legarsi alle cellule delle basse vie aeree, che recano l'AS 2,3-Gal-terminale); o i meccanismi delle varie fasi della replicazione virale, che utilizzando strutture e processi intracellulari della specie ospite sono specificamente adattati e dipendenti da essi (ad esempio, alcuni virus aviari riescono a penetrare nelle cellule murine ma non a replicarsi; probabilmente a causa delle differenze esistenti nel residuo aminoacidico 627 della proteina PB2 polimerasica: acido glutammico nei virus aviari e lisina in quelli dei mammiferi); o, ancora, quelli di rilascio del virus, anch'essi dipendenti dall'interazione tra N e recettori specifici; o, infine, i meccanismi correlati all'immunità (aspecifica-specifica) propria della specie ospite o al differente tro-

pismo tessutale dei virus parassiti delle varie specie, diversità che condizionano e rendono particolari e diseguali anche le modalità di trasmissione dell'infezione (ad esempio, attraverso l'aerosol respiratorio piuttosto che per mezzo delle deiezioni enteriche)⁵.

Tutto ciò risulterebbe però senza effetto se non si realizzassero le condizioni spaziali e temporali necessarie al contagio, ovvero: un contatto tra individui delle specie donatrice e ricevente idoneo a consentire l'esposizione del nuovo ospite ad una carica infettante adeguata (dell'ordine di migliaia di virioni); e lo svolgersi dell'evento nell'arco di tempo in cui le mutazioni vantaggiose per il parassitismo del nuovo ospite, selezionate dal caso, ancora non risultano tanto deleterie nella specie donatrice da condurre il virus all'estinzione. Perché possa verificarsi una epidemia, o addirittura una pandemia, è poi ancora indispensabile che il virus riesca a trasmettersi in modo efficace da un individuo all'altro della specie ricevente ($R_0 > 1$)^{5,12,13}.

Questo aiuta a capire quanto la concretizzazione di tali evenienze sia improbabile e quanto eccezionale sia stato l'emergere del ceppo pandemico del 1918. Da allora, pur essendosi verificati casi isolati di trasmissione di virus aviari all'uomo e limitati episodi di passaggio dell'infezione da uomo a uomo, non si è mai più completata la catena di condizioni richieste per la diffusione generalizzata di un virus aviario nella popolazione umana¹⁴.

Il virus H1N1 del 1918, per di più, è stato all'epoca protagonista di un altro fenomeno anomalo: contemporaneamente alla pandemia umana esso ha cominciato a circolare e si è diffuso anche tra i maiali. Questa specie era in precedenza indenne dall'influenza¹⁵.

Le altre

Generalmente non viene enfatizzato che le normali epidemie stagionali e le rare pandemie occorse negli ultimi 91 anni, compresa quella attuale, sono state causate da virus influenzali che sono la progenie di quel lontano virus del 1918; ma, in effetti, quella "squadra" ha continuato la sua attività, anche se con differenti modalità: la prima pandemia è stata causata dall'adattamento diretto di un virus aviario all'uomo, quelle successive sono invece conseguenza del riassortimento genetico tra virus umani e animali (figura 2)^{3,8,15}.

Il virus della Spagnola continuò a circolare, inducendo una immunità specifica in crescenti porzioni della popolazione, fino al 1957, quando fu soppiantato dalla pressione

selettiva esercitata da un nuovo virus, suo discendente, frutto del riassortimento con un virus aviario donatore di 3 segmenti genetici: PB1, HA (sottotipo H2) e NA (sottotipo N2). Questo virus H2N2 fu causa della pandemia "Asiatica". L'estinzione naturale del virus H1N1 del 1918 non fu però definitiva. Nel 1977 emerse nuovamente, probabilmente in conseguenza di un incidente di laboratorio, colpendo soprattutto i soggetti più giovani, nati successivamente alla sua scomparsa¹⁵. Da allora ha continuato a circolare ininterrottamente fino ad oggi, ed è uno dei due tipi di virus A che provocano le normali epidemie stagionali. L'altro deriva dall'ulteriore riassortimento verificatosi nel 1968 tra il virus H2N2 del 1957 e un virus aviario, donatore di 2 segmenti genetici: PB1 e HA (sottotipo H3). Il nuovo virus H3N2 provocò la pandemia "Hong Kong"^{3,8,15}.

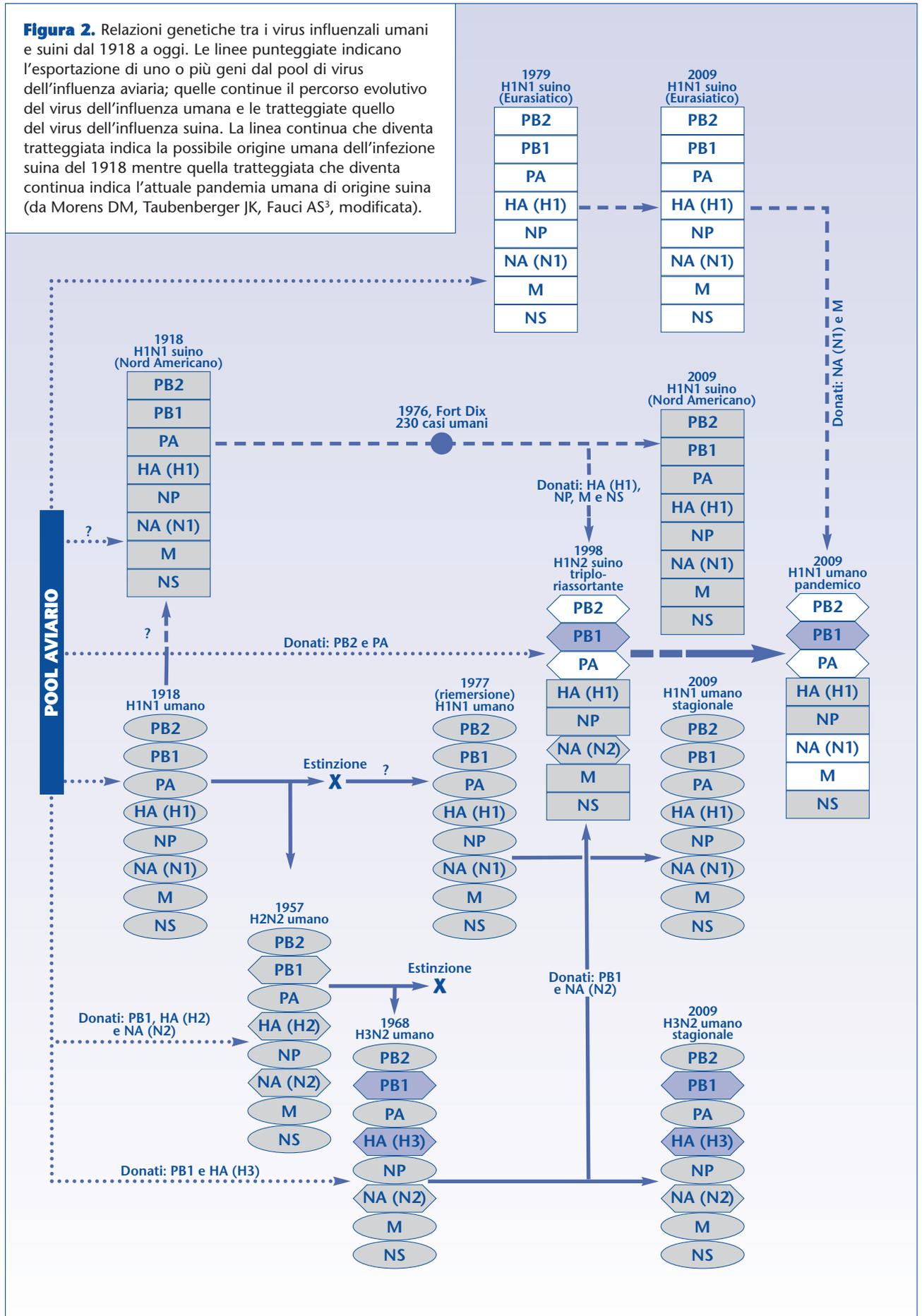
La diffusione di ogni virus pandemico porta all'estinzione di quello precedentemente circolante; così è accaduto nel 1957 e nel 1968. La successiva liberazione accidentale del virus H1N1 ha tuttavia alterato questo andamento naturale determinando, per la prima volta nella storia conosciuta dell'influenza, la contemporanea presenza di due diversi sottotipi durante le epidemie stagionali interpandemiche¹⁵.

Parallelamente al percorso compiuto nella specie umana, il virus H1N1 del 1918 è sopravvissuto anche nei suini, agguinandosi ai virus aviari nel determinare i rari casi di trasmissione non diffusiva di virus influenzali animali all'uomo¹⁷; l'episodio più rilevante, quello di Fort Dix del 1976, causò 230 casi e 1 decesso¹⁸. La diffusione tra i maiali restò confinata al continente americano fino al 1976, quando un'improvvisa importazione dagli Stati Uniti all'Italia introdusse il virus in Europa. Pochi anni dopo, i suini europei e asiatici furono contagiati da un nuovo H1N1 aviario, trasmesso dalle anatre selvatiche, che rapidamente ha rimpiazzato il virus nordamericano. Nel 1998, infine, tra i virus suini del Nord America, si è verificato il cambiamento che ha creato le premesse per l'attuale pandemia. Un triplo riassortimento tra il classico virus suino nordamericano, discendente diretto dell'H1N1 del 1918, che ha donato 4 segmenti (HA sottotipo H1, NP, M e NS), un virus aviario, che ha donato 2 segmenti (PB2 e PA), e l'H3N2 umano che ha donato 2 segmenti (PB1 e NA sottotipo N2). L'ulteriore riassortimento tra il virus suino triplo-riassortante (H1N2) e il virus suino eurasiatico, che ha donato 2 segmenti (NA sottotipo N1 e M), ha generato, infine, il virus pandemico umano H1N1 del 2009¹⁹⁻²¹.

La pandemia dei nostri giorni, dunque, è solo l'ultimo dei lasciti del terribile virus H1N1 del 1918, con il quale dobbiamo continuare a fare i conti: *"Understanding influenza pandemics in general requires understanding the 1918 pandemic in all its historical, epidemiologic, and biologic aspects"*¹¹. **bif**

* Il coefficiente di riproduzione di base (R_0) è definito come il numero di contagi causati da un soggetto infetto introdotto in una popolazione completamente suscettibile; quindi, una infezione diffonde efficacemente solo se $R_0 > 1$. Il valore di R_0 calcolato per il virus H1N1 del 1918 è pari a 2-3, mentre quello dei virus epidemici o pandemici varia normalmente tra 1,8 e 2,0^{15,16}.

Figura 2. Relazioni genetiche tra i virus influenzali umani e suini dal 1918 a oggi. Le linee punteggiate indicano l'esportazione di uno o più geni dal pool di virus dell'influenza aviaria; quelle continue il percorso evolutivo del virus dell'influenza umana e le tratteggiate quello del virus dell'influenza suina. La linea continua che diventa tratteggiata indica la possibile origine umana dell'infezione suina del 1918 mentre quella tratteggiata che diventa continua indica l'attuale pandemia umana di origine suina (da Morens DM, Taubenberger JK, Fauci AS³, modificata).



Bibliografia

1. Dolin R. Influenza. In: Fauci AS, Kasper DL, Longo DL, et al., eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th Ed. New York: McGraw-Hill, 2008.
2. The National Center for Biotechnology Information (NCBI). Influenza virus biology. www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/flubiology.html (accesso verificato il 03/09/2009).
3. Morens DM, Taubenberger JK, Fauci AS. The persistent legacy of the 1918 influenza virus. *N Engl J Med* 2009; 361: 225-9.
4. Wang F, Kieff E. Medical Virology. In: Fauci AS, Kasper DL, Longo DL, et al., eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th Ed. New York: McGraw-Hill, 2008.
5. Kuiken T, Holmes EC, McCauley J, et al. Host species barriers to influenza virus infections. *Science* 2006; 312: 394-7.
6. Rambaut A, Pybus OG, Nelson MI, et al. The genomic and epidemiological dynamics of human influenza A virus. *Nature* 2008; 453: 615-9.
7. Domingo E, Holland JJ. RNA virus mutations and fitness for survival. *Annu Rev Microbiol* 1997; 51: 151-78.
8. Belshe RB. The origins of pandemic influenza. Lessons from the 1918 Virus. *N Engl J Med* 2005; 353: 2209-11.
9. Taubenberger JK, Reid AH, Lourens RM, et al. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature* 2005; 437: 889-93.
10. Tumpey TM, Basler CE, Aguilar PV, et al. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science* 2005; 310: 77-80.
11. Taubenberger JK, Morens DM. 1918 influenza: the mother of all pandemics. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 15-22.
12. Antia R, Regoes RR, Koella JC, et al. The role of evolution in the emergence of infectious diseases. *Nature* 2003; 426: 658-61.
13. Parrish CR, Holmes EC, Morens DM, et al. Cross-species virus transmission and the emergence of new epidemic diseases. *Microbiol Mol Biol Rev* 2008; 72: 457-70.
14. World Health Organization. Avian influenza ("bird flu") Fact sheet. www.who.int/mediacentre/factsheets/avian_influenza/en/index.html (accesso verificato il 03/09/2009).
15. Mills CE, Robins JM, Lipsitch M. Transmissibility of 1918 pandemic influenza. *Nature* 2004; 432: 904-6.
16. Zimmer SM, Burke DS. Historical perspective. Emergence of influenza A (H1N1) viruses. *N Engl J Med* 2009; 361: 279-85.
17. Myers KP, Olsen CW, Gray GC. Cases of swine influenza in humans: a review of the literature. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 1084-8.
18. Gaydos JC, Top FH Jr, Hodder RA, et al. Swine influenza A outbreak, Fort Dix, New Jersey, 1976. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 23-8.
19. Shinde V, Bridges CB, Uyeki TM, et al. Triple-reassortant swine influenza A (H1) in humans in the United States, 2005-2009. *N Engl J Med* 2009; 360: 2616-25.
20. Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med* 2009; 360: 2605-15.
21. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Swine influenza A (H1N1) infection in two children. Southern California, March-April 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009; 58: 400-2.