Finalmente abbiamo una pandemia influenzale: come affrontarla?

Ferdinando Dianzani

Università di Roma "La Sapienza"

Molti si meraviglieranno per questo "finalmente" nel titolo. Non è solo dovuto al fatto che la aspettavamo da circa vent'anni (l'ultima, da H3N2, si è verificata circa 40 anni fa, rispetto ai 20 previsti dai "modellisti"). Però il vero motivo è che, se un evento nocivo è ineluttabile, e vedremo perché questo lo è, la migliore speranza è che si verifichi in un momento favorevole, e questo sembra esserlo. Ma vediamo perché. Occorre tuttavia fare alcune premesse.

I virus, parassiti endocellulari obbligati che non possono vivere al di fuori del proprio ospite, tendono ad assumere strategie evolutive che assicurino, per la propria sopravvivenza, anche quella dell'ospite. Per i virus a DNA, che hanno la possibilità di integrare il loro genoma in quello dell'ospite, la forma di evoluzione forse più avanzata è quella che consente di stabilire infezioni latenti che assicurino loro la sopravvivenza e, con ricorrenti riattivazioni, la possibilità di infettare nuovi individui per tutta la durata della vita dell'ospite.

I virus ad RNA, salvo i Retrovirus che possiedono una trascrittasi inversa, non possono seguire questa strada ed affidano quindi la conquista della loro sfera ecologica a meccanismi che consentano loro di stabilire nell'ospite una interazione che non lo danneggi sensibilmente e di evadere al tempo stesso le sue difese immunitarie. Questo processo di adattamento, che si basa su una elevatissima frequenza di mutazione e su una energica attività replicativa, e quindi ad una rapida selezione del mutante con le caratteristiche più vantaggiose, si esprime nella forma più esaltata nei virus influenzali degli uccelli migratori acquatici, e in particolare nell'anatra selvatica, animale nel quale i virus influenzali hanno mostrato una stasi evolutiva che non ha comportato sostanziali cambiamenti almeno negli ultimi 60 anni. Questo adattamento ottimale è sublimato, oltre che dalla assoluta mancanza di patogenicità, anche dalla assunzione della capacità di replicazione nell'apparato enterico che assicura, in questi animali acquatici, una più facile trasmissione rispetto a quella per via respiratoria. Caratteristica dei virus influenzali dei mammiferi è anche una sorta di mimetismo verso il sistema immunitario dell'ospite che pone il virus nella possibilità di reinfettare più volte il medesimo individuo evitando così l'esaurimento degli ospiti sensibili. Ciò è reso possibile da un lato dal compimento del ciclo replicativo in un distretto dell'organismo in cui prevalgono anticorpi della classe IgA, meno persistenti e con risposte secondarie più lente; dall'altro dalla continua selezione di varianti virali in cui mutazioni puntiformi le rendano meno aggredibili, per difetto di affinità ed avidità, da parte degli anticorpi preesistenti.

Occorre tuttavia tenere presente che il processo di adattamento del virus al proprio ospite, e che assicuri la sopravvivenza di entrambi, può richiedere tempi più o meno lunghi, a seconda della pressione di selezione dei mutanti più attenuati, ma che non è comunque operativo quando un virus adattato ad un ospite si trovi casualmente a infettarne un altro di una specie differente, operando quello che viene comunemente chiamato "salto di specie". In questi casi è infatti possibile che il virus, trovandosi in un ambiente completamente nuovo, possa esternare tutto il suo vigore replicativo e provocare gravi danni all'ospite, ed è esattamente ciò che in genere accade quando i virus influenzali passano dall'anatra al pollo. Per meglio chiarire questo concetto occorre tenere presente che molti virus, la cui sopravvivenza è legata alla facilità con cui vengono trasmessi da un individuo ad un altro, non possono rinunciare ad una efficiente attività replicativa, ma non possono nemmeno permettersi che questa crei troppi danni nell'ospite perché ciò potrebbe interrompere la catena di trasmissione. Pertanto l'attenuazione avviene in generale con la acquisizione di una maggiore sensibilità ai meccanismi difensivi dell'ospite, particolarmente a quelli aspecifici, come la febbre, l'infiammazione e la produzione di interferon e di altre citochine, che svolgono nell'organismo ospite una funzione analoga a quella che le sbarre di grafite svolgevano nella pila atomica di Fermi: controllare la reazione a catena senza interrompere il flusso di energia. Tuttavia a lungo termine i rapporti del virus con le difese immunitarie specifiche, in particolare gli

anticorpi, possono diventare problematici. Abbiamo infatti visto come nell'uomo il virus influenzale si assicuri la possibilità di reinfettare periodicamente il medesimo soggetto attraverso il progressivo accumulo di mutazioni puntiformi che gli permettano di evadere le azioni degli anticorpi preesistenti, ma è ovvio che ciò non può proseguire all'infinito ed arriva fatalmente il momento in cui il virus può incontrare serie difficoltà a trovare ospiti sensibili. A questo punto, però con alcuni virus, e in particolare con gli influenzali, possono intervenire altre strategie adattative, la più importante delle quali è quella di rinnovare periodicamente il corredo antigenico di superficie per ricombinazione con virus influenzali da altre specie animali. Ma per comprendere meglio questi meccanismi conviene addentrarci un po' sulle caratteristiche strutturali, biologiche ed epidemiologiche di questi virus.

Caratteristiche biologiche ed epidemiologiche dei virus influenzali

Gli ortomixovirus, cui appartengono i virus influenzali, sono dotati di un involucro pericapsidico sferoidale costituito da un mantello fosfolipidico in cui sono inserite glicoproteine virali e glico-e-lipoproteine derivate dalla membrana citoplasmatica della cellula ospite. Le glicoproteine virali sono contrassegnate con le sigle H ed N, acronimi rispettivamente di Emagglutinina e Neuraminidasi. La prima costituisce la struttura con cui il virus si ancora sull'acido sialico della membrana citoplasmatica della cellula ospite, iniziando così l'infezione, e svolge inoltre una importante funzione nella liberazione del genoma virale nel citoplasma. La seconda è un enzima capace di risolvere il legame tra emagglutinina e acido sialico ed ha una funzione importante nell'impedire che il virus rimanga intrappolato nell'acido sialico che si trova nel muco che tappezza le vie respiratorie. Svolge inoltre un ruolo essenziale nel rilasciare le particelle virali dai grumi che si possono formare durante la liberazione dei virioni di progenie dalla membrana citoplasmatica della cellula infetta. La faccia interna dell'involucro è formata da due proteine, M1 e M2, la prima delle quali funge da supporto per i fosfolipidi dell'involucro e la seconda, che è una pompa ionica, crea le condizioni per la liberazione del genoma virale nella cellula. Questo è costituito da otto segmenti separati di RNA a polarità negativa che codificano le dieci proteine virali note. Ai fini dell'infezione dell'ospite, risultano fondamentali le proteine H, N ed M2. La efficienza della replicazione è invece una funzione delle proteine PB1, PB2, PA, che formano il complesso della RNA trascrittasi virale, e NS1 ed NS2, che favoriscono il trasporto dell'RNA virale dal nucleo al citoplasma, bloccano la sintesi proteica della cellula ed inibiscono l'azione dell'interferon.

È stato dimostrato che alcune mutazioni a carico di H, PB2 e NS1, sono collegate da un aumento significativo della virulenza. In particolare, nella maggior parte dei ceppi virulenti, compreso l'H5N1 aviario e l'N1N1 che causò la pandemia del 1918, chiamata spagnola e che provocò almeno 20 milioni di morti, è stato rilevato un aumento degli aminoacidi basici del terminale carbossilico che fa aumentare il numero dei siti di taglio da parte delle proteasi dell'ospite. Ne consegue una maggiore efficienza nel processo della liberazione del genoma e, forse, anche la accessibilità da parte di proteasi presenti in distretti differenti da quello respiratorio e quindi un ampliamento dello spettro d'organo. La proteina PB2, riconosce il "cap" nel nucleo della cellula ospite, operazione essenziale per l'inizio della trascrizione del genoma virale. Dato che nei ceppi virulenti sono state evidenziate almeno cinque mutazioni in questa sede, si presume che esse facciano aumentare l'efficienza replicativa del virus. La proteina NS1 ha la capacità di inibire la sintesi delle proteine cellulari e di bloccare l'azione dell'interferon endogeno prodotto durante l'infezione, con il risultato di favorire una maggiore replicazione del virus ed un aumento della citopatogenicità. Pare che una sola mutazione possa essere sufficiente a produrre questo effetto ed è stato anche dimostrato che introducendo il frammento genomico ottavo, che codifica NS, di un ceppo attenuato in uno virulento si ottiene una progenie virale attenuata.

Oltre all'uomo, i virus influenzali infettano anche altri mammiferi, come il cavallo, il maiale ed i mammiferi marini, ma è quasi certo che i virus che colpiscono queste specie derivino tutti da ceppi aviari. Sono stati finora identificati 16 sierotipi H e 9 sierotipi N, tutti presenti in varie combinazioni negli uccelli, mentre nel cavallo sono stati identificati 2 sierotipi H e 2 N, nei mammiferi marini 5 H e 3 N, nell'uomo e nel maiale 3 H e 2 N. Come abbiamo già visto, nei mammiferi le due glicoproteine subiscono mutazioni puntiformi che vengono progressivamente selezionate dalle difese immunitarie dell'ospite (deriva antigenica o "antigenic drift") per cui ad esempio, il virus umano oggi prevalente, l'H3N2, non è quasi più riconoscibile dagli antisieri prodotti dagli individui che vennero infettati nel 1968, anno della comparsa del virus. Tuttavia, favoriti dalla molteplicità dei segmenti genomici, i virus influenzali possono andare incontro ad un evento mutazionale molto più drastico, lo scambio antigenico (o "antigenic shift"). Esso consiste in una sorta di "incrocio" tra due virus influenzali differenti, che si scambino tratti del proprio genoma, consentendo così la "creazione" di un nuovo virus influenzale. Perchè ciò accada, occorre che i due virus influenzali differenti (in genere uno umano ed uno aviario) infettino la medesima cellula, si moltiplichino entrambi, abbiano la possibilità di scambiarsi tratti di genoma in maniera "mirata" e cioè in modo che il nuovo virus possegga comunque tutti e otto i segmenti canonici del genoma, ed infine che il virus ricombinante sia capace di prevalere su quelli preesistenti ed acquisisca la capacità di essere trasmesso facilmente da ospite ad ospite ed iniziare quindi una nuova epidemia. Se il nuovo virus trova la popolazione totalmente priva di difese immunitarie acquisite nel corso di precedenti infezioni, dilaga rapidamente causando una pandemia.

Tuttavia perché questo evento possa verificarsi è necessario che avvenga tutta una combinazione di eventi ciascuno dei quali è di per sé molto raro. Infatti il fenomeno della interferenza virale, tende ad escludere che una cellula venga infettata contemporaneamente e produttivamente da due virus

differenti, come è dimostrato anche dal fatto che, nonostante da vari anni circolino contemporaneamente nell'uomo due differenti virus influenzali, A, H3N2 e H1N1, i ricombinanti H3N1 e H1N2 esistono ma sono molto rari. Inoltre la trasmissione tra uccelli e uomo è resa difficile dalla differente struttura recettoriale dell'acido sialico, con galattosio 2,3 negli uccelli e galattosio 2,6 nell'uomo.

L'operazione potrebbe essere facilitata dall'intervento di un ospite intermedio, il maiale, che possedendo entrambi i tipi di recettori, può essere infettato, ed infettare, entrambi gli ospiti. Non solo, ma essendo suscettibile ad una contemporanea infezione da parte di virus aviari ed umani può fungere da "omogeneizzatore" e produrre nuovi virus con componenti suine, aviarie ed umane ed è esattamente ciò che sembra sia avvenuto con la comparsa del nuovo virus H1N1, che ha iniziato l'attuale pandemia.

Evoluzione dei virus influenzali A nell'uomo

Durante il secolo appena trascorso, sono state documentate tre pandemie influenzali causate rispettivamente ed in ordine di successione, dai virus H1N1, H2N2 e H3N2. L'H1N1, che è stato recentemente "recuperato" dai resti di soggetti deceduti ed interrati in regioni artiche; comparve nel 1918 dando origine ad una pandemia disastrosa, "la spagnola", che provocò in circa due anni, anche per l'assenza di trattamenti adeguati, tra i 20 ed i 40 milioni di morti, con una letalità calcolabile intorno al 5%. L'analisi del genoma ha portato alla conclusione che questo virus sia stato interamente aviario, trasmesso all'uomo quasi certamente dopo un adattamento intermedio nel maiale. Non si può tuttavia escludere che ci sia stato anche un processo di ricombinazione tra due subunità delle proteine H suina ed umana. Il virus "ricostruito" ha mostrato nel topo una attività replicativa migliaia di volte superiore a quella che abitualmente si registra con altri virus influenzali e questa attività è forse attribuibile alla conformazione della proteina polimerasica PB2 ed alla abbondanza di siti di taglio proteolitico della proteina H. Tra il 1918 ed il 1919 si sono succeduti tre picchi epidemici, il secondo dei quali nell'ottobre-dicembre 1918 è stato caratterizzato dalla più alta letalità. Negli anni successivi le caratteristiche sia patologiche, sia epidemiologiche, andarono progressivamente attenuandosi assumendo un andamento tipico della influenza umana "normale".

Il virus ha circolato nella popolazione umana, presumibilmente fino al 1956-1957, anno in cui si è verificata una seconda pandemia chiamata "Asiatica" e causata da un nuovo virus influenzale A, H2N2. È stato possibile oggi stabilire che il nuovo virus "umano" è stato frutto di una ricombinazione tra l'H1N1 e l'H2N2 dell'anatra, dal quale il virus umano ha derivato i segmenti genici che codificavano la proteine H, N, e PB1.

Anche in questo caso la comparsa del nuovo virus assunse un andamento pandemico, con un quadro clinico piuttosto violento, caratterizzato dall'interessamento dell'apparato respiratorio profondo, ma con una letalità fortunatamente molto più bassa dell'episodio precedente, verosimilmente dovuta alla larga disponibilità di antibiotici capaci di controllare le superinfezioni batteriche. Anche in questo caso la gravità dell'infezione si andò progressivamente attenuando negli anni successivi fino al 1968, anno di comparsa del nuovo virus H3N2 "Hong Kong" che è ancora oggi prevalente. Anche questa volta si trattò di una ricombinazione tra il virus umano ed un H3N aviario dal quale erano stati assunti i segmenti H e PB1. La circolazione del nuovo virus assunse anche in questo caso un andamento pandemico, ma con caratteristiche molto più sfumate, forse perché la popolazione era parzialmente protetta dagli anticorpi verso la proteina N2 prodotti nelle epidemie precedenti.

È abbastanza singolare o comunque non facilmente spiegabile, il fatto che la comparsa di un nuovo virus "pandemico" sia seguita dalla scomparsa totale del sierotipo preesistente, fenomeno per cui in condizioni "naturali" la popolazione umana è interessata da un solo tipo di virus influenzale A alla volta. Questa regola è stata interrotta nel 1977, anno in cui è ricomparso l'H1N1, quasi sicuramente sfuggito da un laboratorio paramilitare sovietico. All'inizio il mondo tremò, temendo il ritorno della spagnola, ma divenne ben presto evidente che si trattava di timori eccessivi, dato che il "reduce" del 1918 ha avuto ed ha ancora una circolazione modesta caratterizzata da una notevole mitezza dal punto di vista patologico. Tuttavia, la contemporanea circolazione di due sierotipi di virus influenzale A, nella popolazione umana ci ha insegnato quanto i fenomeni di ricombinazione siano infrequenti, o quantomeno, come la selezione dei ricombinanti sia ardua. Infatti, come abbiamo già detto, i ricombinanti H3N1 ed H2N2 sono stati isolati raramente e senza evidenza di trasmissione interumana.

Tuttavia nel 1976, appena prima della "fuga dell'H1N1 sovietico" era avvenuto un altro episodio che dovrebbe farci riflettere. Infatti in una stazione militare del New Jersey, Fort Dix, si manifestò tra le giovani reclute, una violenta epidemia di influenza respiratoria, con un caso letale, da cui fu isolato un nuovo virus, identificato con H1N1 suino (swH1N1), molto simile a quello che aveva iniziato la pandemia spagnola del 1918. In poco tempo i casi tra i soldati risultarono circa trecento e ciò indusse nelle autorità politiche e sanitarie degli Stati Uniti una sorta di panico, determinato dal fatto che la terribile spagnola potesse riaffacciarsi nel paese.

In tempo di record fu preparato un vaccino che venne somministrato in fretta e furia a circa 40 milioni di persone. Ci si accorse però ben presto che: 1) a parte lo sfortunato caso letale, le forme cliniche erano piuttosto miti; 2) che nessun caso si era verificato al di fuori di Fort Dix; 3) che tra i vaccinati si erano verificati circa 50 casi di sindrome di Guillain Barrè che, anche se non attribuibili con certezza alla vaccinazione, si erano manifestati in un "cluster" temporale con essa.

Tutto questo fece interrompere immediatamente la somministrazione del vaccino e la paura della pandemia venne subito seguita da inevitabili polemiche.

E veniamo ai nostri giorni...

La nuova Pandemia

Verso la seconda metà di marzo 2009, in Messico si cominciarono ad

osservare casi di infezione respiratoria simil-influenzale che assunsero ben presto un andamento epidemico in tre parti del paese, tanto che dopo circa un mese, erano stati segnalati circa 800 casi con circa 60 esiti mortali. A proposito di questo ultimo dato occorre subito precisare che in questa fase la diagnosi era solo di tipo clinico, tanto che alla fine di aprile solo 18 dei casi messicani aveva ricevuto una conferma di laboratorio della eziologia da un nuovo virus di provenienza suina, H1N1. La situazione cominciò ad evolvere rapidamente con il passaggio della frontiera con gli Stati Uniti e con la comparsa in questo paese di 7 casi di mite sindrome influenzale confermati in laboratorio come dovuti al nuovo virus. Da questo momento l'O.M.S. iniziò a segnalare la incidenza dei nuovi casi confermati da H1N1 in tutto il mondo.

I dati indicano che il 1 maggio il virus era comparso in 11 paesi, prevalentemente in soggetti che lo avevano presumibilmente contratto durante un viaggio in Messico. Tuttavia la rapida espansione dei casi in vari paesi, come gli Stati Uniti, il Canada, il Giappone, la Spagna e l'Inghilterra, indicava chiaramente che il virus importato veniva facilmente trasmesso nella popolazione residente. Ai primi di giugno cominciarono ad essere interessati anche vari paesi dell'America centrale e meridionale e l'Australia. Esistevano pertanto le condizioni per dichiarare aperta la pandemia che però venne proclamata ufficialmente l'11 giugno. Al momento in cui scrivo, 30 giugno, i casi accertati ammontano a circa 70.000, in oltre 100 paesi, tra cui il nostro con circa un centinaio di casi. La letalità ammonta a 311 casi, compresi i 60 non confermati riportati dal Messico all'inizio dell'epidemia. Ma pur includendo questi ultimi, la letalità corrisponderebbe a circa lo 0,4%. È stato tuttavia calcolato che, data la mitezza dei sintomi che caratterizzano al momento questa infezione, le diagnosi confermate che, ricordiamo sono quelle riportate dall'O.M.S., sarebbero solo da 1/30 ad 1/100 di quelle effettive. Ne consegue che, sia pure arbitrariamente, possiamo supporre che la letalità sia stata al massimo dello 0,014%, vale a dire molto più bassa di quella che si è finora registrata nelle comuni epidemie stagionali di influenza. È stato inoltre calcolato, sempre sulla base di modelli matematici (che non sempre funzionano), che la trasmissibilità del virus, sia uguale, se non superiore, a quella dei "vecchi" virus influenzali. Se così fosse e tutto lo farebbe pensare, pare che il virus abbia trovato le condizioni ideali per mantenersi in questa sfera ecologica, e cioè una prolungata trasmissibilità interumana da parte di pazienti che in discrete condizioni di salute possono, mantenendo una normale vita di relazione, trasmettere facilmente il virus ai propri contatti.

Cosa possiamo aspettarci per il prossimo futuro?

Nessuno possiede la sfera di cristallo, per cui si può solo speculare su possibilità soltanto teoriche, sia pure basate su dati scientifici. Su queste grava una esperienza pesante, anche se remota, come quella della epidemia di spagnola del 1918, che iniziò con forme miti, ma che assunsero nella seconda ondata stagionale un andamento assai più grave con una letalità di circa il 5%, prevalentemente in soggetti di giovane età. Molti di quei casi mortali erano presumibilmente dovuti a superinfezioni batteriche che in assenza di antibiotici risultarono incontrollabili. Non è tuttavia da escludere che, come sembra accertato che si sia verificato anche recentemente nei casi di SARS e di influenza aviaria da H5N1, vi sia stata alla base anche una patogenesi di tipo infiammatorio con una iperproduzione di citochine di tipo TH1 (IFN gamma, IL2, IL12, TNF, ecc.) e quindi di tipo immunopatologico. Perché questo sia avvenuto non è ancora accertato, ma non si possono escludere né la possibilità che una mutazione del virus possa avere apportato una modifica, facendogli assumere caratteristiche di superantigene, né che un preesistente ma incompleto stato immunitario dei pazienti verso il medesimo antigene od uno correlato abbia generato una risposta secondaria di insolita violenza.

È infatti poco probabile che la evoluzione del virus abbia selezionato mutanti per una maggiore virulenza, cosa che, come abbiamo ripetutamente affermato, porterebbe al virus stesso caratteristiche evolutivamente negative. Propendiamo pertanto verso la seconda ipotesi. Ma che rischi ci sono che ciò possa verificarsi anche stavolta? Forse lo sapremo presto perché è presumibile che se ciò dovesse avvenire lo dovremmo vedere anticipatamente nel corso della maggiore espansione dell'epidemia che dovrebbe verificarsi durante l'inverno che è oramai alle porte nell'emisfero meridionale.

Nel frattempo cosa fare? Tutti pensano al vaccino, e ciò è corretto su basi prudenziali. Occorre però tenere presente che in tempi così ristretti è impensabile che si possa disporre nella quantità necessaria a proteggere l'intera popolazione mondiale. Potrebbe pertanto verificarsi il caso che un'ampia copertura vaccinale in alcuni paesi, che come sappiamo ha una durata di non più di due tre mesi, possa far trovare la popolazione esposta alla reintroduzione del virus magari mutato, proveniente in altri paesi in cui non si è potuta effettuare la vaccinazione. Ci sembrerebbe quindi più saggio seguire l'evolversi della situazione lasciando che si infetti il maggior numero di soggetti con il virus che sta circolando, tenendo conto del fatto che un'infezione mite come quella attuale costituisce il miglior vaccino possibile contro una eventuale accentuazione di patogenicità. Giusto quindi accumulare vaccini ed antivirali ma attendere ad usarli solo quando ce ne fosse veramente bisogno. Nel frattempo aspettare incrociando le dita, ma con gli occhi bene aperti anche sul piano diagnostico differenziale, dato che le forme polmonari virali e quelle autoimmuni richiedono interventi terapeutici differenti diversi, antivirali nelle prime ed antiinfiammatorie nelle seconde.

Chi vivrà vedrà, ma se mi si chiedesse oggi una previsione, nonostante i miei antenati etruschi maestri nell'arte divinatoria, non saprei cosa rispondere. Scendendo però su un terreno più a me congeniale, quello dei virus, ritengo che ci sia ampio spazio per l'ottimismo. Sperando che non crepi l'astrologo!