

11. Aprile

## Un incubo agghiacciante: H5N1/clade 2.3.4.4B

*Ci hanno promesso che i sogni possono diventare realtà,  
ma hanno dimenticato di dirci che anche gli incubi sono sogni*  
Oscar Wilde

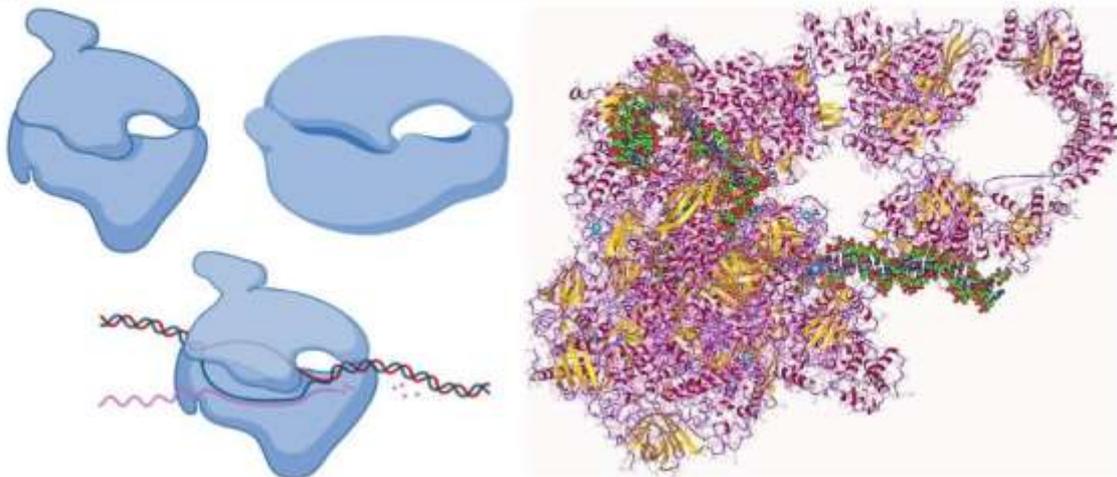
Le vittime sono varie, da migliaia di *leoni marini* al largo della costa del Perù a *visoni* allevati per la pelliccia in Spagna, *orsi grizzly* nel Montana e foche del Maine. Per mesi, il virus dell'influenza aviaria che ha decimato gli uccelli in tutto il mondo ha anche ammalato e ucciso un serraglio di mammiferi, sollevando timori che potrebbe evolversi per diffondersi in modo più efficiente tra questi animali e, in ultima analisi, tra le persone, **in somma: un incubo agghiacciante.**

Il premio Oscar **Tommy Lee Jones** nel Film "Non è un paese per vecchi" afferma che "il mondo non è un posto molto comodo se si ha un incubo da affrontare"

Affinché quell'incubo si dispieghi, tuttavia, il virus, un sottotipo noto come **H5N1**, dovrebbe subire un'importante trasformazione, passando da un patogeno efficiente nell'infettare le cellule nelle viscere degli uccelli e diffondendosi attraverso l'acqua contaminata dalle feci in un esperto nell'infettare tessuto polmonare umano e diffondendosi nell'aria. Finora non è successo. Nessuna delle poche persone che hanno preso il virus che sta attualmente spazzando via gli uccelli, chiamato **clade 2.3.4.4b**, sembra averlo trasmesso ad altre persone.

E' stato in più riprese sottolineato il rischio di un potenziale di uno *spillover*. I virologi ora sanno che affinché l'**H5N1** diventi esperto nella diffusione tra i mammiferi quali delle sue componenti proteiche devono mutare e/o evolversi

La molecola più attenzionata è la **polimerasi** che il virus usa per replicare il suo genoma di RNA una volta che invade una cellula. Per fare il suo lavoro, l'enzima deve cooptare una proteina intracellulare ospite, e attualmente, è più adattato alla molecola aviaria rispetto al suo equivalente mammifero.



### Polimerasi

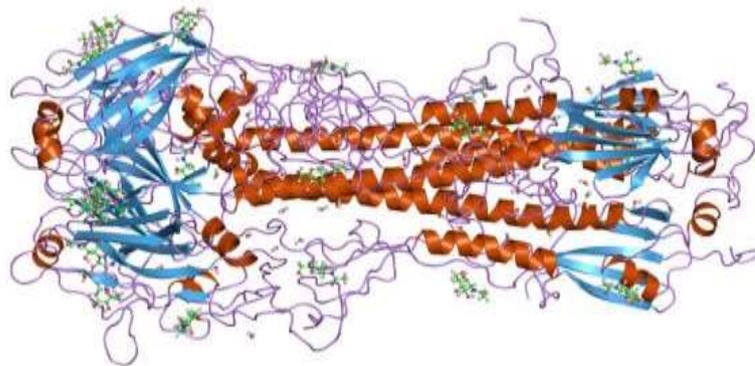
Diverse combinazioni di mutazioni in una subunità della polimerasi, **PB2**, possono modificare l'enzima per funzionare meglio nei mammiferi. Ma c'è una mutazione nota, **E627K**, che lo fa in un

singolo legame scambiando un amminoacido in una posizione chiave, un glutammato, con una lisina. La prima apparizione registrata della mutazione fu nel virus che causò l'influenza del 1918. L'azione della **PB2** è stata così "efficace" che si è bloccato in ogni virus dell'influenza umana fino alla pandemia di influenza suina del 2009,

Qualunque sia il percorso su cui si imbatte il virus, l'**H5N1** ha bisogno di un **PB2** alterato per diventare un patogeno umano è questo è soltanto il primo passo, un passo facile che è già riuscito più volte nell'attuale epidemia di virus dell'influenza aviaria.

*Ad esempio, i ricercatori hanno trovato la mutazione E627K nelle volpi infette che sono state campionate nei Paesi Bassi tra la fine del 2021 e l'inizio del 2022. La mutazione è stata trovata anche in un campione di una foca del New England, parte di un focolaio di H5N1 nelle foche al largo della costa orientale l'anno scorso. Le mutazioni PB2 non sembrano ostacolare il virus negli uccelli. Si ritiene che questo sia il motivo per cui potremmo vedere le mutazioni della polimerasi spuntare abbastanza spesso".*

Ma affinché l'**H5N1** causi una pandemia, sono necessari anche molteplici cambiamenti nell'**emoagglutinina**, una proteina sulla superficie del virus che lo aiuta ad attaccarsi ai carboidrati sulle cellule ospiti.



## Emoagglutinina

Questi carboidrati hanno una forma diversa negli uccelli e nei mammiferi, quindi l'**emoagglutinina** dell'**H5N1** deve cambiare forma affinché il virus possa infettare efficacemente le cellule dei mammiferi.

Questo è un punto cruciale apparentemente rassicurante perché ad oggi " non ci sono virus influenzali trasmissibili tra persone che non hanno un'**emoagglutinina** adattata all'uomo.

Tuttavia un paio di cambiamenti di aminoacidi, **Q226L** e **G228S**, potrebbero rimodellare l'**emoagglutinina** per legarsi alle cellule dei mammiferi. Ma in **H5N1**, il secondo cambiamento dell'amminoacido richiede due mutazioni nucleotidiche molto vicine l'una all'altra nel **gene dell'emoagglutinina**.

Molti virologi pensano che questo sia un'evenienza molto difficile, ma se lo sottoponi a una *pressione di selezione sufficiente*, non è escluso che potrebbe accadere.

Un altro cambiamento cruciale dell'**emoagglutinina** renderebbe **H5N1** più trasmissibile attraverso l'aria, anch'esso un prerequisito per una pandemia. Una volta che il virus aderisce a una cellula, viene assorbito in una vescicola che diventa più acida, innescando un cambiamento di forma dipendente dal pH nell'**emoagglutinina**. Questo porta il virus e le membrane delle vescicole a fondersi, permettendo al materiale genetico del patogeno di fuoriuscire nella cellula. In acqua, **l'emoagglutinina** sui virus aviari in genere non ha problemi a non attivarsi. Ma nell'aria, le goccioline di umidità che trasportano i virus influenzali spesso si restringono e possono raggiungere quella soglia acida, quindi i virus pandemici necessitano di mutazioni che stabilizzino la loro **emoagglutinina**.

Questi tre passaggi sono i cambiamenti minimi di cui probabilmente **H5N1** ha bisogno per diventare trasmissibile tra esseri umani.

**Martin Beer** del *Friedrich Loeffler Institute*.



pensa che un virus pandemico abbia bisogno di un quarto cambiamento: la capacità di eludere una proteina intracellulare chiamata **MxA**.

**MxA** avvisa il sistema immunitario di un'infezione influenzale quando rileva la nucleoproteina del virus, una proteina legata al suo RNA. Per prevenire quell'allarme, la nucleoproteina deve mutare in una forma che la **MxA** umana non è in grado di rilevare.

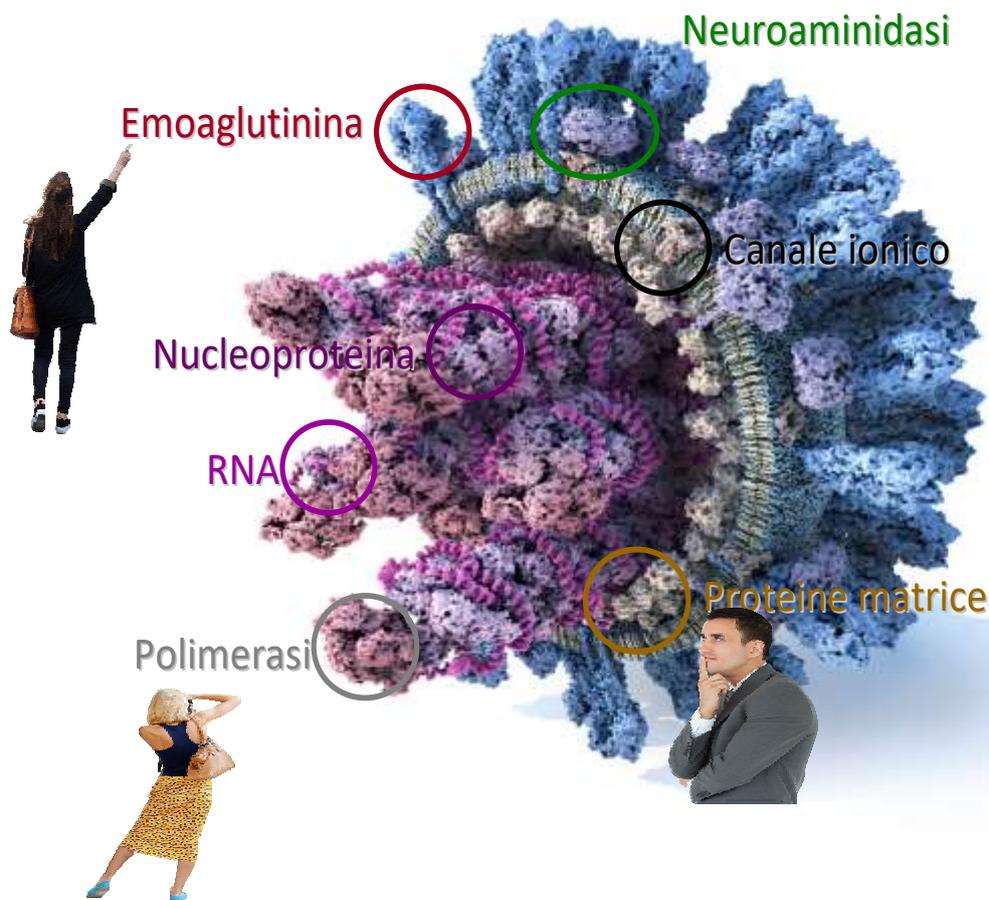
*"Questa è l'ultima barriera", dice Beer. Sebbene le capacità di rilevamento di MxA appaiano molto deboli nei furetti e in alcuni altri animali, è più sensibile negli esseri umani e nei maiali. "Se un virus H5 si sta diffondendo nei maiali, allora è davvero codice rosso".*

*In un esperimento inedito, Beer e i suoi colleghi hanno infettato i maiali con l'H5N1. Anche quando sono state utilizzate dosi elevate, il virus si è replicato a malapena negli animali. Le persone probabilmente hanno altre difese oltre a MxA che i virus dell'influenza aviaria devono battere. Ad esempio, in una recente pre stampa i ricercatori hanno scoperto che un'altra proteina nell'uomo chiamata BTN3A3 rileva anche la nucleoproteina dell'influenza aviaria.*

Inoltre ritiene che anche se la maggior parte delle persone non è stata esposta ai virus H5, l'esposizione per tutta la vita ad altri virus influenzali potrebbe aver creato protezioni cellulari o anticorpali anche contro **H5N1**. In un esperimento in corso sta confrontando il modo in cui

l'attuale virus aviario cresce nei furetti infettati 3 mesi prima con l'influenza stagionale rispetto ai furetti senza precedenti infezioni.

Ciò che i ricercatori sanno finora sui passaggi necessari per adattare l'**H5N1** agli esseri umani offre una certa rassicurazione: ha una delle barriere più alte per diventare un virus pandemico di qualsiasi virus dell'influenza aviaria, ma a ovviamente deve solo ottenere la giusta combinazione di mutazioni una volta per saltare.



### I punti "caldi di H5N1

E con il virus che si sta diffondendo così furiosamente in tutto il mondo, ha più opportunità che mai di trovare la giusta combinazione. In passato, i focolai di H5N1 sono svaniti, ma questa volta il virus è probabilmente qui per rimanere negli uccelli selvatici in Europa e nelle Americhe. Questo incubo continuerà a bussare alla nostra porta finché, presumo, non causerà davvero una pandemia

## **Baedeker/Replay del 11 aprile 2021**

*Un "fiocco azzurro" da monitorare con attenzione*

Durante la pandemia COVID-19, numerosi studi hanno analizzato le risposte immunitarie innate e adattative all'infezione da SARS-CoV-2 e alla vaccinazione in diverse coorti cliniche. Tuttavia, erano pochi gli studi che includevano donne in allattamento e in gravidanza, una popolazione considerata altamente vulnerabile per lo sviluppo di un COVID-19 grave. Le donne in gravidanza sono state escluse dagli studi clinici che hanno portato all'approvazione dei vaccini Pfizer e Moderna. Questo non è un fatto isolato, poiché le donne in gravidanza sono state storicamente escluse dalla maggior parte degli studi clinici, limitando così un loro possibile dato cognitivo nello sviluppo di terapie e limitando fortemente la nostra comprensione di come le diverse fasi della gravidanza modulino le risposte immunitarie alle infezioni e alle vaccinazioni. Ciò è particolarmente importante dato che le infezioni durante la gravidanza contribuiscono comunemente alla mortalità e alla morbilità materna.

**Due recenti studi pubblicati** in Science Translational Medicine di Caroline Atyeo del Ragon Institute of MGH, MIT, di Harvard (Atyeo 2021 e dal team di Evan Bordt del Department of Pediatrics, Lurie Center for Autism, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School (Bordt EA 2021) , hanno analizzato come le donne in gravidanza rispondono ai vaccini mRNA SARS-CoV-2 e alle infezioni naturali. Questi studi hanno dimostrato come le donne in gravidanza e in allattamento siano capaci di generare forti risposte anticorpali alla vaccinazione e all'infezione. Tuttavia, fattori come il tempo di innesco e potenziamento del vaccino, nonché il sesso del feto modulano le risposte anticorpali materne e l'immunità passiva conferita. La gravidanza rappresenta uno stato biologico unico in cui è indispensabile raggiungere un equilibrio di immunotolleranza nei confronti del feto in via di sviluppo proteggendo anche la donna incinta dalle malattie infettive. Questo bilanciamento non è semplice da realizzare dato che il sistema immunitario in gravidanza può essere influenzato da componenti sia materni che fetali e dalla ed in particolare dalla placenta in particolare

### **La placenta è un organo di derivazione fetale e quindi può essere di origine maschile o femminile.**

A causa dei numerosi cambiamenti sistemici nell'immunità innata e adattativa che si verificano durante la gestazione, le donne in gravidanza sono più suscettibili a malattie gravi derivanti da agenti patogeni, tra cui SARS-CoV-2 e virus dell'influenza (Mor G 2017) Ad esempio una immunizzazione materna tempestiva contro l'influenza e la pertosse può indurre una robusta risposta immunitaria in grado di proteggere direttamente la donna incinta e il feto attraverso il trasferimento passivo di anticorpi. Definire come le donne in gravidanza e in allattamento rispondono all'infezione e alla vaccinazione da SARS-CoV-2 è quindi un momento fondamentale per ottimizzare le strategie di vaccinazione che proteggano sia la madre che il bambino dal COVID-19. Uno dei principali fattori che contribuiscono all'immunità fetale e neonatale è dato dal trasferimento passivo di anticorpi materni attraverso la placenta e attraverso il latte materno, che fornisce al neonato un arsenale di immunoglobuline funzionali (Ig). Gli anticorpi IgG materni vengono trasferiti alla circolazione fetale legandosi ai recettori del dominio Fc (FcR) sulla superficie del sinciziotrofoblasto, lo strato cellulare multinucleato sovrastante la placenta. Il recettore Fc neonatale (FcRn) è il principale recettore responsabile del trasferimento di IgG placentare, ma anche altri recettori Fcγ espressi a livello placentare modulano l'efficienza di trasferimento. Pertanto, il legame anticorpo-FcR è un determinante chiave del trasferimento transplacentare, inoltre anche la glicazione differenziale dei domini Fc anticorpali può influenzare la quantità di anticorpi trasferiti

**Dopo il parto**, le madri trasferiscono gli anticorpi IgA-isotipi attraverso il latte materno, che possono proteggere i bambini dalle infezioni enteriche e respiratorie. Una volta nella circolazione neonatale, gli anticorpi materni possono coordinare diverse funzioni immunitarie. Questi includono la neutralizzazione diretta dell'antigene e le funzioni cellulo-mediate non neutralizzanti molte delle quali sono orchestrate da FcγR. La diversità delle funzioni anticorpali dimostra la loro capacità unica di fornire una protezione immunologica completa ai feti e ai bambini che allattano al seno. In particolare lo studio complementare, di Bordt ha analizzato le risposte dell'anticorpo e dell'interferone antivirale in donne in gravidanza non infette e infette da SARS-CoV-2 e verificato se il sesso fetale ha modulato queste risposte. Dato che la placenta è

un tessuto derivato dal feto, capire come il sesso fetale potrebbe influire sulle risposte immunitarie e il relativo trasferimento transplacentare di anticorpi potrebbe far luce sulle differenze associate al sesso negli esiti di COVID-19 nei neonati e nei bambini. Bordt ha scoperto che le madri con feti maschi avevano titoli materni più bassi di anticorpi IgG contro tutti gli antigeni SARS-CoV-2 specifici testati. La dimostrazione di risposte immunitarie a SARS-CoV-2 "smorzate" nelle madri con feti maschi suggerisce che il sesso fetale modifica le risposte anticorpali materne all'infezione durante la gravidanza. Inoltre, il rapporto di trasferimento degli anticorpi SARS-CoV-2 nel sangue del cordone ombelicale era inferiore nelle gravidanze maschili rispetto a quelle femminili. È importante sottolineare che gli autori hanno scoperto che il trasferimento transplacentare di IgG contro altri agenti patogeni, come quelli che causano pertosse e influenza, non era ridotto nelle gravidanze maschili rispetto a quelle femminili.

**Gli autori hanno ulteriormente verificato se** le differenze specifiche del sesso fetale nell'espressione di FcR placentare modulassero la diminuzione osservata nel trasferimento di IgG SARS-CoV-2. Le valutazioni istochimiche della placenta e le analisi dell'espressione genica hanno rivelato l'espressione sessualmente dimorfica degli FcR placentari con una sovraregolazione di FcRn, FcγRII e FcγRIII e un aumento della co-localizzazione di FcRn e FcγRIII nelle placente di origine maschile. Dato che questo aumento dell'espressione e della co-localizzazione della FcR placentare dovrebbe teoricamente migliorare il trasferimento transplacentare di IgG, gli autori hanno esaminato ipotesi alternative sul motivo per cui il trasporto di IgG SARS-CoV-2 materna nel sangue del cordone ombelicale è stato ridotto nelle gravidanze maschili.

**Nel complesso**, i risultati di questo studio suggeriscono l'esistenza di risposte immunitarie dinamiche e divergenti a SARS-CoV-2 nelle donne in gravidanza basate sul sesso fetale. Le madri con feti maschi avevano titoli anticorpali SARS-CoV-2 più bassi con legame FcR differenziale in seguito all'infezione e tassi più bassi di trasferimento di IgG anti-SARS-CoV-2 attraverso la placenta. Queste osservazioni hanno importanti implicazioni per la vaccinazione SARS-CoV-2 nelle madri in attesa di sesso maschile e femminile e, dopo il parto, per la cura dei bambini maschi a rischio. È essenziale continuare a studiare queste risposte sessuali fetali dicotomiche all'infezione durante tutta la gravidanza

#### RIFERIMENTI

-Atyeo C et al. COVID-19 mRNA vaccines drive differential antibody Fc-functional profiles in pregnant, lactating, and nonpregnant women. *Sci Transl Med.* 2021 Oct 27;13(617).

-Bordt EA et al. Maternal SARS-CoV-2 infection elicits sexually dimorphic placental immune responses. *Sci Transl Med.* 2021 Oct 27;13(617):eabi7428.

-Mor G et al. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nat Rev Immunol.* 2017 Aug;17(8):469-482.

## Un anno fa... Baedeker/Replay del 11 aprile 2021

### Miscellanea Pandemica

**Pathogens Project Conference**

Geneva, Switzerland | April 19-20, 2023



L'iniziativa "Creare il quadro per la ricerca sui patogeni di domani" ospiterà un incontro pubblico a Ginevra, in Svizzera, dal 19 al 20 aprile 2023. Questa conferenza pubblica includerà membri della task force, leader politici, giornalisti, scienziati e leader civici, tra gli altri. La conferenza sarà un ibrido di workshop privati e pubblici (trasmessi in live streaming, registrati), con giornalisti delle principali testate giornalistiche internazionali invitati a coprire l'evento pubblico. Produrrà un rapporto di sintesi finale con raccomandazioni, insieme a documenti preparati individualmente incentrati sulla valutazione del rischio e la mitigazione della ricerca sui patogeni ad alto rischio.

I documenti della conferenza saranno pubblicati in un'edizione speciale del Bulletin of the Atomic Scientists e resi disponibili sul sito web del Bulletin e su VERSOnon DOOVE che parteciperà al Convegno