

LA GENETICA NEL DETERMINISMO DELL'INFEZIONE DA VIRUS HIV

Antonio Amoroso¹, Silvana Savoldi²

¹Dipartimento di Genetica, Biologia e Chimica, Università di Torino, Torino

²S.C. Nefrologia e Dialisi, Ospedali Riuniti di Ciriè, ASL TO4, Ciriè (TO)

Genetics in the study of HIV infection

*Thirty years after the discovery of the human immunodeficiency virus (HIV) as the cause of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), no effective vaccines are available and there is no cure for the disease. The susceptibility to HIV infection shows a considerable degree of individual heterogeneity, which may be largely due to the genetic variability of the host. In an effort to find the host factors required for viral replication, to identify the crucial pathogenetic pathways, and reveal the full armament of host defenses, there has been a shift from candidate-gene studies to unbiased genomewide genetic and functional studies. Nevertheless, the number of established genetic factors involved in the susceptibility to diseases caused by HIV infection remains small, explaining only 15-20% of the observed heterogeneity, most of which is attributable to polymorphisms of human leukocyte antigens (HLA). Genetic studies, however, have allowed to clarify which genetic variations underlie the adverse response to some antiretroviral drugs (such as HLA-B*5701 in the treatment with abacavir) or the occurrence of renal complications as the disease progresses. The results of these studies already have a possible impact on healthcare practice.*

Conflict of interest: None

Financial support: None

KEY WORDS:

AIDS,
Genetics,
HIV,
HIVAN,
HLA,
Immunogenetics,
Complex diseases,
Susceptibility

PAROLE CHIAVE:

AIDS,
Genetica,
HIV,
HIVAN,
HLA,
Immunogenetica,
Malattie complesse,
Suscettibilità

Indirizzo degli Autori:

Dr. Antonio Amoroso
Via Santena 19
10126 Torino
e-mail: antonio.amoroso@unito.it

LE MALATTIE GENETICHE

La Genetica Medica si occupa dell'insieme delle condizioni nelle quali la componente genetica ereditaria è rilevante come causa o come fattore di rischio di malattia oppure determina differenze individuali nella storia naturale delle malattie, nella loro prognosi e nella risposta alle terapie; non riguarda, quindi, solo la popolazione pediatrica né comprende solo malattie rare, poiché alcune malattie monofattoriali sono frequenti in popolazioni particolari e una componente genetica è riconosciuta nella maggior parte delle malattie comuni dell'età adulta. La Tabella I riporta la frequenza delle tre categorie di malattie genetiche nell'età adulta.

LE MALATTIE MULTIFATTORIALI O COMPLESSE

Molte malattie abbastanza comuni, per esempio l'ipertensione essenziale, il diabete mellito e le malattie cardiovascolari, non si distribuiscono fra i membri di una famiglia come ci si aspetta per caratteri ereditari monofattoriali benché vi siano molti elementi per supporre che anch'esse siano ereditarie. L'ipotesi che viene fatta (e che ora in alcuni casi è stata dimostrata da analisi molecolari) per spiegare la loro origine è che siano determinate non da un solo gene ma da alcuni (forse molti) geni indipendenti, ciascuno dei quali ha un piccolo effetto sul fenotipo. L'effetto dei diversi geni si sommerebbe: si parla perciò di geni con effetto "additivo". Queste malattie sono state chiamate anche "poligeniche", cioè controllate da più geni.

Ci si è anche resi conto che oltre all'effetto dei

TABELLA I - STIME DI PREVALENZA NELLA POPOLAZIONE ADULTA

Categoria di malattie	Minima (%)	Massima (%)
Monogeniche autosomiche dominanti	0.2	1
Monogeniche autosomiche recessive	0.2	0.3
Monogeniche controllate dal cromosoma X	0.1	0.2
Multifattoriali (escluse le malformazioni congenite)	3	10
Malformazioni congenite a elevata componente genetica	0.7	3
Anomalie cromosomiche	0.6	0.7
TOTALE	4.8	15.2

geni vi sono anche componenti ambientali (cioè non genetiche) che contribuiscono a determinare la malattia. Per esempio, come è noto, a determinare l'ipertensione concorrono fattori ambientali quali lo stress, il fumo e altri. Si preferisce allora denominare queste malattie "multifattoriali", a indicare che vengono determinate da più fattori, alcuni dei quali sono genetici e altri sono ambientali. Le malattie multifattoriali sono anche chiamate malattie complesse poiché alla loro insorgenza concorrono numerosi eventi di cui non è semplice cogliere le relazioni. Si tratta di solito di malattie comuni, dalla patogenesi complessa e che tendono a ricorrere più frequentemente nelle famiglie nelle quali la malattia si è già manifestata, anche se in misura di gran lunga inferiore rispetto alle malattie monofattoriali.

Anche malattie causate da infezioni sono oggi considerate malattie multifattoriali. Se è vero che la causa ambientale è ben riconosciuta nell'agente infettivo, che una volta era ritenuto l'unico responsabile della malattia, la risposta individuale all'infezione e alla progressione della malattia dipendono anche da fattori genetici e, in particolare, dalla variabilità genetica (polimorfismi) principalmente dei geni che controllano la risposta immunitaria e dei geni che codificano proteine o recettori che interagiscono con l'agente microbico.

IL CONTRIBUTO ALLA MALATTIA DI FATTORI GENETICI E AMBIENTALI

Analizzando una determinata malattia multifattoriale ci si chiede quale sia l'importanza relativa dei fattori genetici e ambientali per la sua determinazione. Vi sono diversi modi per indagarlo; i principali sono la correlazione fra consanguinei e la concordanza fra gemelli. Con questi modi si può definire quale sia l'"ereditabilità" di una malattia.

L'"ereditabilità" può essere definita come quella parte della variabilità totale, nella popolazione, di un carattere multifattoriale che dipende dall'azione di geni con effetto additivo. Essa viene espressa numericamente con valori che vanno da 0 a 1. Ha ereditabilità 0 un carattere la cui variabilità nella popolazione dipende tutta da fattori ambientali, mentre ha valore 1 un carattere la cui variabilità dipende tutta dai geni. Per esempio, l'ereditabilità dell'ipertensione essenziale è stata calcolata di 0.60.

RILEVAZIONE DI SINGOLI FATTORI DI RISCHIO CHE CONTRIBUISCONO A DETERMINARE LA MALATTIA

Un obiettivo della Medicina è quello di comprendere in dettaglio i meccanismi che sono alla base di una malattia. Per le malattie multifattoriali questo significa tentare di identificare i diversi fattori che contribuiscono a determinarle. L'identificazione di tutti i singoli fattori di rischio di una malattia permette di definire meglio la probabilità che una persona ha di sviluppare la malattia e, in qualche caso, di svolgere una più efficace prevenzione. Per alcune malattie, l'identificazione dei singoli fattori è stata compiuta del tutto o in parte.

LA DECIFRAZIONE DELLA COMPONENTE GENETICA DELLE MALATTIE MULTIFATTORIALI

Due tipi di metodi diversi vengono utilizzati per identificare quali variazioni genetiche causino un aumento di rischio per una malattia complessa: i metodi guidati da ipotesi e i metodi non guidati da ipotesi. I primi partono appunto da un'ipotesi, cioè che un certo gene sia associato con la malattia, e l'analisi confermerà o smentirà l'asserzione con un certo grado di sicurezza. I metodi non guidati da ipotesi analizzano l'intero genoma, producendo una lista di probabili geni associati (1, 2). Negli ultimi anni sono stati infatti sviluppati nuovi approcci metodologici per lo studio della componente genetica delle malattie. La scoperta di numerose variazioni di sequenza del DNA (come microsatelliti, SNP, CNV e altre) e di metodi di indagine automatici per valutare i polimorfismi ha permesso lo studio di alcune malattie multifattoriali, quali il diabete di tipo I, la sclerosi multipla e la nefropatia a depositi di IgA. Grazie agli studi di associazione è stato possibile distinguere alcune condizioni con una forte componente ereditaria. In tale ottica sono stati avviati studi sulle variazioni genetiche della popolazione. Le varianti del DNA comprendono inserzioni e delezioni nucleotidiche (INDEL), differenze nel numero di co-

pie delle sequenze ripetute (microsatelliti), variazioni dei singoli nucleotidi (SNP) e variazioni nella copia di geni (*copy number variations*, o CNV). I polimorfismi più frequenti sono appunto gli SNP; si stima che circa ogni 300-500 basi vi sia una variazione individuale della sequenza del genoma. Analizzando le associazioni di tali varianti, è possibile risalire alle implicazioni funzionali oppure utilizzarle come riferimento per gli studi indiretti di *linkage*. Di particolare interesse in questo contesto sono i cSNPs, quelli cioè che si trovano all'interno delle regioni codificanti per le proteine, o i *Tag SNP*, vale a dire quelli di riferimento per un determinato blocco genomico (o aplotipo). L'identificazione di un numero sempre più ampio di variazioni tra individui permette di stabilire associazioni sempre più precise tra variazioni genetiche e predisposizione all'insorgenza di malattie. Non solo, quindi, potranno essere identificati tutti i geni responsabili dell'insorgenza di una malattia, ma sarà possibile attribuire a ciascuna sequenza genica uno "score" rappresentativo dell'impatto percentuale sulla sua insorgenza. La suscettibilità alle malattie multifattoriali dipende quindi da variazioni di più geni che, insieme a fattori ambientali, determinano la patologia.

STUDI DI ASSOCIAZIONE GENOME-WIDE

Gli sviluppi delle nanotecnologie consentono oggi di esaminare in un singolo campione centinaia di migliaia di polimorfismi a singolo nucleotide (SNP). Nell'epidemiologia genetica, uno studio di associazione *genome-wide* (in inglese *genome-wide association study*, GWAS) è un'indagine di tutti o di quasi tutti i geni di diversi individui di una particolare specie per determinare le variazioni geniche tra gli individui in esame. In seguito si tenta di associare le differenze osservate con alcuni tratti particolari, per esempio una malattia. Nell'uomo è stato possibile individuare un'associazione tra particolari geni e malattie come l'obesità, l'ipertensione o il diabete. In questi casi vengono valutati campioni provenienti da centinaia o migliaia di individui, di solito cercando polimorfismi di singoli nucleotidi (o SNP). A oggi, più di 1200 analisi *genome-wide* hanno esaminato oltre 200 malattie e tratti, trovando quasi 4000 associazioni (<http://gwas.nih.gov/>).

I GWAS sono utili nell'individuare la *pathway* molecolare della malattia, ma non sempre è possibile ottenere gli esatti geni che predicano il rischio di malattia. Questi studi normalmente mettono a confronto il DNA di due gruppi di persone: gli individui che presentano la malattia e gli individui sani il più possibile simili ai malati. Vengono prelevati

dei campioni cellulari, per esempio con un tampone orale. Da queste cellule viene estratto il DNA che è poi analizzato tramite un *microarray*, in grado di leggere milioni di sequenze. Questi "*chip*" vengono studiati al *computer* con tecniche bioinformatiche. Invece di leggere intere sequenze geniche, questi sistemi individuano di solito SNP marcatori di gruppi di variazioni geniche (aplotipi).

Se alcune variazioni genetiche sono significativamente più frequenti negli individui malati, allora le variazioni si dicono "associate" alla malattia. Queste variazioni sono poi considerate come indicative della regione in cui è probabile che si trovi anche la variazione genetica che contribuisce a causare la malattia.

HIV E AIDS

Il *virus* dell'immunodeficienza umana (HIV, acronimo dall'inglese *Human Immunodeficiency Virus*) è il *virus* responsabile della sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS).

È un *retrovirus* del genere *lentivirus*. In base alle conoscenze attuali, HIV è suddiviso in due ceppi: HIV-1 e HIV-2. Il primo dei due è prevalentemente localizzato in Europa, America e Africa centrale. HIV-2, invece, si trova perlopiù in Africa occidentale e Asia e determina una sindrome clinicamente più moderata rispetto al ceppo precedente (3).

MODALITÀ DI TRASMISSIONE VIRALE

Il *virus* presenta diverse modalità di trasmissione: sessuale, ematica e verticale (madre-figlio). La più diffusa (85%) è quella sessuale, seguita dal contatto con sangue o emoderivati infetti. Nei paesi in via di sviluppo particolarmente importante è la trasmissione verticale; questa può avvenire sia durante la gravidanza per passaggio trans-placentare (20-40%) sia durante il parto (40-70%) e, infine, nell'allattamento (15-20%). Vanno infine ricordati i rischi derivanti dall'uso di materiale medico-dentistico non sterilizzato e dal contatto del personale sanitario o di laboratorio con campioni infetti.

IL CICLO VIRALE

Sia HIV-1 che HIV-2 sono in grado di infettare le cellule che presentano sulla loro membrana il recettore CD4. Ai fini dell'ingresso nella cellula, CD4 da solo è insufficiente e il *virus* si deve legare a un altro recettore. Si tratta di molecole appartenenti alla fa-

migliaia dei recettori con sette domini transmembrana accoppiati con la proteina G (*seven transmembrane domain G-protein-coupled receptor*). Come corecettori, HIV utilizza principalmente CXCR4 (usati dai ceppi con tropismo per i linfociti T) e CCR5 (tipici del ceppo avente tropismo per i macrofagi). È la proteina gp120 di HIV a legarsi ai recettori virali. Essa è in grado di legarsi a CD4 formando un complesso la cui costante di dissociazione si aggira intorno a 4×10^{-9} . Il legame con CD4 coinvolge tre regioni non contigue e altamente conservate di gp120 separate da altre zone, invece estremamente variabili. Dopo che è avvenuto il legame si avviano i fenomeni che danno luogo alla fusione tra la membrana virale e quella della cellula. Comunque sia, il processo di fusione non avviene senza il legame di gp120 ai suoi corecettori: CXCR4 e CCR5. CCR5 è il recettore utilizzato dalle β -chemochine RANTES, MIP- α , MIP- β , LD78 α e LD78 β , mentre CXCR4 ha come ligando naturale la chemochina SDF-1 (*Stromal Derived Factor 1*). Il legame del virus a uno o all'altro di questi recettori permette di dividere i ceppi di HIV in *R5-using* e *X4-using*, i quali utilizzano, rispettivamente, il CCR5 e il CXCR4 per entrare nella cellula. Il legame di gp120 ai suoi corecettori sembra che avvenga cronologicamente dopo quello al CD4.

È stato dimostrato che HIV è in grado di infettare produttivamente i seguenti tipi cellulari: linfociti, macrofagi, cellule della microglia e cellule dendritiche. Da alcuni esperimenti si è avanzata l'ipotesi che esso possa infettare anche i timociti e i precursori midollari, forse appartenenti alla linea mieloide-monocitica. Dopo che il virus è penetrato nella cellula, il suo RNA viene trascritto come DNA a opera della trascrittasi inversa e successivamente viene integrato nel genoma della cellula ospite dall'integrasi virale. Una volta che il genoma virale si è integrato in quello dell'ospite può rimanere inattivo dal punto di vista trascrizionale per un periodo di tempo compreso tra mesi e anni (4).

PATOGENESI DELL'INFEZIONE DA HIV

Il virus dà inizio all'infezione annidandosi principalmente nei macrofagi, dove riesce a entrare legando appunto la propria proteina gp120 a CD4 e a CCR5. Una volta all'interno delle cellule, HIV sintetizza grandi quantità di particelle virali, impegnando al limite le difese del sistema immunitario. Dopo alcuni anni, il virus, che muta costantemente, può alterare il gene per la gp120 in maniera tale da far sì che la proteina modifichi la propria specificità per il secondo recettore. Questa mutazione genetica rende la regione della molecola che riconosce CCR5

più affine al recettore CXCR4 presente sui linfociti T: a questo punto, la popolazione virale cambia.

Da questo stadio acuto fino agli ultimi stadi di infezione vengono prodotti miliardi di virus quotidianamente, principalmente da cellule T CD4+ attivate. Circa 10-100 milioni di cellule T CD4+ infettate muoiono ogni giorno in un processo dinamico in cui ogni cellula infetta genera all'incirca 20 virioni (5).

Una volta sviluppatasi l'infezione acuta, viene generata una risposta immunitaria cellulo-mediata verso l'HIV che tenta di controllare parzialmente la replicazione virale. In aggiunta alla perdita generale di cellule T CD4+, il virus infetta ed elimina preferenzialmente cellule T CD4+ specifiche per l'HIV, contribuendo a compromettere ancora di più la risposta immunitaria verso il virus (6). Di conseguenza, la concentrazione dei linfociti T CD4+ nei pazienti crolla e, simultaneamente, iniziano a manifestarsi quelle infezioni opportunistiche e quei tumori che per molti anni hanno definito la progressione verso l'AIDS.

FATTORI CHE INFLUENZANO LA TRASMISSIONE VERTICALE DEL VIRUS

Uno studio collaborativo europeo su circa 2000 coppie madre-bambino ha rilevato un tasso di trasmissione del 13%, mentre nei paesi africani vi sono dati che indicano tassi di infezione fino al 42%. Questa considerevole differenza può dipendere, potenzialmente, anche dalla prevalenza di sierotipi virali con differente tropismo placentare. Sono stati individuati diversi fattori di rischio in grado di aumentare la possibilità di trasmissione verticale del virus HIV-1 (oltre ai fattori genetici che verranno trattati successivamente in dettaglio): carica virale materna, infezione primaria materna durante la gravidanza, stadio di malattia avanzata nella madre, basso numero di linfociti T CD4+ materni, prematurità, parto prolungato o difficoltoso, allattamento al seno, fumo. Questi fattori spesso non agiscono come variabili indipendenti: per esempio, è comune l'associazione tra carica virale elevata, basso numero di linfociti T CD4+ e stadio di malattia avanzata. In generale, il tasso di trasmissione è in rapporto inversamente proporzionale al grado di immunodeficienza materna. Gli studi sulla correlazione tra carica virale materna e trasmissione verticale hanno dimostrato che la carica virale nel siero delle madri trasmittenti è più alta che nel siero di quelle non trasmittenti (7). Comunque, tutti i dati indicano che la carica virale è un fattore molto importante ma non sufficiente a spiegare in modo completo la trasmissione vertica-

le dell'infezione.

Solo un esiguo numero di bambini ricade nella condizione definita come "Long-Term-Non-Progressor" (LTNP). Il periodo di completa asintomaticità della malattia è comunque estremamente breve in età pediatrica, in quanto sintomi specifici HIV-correlati sono presenti nella maggioranza degli infetti entro i primi 6 mesi di vita. L'età del bambino al momento della diagnosi di AIDS e il tipo di manifestazioni cliniche sono importanti per la determinazione della prognosi.

FATTORI GENETICI COINVOLTI NELL'INFEZIONE DA HIV-1

La variabilità genetica dell'ospite è una componente fondamentale che determina la suscettibilità alle infezioni. Nel corso degli anni è stato identificato un numero significativo di variabili genetiche coinvolte nell'infezione da HIV e nella progressione della patologia e, in maniera meno estesa, anche per quanto riguarda la resistenza all'infezione stessa.

HLA

Il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC, dall'inglese "Major Histocompatibility Complex"), che è denominato nell'uomo HLA (dall'inglese "Human Leukocyte Antigens"), codifica per una serie di geni altamente polimorfi fondamentali nel determinare, tra l'altro, la specificità delle risposte antivirali dei linfociti T e B. Il sistema di geni che codificano per gli antigeni HLA è localizzato sul braccio corto del cromosoma 6 e comprende oltre 400 tra geni e pseudogeni, per una lunghezza totale di circa 7.5 Mb. Questi geni possono essere suddivisi in tre classi: i geni di classe I (consistenti nei loci HLA-A, HLA-B e HLA-C), di classe II (loci HLA-DQ, -DR e -DP) e di classe III (C2, C4, Bf, TNF) (8, 9).

Gli antigeni di classe I stimolano la produzione di alloanticorpi e controllano la specificità dei linfociti T citotossici (CTLs), giocando un ruolo chiave nella presentazione degli antigeni virali a CTLs HLA-ristretti. Nell'infezione da HIV sono riscontrabili specifiche cellule CD8+ indirizzate contro le proteine virali, essenziali per la clearance virale e la protezione dei soggetti *long term survivors* durante il periodo asintomatico (10). Con la progressione all'AIDS, l'azione di queste cellule diminuisce. Si pensa che HIV-1 stesso sia in grado di *down-regolare* l'espressione delle molecole HLA di classe I nelle cellule infettate, riducendo quindi la lisi di queste ultime da parte di specifici CTLs.

In letteratura vi sono numerosi studi di associazione tra antigeni HLA di classe I e infezione da HIV. Riassumendo, dieci diversi antigeni per il locus A (A1, A2, A3, A11, A24, A31, A32, A28, A48, A66), 15 differenti antigeni per il locus B (B7, B8, B12, B13, B16, B18, B21, B22, B27, B35, B44, B51, B52, B65, B70) e 4 diversi antigeni per il locus C (Cw4, Cw5, Cw6, Cw7) sono stati associati alla progressione, alla resistenza o alla suscettibilità all'infezione da HIV (11, 12). Uno studio recente ha messo in luce la presenza di un'associazione tra alleli HLA materni e fetali e, in particolare, tra la loro condivisione e il rischio di trasmissione perinatale di HIV-1 (13). Gli antigeni di classe II sono coinvolti invece nella presentazione dell'antigene ai linfociti T CD4+. Similmente a quanto osservato per gli antigeni di classe I, anche per quanto riguarda quelli di classe II si sono osservate delle associazioni con la progressione, la resistenza o la suscettibilità all'infezione del virus (11).

Almeno due alleli, HLA-B (B27 e B57) sono stati identificati come "protezione" contro l'HIV-1, mentre HLA-B35 e 53 agiscono come fattori di suscettibilità. Gli antigeni HLA mediano una selezione guidata dell'evoluzione del virus HIV-1 e sta diventando chiaro che le varianti circolanti del virus sono più propense a evadere la sorveglianza immunitaria in presenza di questi alleli HLA. Confrontando le sequenze degli alleli HLA di protezione all'infezione, si è stabilito che sono sufficienti cinque amminoacidi presenti nella proteina HLA-B per rendere questa molecola particolarmente affine a peptidi derivati da HIV, rendendo quindi particolarmente efficace la sorveglianza immunitaria in una minoranza di soggetti che possiedono tali alleli, rendendoli più resistenti nei confronti dell'AIDS (14-17).

CHEMOCHINE

Gli studi sull'interazione ospite-HIV hanno dimostrato l'importanza delle chemochine, ritenute, oggi, i più potenti modulatori dell'infezione. Le α - e le β -chemochine sono citochine chemotattiche, che attirano differenti tipi di leucociti nella sede dell'infiammazione. Sono caratterizzate dalla presenza di quattro residui di cisteina conservati che formano due legami disolfuro. Nelle β -chemochine i residui di cisteina sono adiacenti gli uni agli altri (CC), mentre nelle α -chemochine i residui sono separati da un amminoacido interposto (CXC). Le chemochine fermano l'infezione da HIV bloccando l'entrata del virus nelle cellule: inducono l'internalizzazione del corecettore prevenendo la formazione del complesso CD4-gp120-corecettore (18).

SDF-1

SDF-1 è una molecola appartenente alla famiglia delle α -chemochine che mostra una grande efficacia come agente chemotattico attivo sui linfociti T, macrofagi ma non neutrofili. Il gene che codifica per questa chemochina è stato mappato sul cromosoma 10 (10q11.21). È stato dimostrato che SDF-1 è in grado di legare il recettore CXCR4 e, *in vitro*, di bloccare l'infezione dei linfociti T CD4+ da parte del virus HIV-1 T-tropici (19). SDF-1 α è in grado di regolare inoltre negativamente l'esposizione di CXCR4 sulla superficie delle cellule, inducendo l'endocitosi del recettore.

È stato identificato un polimorfismo a carico della regione 3' non tradotta del gene (transizione G-A alla posizione 801) con frequenze alleliche del 21% nei caucasici, del 16% negli ispanici, del 57% negli afro-americani e del 25.7% negli asiatici. Il polimorfismo, che è stato designato con la sigla SDF-1 3'A, si trova all'interno di una regione molto conservata evolutivamente del trascritto di SDF-1 β che sembra essere il *target* di fattori coinvolti nel trasporto e nell'espressione di SDF-1.

In relazione all'infezione da HIV, gli individui omozigoti per l'allele SDF-1 3'A sono risultati progredire più lentamente verso i sintomi clinici propri dell'AIDS (20). Studi successivi hanno mostrato invece una correlazione di questo polimorfismo con un'accelerata progressione all'AIDS o con la morte (21, 22). Uno studio più recente (23) ha confermato la presenza di un'associazione tra allele SDF-1 3'A in omozigosi e accelerata progressione all'AIDS. Il genotipo SDF-1 eterozigote materno (SDF-1 3'A/wt) è inoltre associato a un rischio aumentato di trasmissione perinatale di HIV-1 nei bambini e in particolar modo di trasmissione con il latte materno.

RANTES, MIP-1 α , MIP1- β

RANTES, MIP-1 α e MIP1- β fanno parte della classe delle β -chemochine. Individui con i sintomi dell'AIDS hanno ridotti livelli di MIP-1 α ; una ridotta espressione di MIP-1 β è stata osservata in pazienti con AIDS rispetto ai pazienti senza AIDS o rispetto ai controlli (24). Esistono inoltre evidenze crescenti che variazioni genetiche nel promotore di RANTES (*regulated on activation normal T cell expressed and secreted*), uno dei ligandi del recettore CCR5, siano importanti sia per la suscettibilità all'infezione che per la progressione della malattia (25). Questo effetto è probabilmente dovuto alla modulazione della trascrizione dell'mRNA di RANTES che ne influenza la produzione.

CCL3

CCL3 è uno dei geni del *cluster* sul braccio lungo del cromosoma 17 e codifica per una proteina che si lega a diversi recettori per le chemochine, tra cui CCR2 e CCR5. Quest'ultimo recettore, come già detto, è un corecettore per HIV, e il legame di CCR5 con CCL3L1 inibisce l'ingresso di HIV. Inoltre, l'associazione recettore-ligando provoca l'internalizzazione del complesso all'interno della cellula per endocitosi, per eventualmente essere ri-processato e ri-espresso. Il genoma umano di riferimento contiene due copie complete del gene (CCL3L1 e CCL3L3) e un'ulteriore duplicazione parziale, che si ritiene risulti in uno pseudogene, chiamato CCL3L2. Il numero di copie di questo gene varia fra gli individui. Si ipotizza che questo fenomeno sia stato generato dalla duplicazione segmentale della regione contenente CCL3. La maggior parte degli individui ha 1-6 copie nel genoma diploide, anche se, più raramente, si possono riscontrare individui che ne possiedono zero copie o più di sei copie. Con l'aumentare del numero di copie, maggiore è anche l'espressione di CCL3L1 e, di conseguenza, aumenta anche la competizione per il sito di legame CCR5. Un numero di copie elevato del gene (3-4) costituisce un potente fattore protettivo nei riguardi dell'infezione da HIV, mentre i soggetti con un basso numero di copie (1-2) vanno incontro più facilmente all'infezione e a un decorso più rapido di questa. I soggetti afro-americani negativi per HIV hanno un numero di copie di CCL3L1 più alto (4 in media) rispetto ai soggetti ispano-americani HIV-negativi (3 copie in media) e agli europei HIV-negativi (2 copie) (26).

IL-10 E IL-4

IL-10 e IL-4 sono due citochine prodotte dai linfociti *T-helper*, che presentano effetti pleiotropici sul sistema immunitario. Si è osservato però che IL-10 è anche in grado di inibire la replicazione di HIV-1 nei macrofagi.

Un polimorfismo nella regione del promotore del gene che comporta una diminuzione dei livelli di IL-10 è stato dimostrato associarsi a un'accelerata progressione all'AIDS, con un effetto dominante (uguale sia per soggetti omozigoti IL10-5'A/IL10-5'A che eterozigoti) (27).

Anche a livello del promotore del gene per IL-4 sono stati osservati dei polimorfismi che sembrano influenzare la progressione della malattia (28). Questi dati vanno comunque interpretati con molta cautela e hanno bisogno di essere verificati da ulteriori studi.

MANNANOSE BINDING LECTIN (MBL)

MBL, proteina legante il mannosio (conosciuta anche come *mannose binding protein* o MBP), è una molecola effettrice del sistema immunitario innato. È indotta rapidamente, in contrasto con il tempo di risposta anticorpale che è di alcuni giorni: i bassi livelli sierici (mediamente sono di 1-2 µg/mL) di questa proteina aumentano rapidamente fino a tre volte durante le reazioni della fase acuta.

MBL circolante può agire direttamente come opsonina o attivando il sistema del complemento.

Il gene di MBL è stato mappato sul braccio lungo del cromosoma 10 (10q21.1).

MBL nel plasma esiste come insieme di dimeri, trimeri, tetrameri, pentameri ed esameri ed è in grado di attivare il complemento legando i carboidrati microbici di superficie. Viene sintetizzata dal fegato e si ritrova nelle secrezioni naso-faringee, nei fluidi dell'orecchio medio, nelle articolazioni infiammate, nel liquido amniotico e nel siero (29). MBL è in grado di riconoscere una vasta gamma di microrganismi, come lieviti, batteri gram-positivi, batteri gram-negativi, funghi, micobatteri e certi virus come l'HIV-1 (29-31).

La concentrazione sierica di MBL è molto variabile nell'uomo. Questa variabilità è in gran parte associata a mutazioni che portano a sostituzioni amminoacidiche nella regione *collagen-like* che riducono la stabilità di MBL o ne sfavoriscono l'assemblaggio. Molti studi dimostrano che un *deficit* di MBL è associato alla suscettibilità a un *range* di malattie infiammatorie o infettive (32).

Tre mutazioni puntiformi sono state descritte nel primo esone del gene MBL. La prima a essere scoperta è stata una mutazione G-A nel codone 54 che porta a una sostituzione Gly-Asp con conseguente calo della concentrazione della proteina (33). A questa sostituzione nucleotidica (chiamata Variante B o Mutazione B) è dovuta la maggior parte dei casi di un basso tasso di concentrazione di MBL tra gli europei (un quarto degli europei totali). Altri due polimorfismi simili si trovano al codone 52 (variante D) e al 57 (variante C) e codificano rispettivamente per una sostituzione di una arginina con una cisteina e di una glicina con un acido glutammico (34). Il gene normale o *wild-type* è designato "A" e le varianti alleliche vengono raggruppate assieme come allele "O". Tutte queste varianti sono associate a una significativa riduzione dei livelli di MBL. Per esempio, gli eterozigoti A/B hanno all'incirca un decimo della concentrazione di MBL trovata negli individui A/A, mentre negli omozigoti B/B o eterozigoti composti delle varianti non A (B/C, ecc.) i livelli di MBL scendono drasticamente (non sono rilevabili con saggi ELISA) (35).

Altri polimorfismi, che pure influenzano i livelli di MBL nel siero, sono stati descritti nella regione del promotore.

Un grande numero di articoli è stato pubblicato sull'associazione tra *deficit* di MBL e aumentata suscettibilità a diverse malattie autoimmunitarie così come infettive.

La correlazione tra infezione da HIV e MBL è stata oggetto di numerosi studi. È stato inizialmente osservato in modelli *in vitro* che l'infezione di linfociti CD4+ da parte di HIV poteva essere parzialmente inibita (25%) da MBL a concentrazioni fisiologiche (1 µg/mL) mentre il 100% dell'inibizione era raggiunto a 50 µg/mL (36).

Nielsen et al. (37) hanno determinato i livelli di MBL circolante in individui infetti da HIV: il 10% risultava avere livelli di MBL sotto la soglia misurabile, una frequenza molto maggiore rispetto al gruppo di controllo (2.4%). In un altro studio su maschi infetti da HIV, la frequenza di omozigoti per gli alleli mutati di MBL era pari all'8%, significativamente maggiore che nei controlli (38). L'assenza dell'allele A sembra dunque correlare con la suscettibilità individuale all'infezione da HIV-1, anche se altri studi non hanno confermato questi risultati (39). L'influenza di MBL sulla suscettibilità all'infezione di HIV e sullo sviluppo e sulla progressione della malattia rimane a tutt'oggi ancora controversa.

RECETTORI PER LE CHEMOCINE

CX3CR1

CX3CR1 è un recettore per le chemochine che agisce come corecettore nell'infezione da HIV, anche se il ruolo è sicuramente di secondaria importanza. Nelle popolazioni caucasiche sono state osservate tre varianti strutturali di questo gene che mostrano diversa affinità di legame per il ligando. Pazienti omozigoti per le varianti I249 ed M280 mostrano una progressione molto rapida verso l'AIDS (40). Questo effetto, in ogni modo, non è stato confermato da studi successivi (41).

CCR5

CCR5 è un recettore appartenente alla famiglia dei recettori delle chemochine. Tra i ligandi di CCR5 sono stati identificati MIP-1α, MIP-1β e RANTES (β-chemochine).

Il gene che codifica per il recettore CCR5 è stato mappato sul cromosoma 3p21 e codifica per una proteina costituita da 352 amminoacidi e di peso molecolare di circa 40.6 kDa. Questa presenta

un'omologia variabile dal 49% al 76% con altri recettori per le β -chemochine; come questi, è costituita da un dominio NH2 terminale extracellulare, 7 domini transmembrana e una regione intracellulare che ha il compito di trasdurre il segnale per mezzo delle proteine G.

CCR5 (conosciuto anche come CCR-5 e CMKBR5) è espresso nelle cellule dendritiche, in linfociti T della memoria, nella microglia e nei macrofagi tissutali. Quando i ligandi fisiologici si legano al recettore presente sulla membrana plasmatica, inizia la trasduzione del segnale che gioca un ruolo nel controllo proliferativo e differenziativo delle linee granulocitiche.

CCR5 è stato riconosciuto essere il maggior corecettore per i ceppi M-tropici di HIV-1 (18).

Nel gene per CCR5 è stata scoperta una variante allelica che porta una delezione di 32 nucleotidi nella regione codificante che sembra non avere alcun effetto patologico sui suoi portatori, né nello stato di omozigosi, né nello stato di eterozigosi. Questa variante allelica, denominata $\Delta 32$, codifica per un recettore più corto e non funzionale, in quanto crea una mutazione "frameshift" all'interno del gene. Il recettore che ne risulta non è quindi funzionale e non può sostenere la fusione dei ceppi M-trofici del virus con le membrane dei macrofagi. Il risultato è che soggetti omozigoti per questo allele risultano fortemente protetti nei confronti dell'infezione da HIV (42).

Alcuni individui, benché omozigoti per $\Delta 32$, sono stati tuttavia infettati da virus T-trofici. Adulti e bambini eterozigoti per l'allele CCR5- $\Delta 32$ non mostrano alcuna protezione nei confronti dell'infezione da HIV-1 ma progrediscono più lentamente all'AIDS e alla morte rispetto a individui CCR5 wild-type (43).

La frequenza dell'allele CCR5- $\Delta 32$ è maggiore nella popolazione caucasica (4.8-5.9%), mentre è quasi assente nella popolazione di origine africana (1.4-2%), ispanica (2.4%) e giapponese e nei nativi americani.

In letteratura sono state descritte anche altre mutazioni, associate alla resistenza all'infezione sia nella regione codificante del gene CCR5 (303A→T; 59029 A-G) sia a livello della regione del promotore (CCR5-59353T/C, CCR5-59356C/T, CCR5-59402A/G). Le prime risultano associate a un tasso relativamente lento di progressione della patologia, le seconde conferiscono invece suscettibilità (44). Il genotipo CCR5-59356T/T è stato dimostrato essere in grado di aumentare significativamente il tasso di trasmissione perinatale di HIV-1 (45). Questa mutazione è stata trovata con frequenza più alta tra gli afro-americani (20.6%) che non tra gli ispanici (5.6%) o le popolazioni caucasiche (3.4%) (44). Adulti HIV-infetti omozigoti CCR5-59353C/C e

CCR5-59356C/C si sono dimostrati progredire più velocemente verso l'AIDS rispetto a quelli che presentano altri aplotipi.

Queste conoscenze sul ruolo di protezione delle mutazioni di CCR5 nell'infezione da HIV hanno avuto importanti ricadute nelle pratiche terapeutiche: per esempio, il trapianto di cellule staminali emopoietiche da donatore HLA-identico ma omozigote per l'allele $\Delta 32$ è stato in grado di curare un paziente con HIV (46).

I RECETTORI IMMUNOGLOBULIN-LIKE DELLE CELLULE NATURAL KILLER (KIR)

I KIR sono recettori a singola catena, appartenenti alla famiglia delle immunoglobuline.

Ognuno di questi recettori riconosce un determinato set di molecole HLA di classe I (Tab. II). La loro tipizzazione molecolare ha evidenziato come molecole codificate da diversi mRNA possano mostrare la stessa specificità allelica, ma reattività opposta. Questo fenomeno è stato spiegato con la scoperta che molti KIR sono tra loro omologhi per quanto riguarda la porzione extracellulare, responsabile del loro riconoscimento HLA-ristretto, mentre differiscono per quanto riguarda i domini transmembrana e citoplasmatico.

Non si conoscono ancora tutti i ligandi per ciascun KIR attivatorio, ma vista la loro frequente omologia con le controparti inibitorie, si ritiene che riconoscano lo stesso allele HLA (47). È importante anche notare che non c'è un KIR per ogni specifica molecola MHC di classe I, ma che ogni coppia di KIR riconosce determinanti condivisi da un grup-

TABELLA II - CARATTERISTICHE STRUTTURALI E SPECIFICITÀ DI LEGAME DEI RECETTORI KIR

KIR	Domini Ig	Residuo	LIGANDO
2DL1	D1-D2	-	HLA-C gruppo 2
2DL2.3	D1-D2	-	HLA-C gruppo 1
2DL4	D0-D2	Arg	HLA-G
2DL5.1	D0-D2	-	-
2DL5.2	D0-D2	-	-
2DS1	D1-D2	Lys	HLA-C gruppo 2
2DS2	D1-D2	Lys	HLA-C gruppo 1
2DS3.5	D1-D2	Lys	-
2DS4	D1-D2	Lys	-
1D	-	-	-
3DL1	D0-D1-D2	-	HLA-Bw4
3DL2	D0-D1-D2	-	HLA-A
3DS1	D0-D1-D2	Lys	-

po di molecole MHC. HLA-C è l'isotipo di classe I maggiormente coinvolto nella regolazione della funzione delle cellule NK. A seconda che abbiano rispettivamente 2 o 3 domini immunoglobulino-simili essi vengono denominati con i suffissi 2D (p58/p50) e 3D (p70/p140). Le lettere L (*Long*) e S (*Short*) indicano invece se i recettori possiedono un dominio intracitoplasmatico lungo o corto, che corrisponde, rispettivamente, a un'attività inibitoria o attivatoria. Nella denominazione dei KIR, infine, il numero che segue la lettera L o S identifica ciascun gene/molecola e le cifre dopo l'asterisco caratterizzano l'allele. La distribuzione dei KIR all'interno di una popolazione di cellule NK di un individuo è eterogenea. I geni KIR posseduti da una persona non vengono espressi necessariamente in tutte le cellule NK e quindi ogni cellula ha un fenotipo KIR caratteristico. Una volta che una cellula è stata indirizzata a esprimere una particolare combinazione di geni KIR, il *pattern* di espressione rimane stabile nel tempo e durante la divisione cellulare (47).

Visto l'elevato numero di recettori presenti sulla superficie cellulare, la loro attività deve essere regolata e coordinata finemente per ottenere la funzione richiesta (attivatoria o inibitoria).

I RECETTORI INIBITORI

Si ritiene che questa sottoclasse dei KIR abbia il compito di proteggere le cellule normali da aggressioni autologhe da parte delle cellule NK. I KIR inibitori, infatti, mediano il loro segnale in presenza, sulla superficie delle cellule bersaglio, dei loro ligandi HLA. Nel caso in cui vi sia una *down-regolazione* delle molecole HLA, per esempio nel caso di infezioni virali o di trasformazioni neoplastiche, essi non sono più in grado di mediare il loro segnale inibitorio e, di conseguenza, le cellule bersaglio diventano suscettibili alla lisi da parte delle cellule NK. Questo meccanismo consente quindi al sistema immunitario di superare l'"*immune escape*" che *virus* e tumori innescano attraverso la *down-regolazione* delle molecole HLA.

I RECETTORI ATTIVATORI

Il loro ruolo non è ancora del tutto chiarito, tanto più che nella stessa cellula possono essere presenti coppie di KIR con attività opposta. Questi recettori riconoscono il ligando con meno affinità rispetto alla controparte inibitoria e si ritiene, quindi, che la loro azione stimolatoria sull'attività citotossica e sulla produzione di citochine possa

verificarsi solo nel caso in cui, nello stesso momento, il segnale inibitorio sia *down-regolato*, scendendo sotto una soglia critica. Questo meccanismo, probabilmente, serve ad assicurare una prevalenza del segnale inibitorio su quello attivatorio, nel caso in cui la singola cellula coesprima i due tipi di recettori. In particolare, se la cellula NK esprime contemporaneamente recettori attivatori e inibitori con specificità diversa per le molecole HLA di classe I, i KIR attivatori entrerebbero in funzione solo dopo che la cellula bersaglio abbia perso in maniera selettiva tutti gli alleli HLA riconosciuti dai KIR inibitori. Questo meccanismo è stato già dimostrato in alcuni tumori o in infezioni virali. Il segnale attivatorio può risultare predominante anche nel caso in cui i recettori attivatori siano sovraespressi, coprendo, di conseguenza, il segnale inibitorio.

I recettori KIR sono codificati da una famiglia di geni che mappano sul cromosoma 19 (19q13.4), in una regione chiamata *Leucocyte Receptor Complex* (LRC). I geni e gli pseudogeni KIR ricadono tutti in una zona specifica del LRC e costituiscono una regione che può essere costituita da 8 a 14 *loci*, ordinati in maniera sequenziale lungo il cromosoma. Tale regione è estremamente variabile e allo stesso tempo altamente organizzata. La caratteristica che maggiormente contribuisce alla variabilità della regione genomica KIR è certamente il suo polimorfismo genetico, che è dovuto principalmente a due meccanismi: le mutazioni puntiformi e la ricombinazione omologa (47). Tale polimorfismo ricorda quello della regione genica MHC, anche se risulta essere di entità minore, a causa, presumibilmente, del numero limitato di geni KIR conosciuti.

Questa regione, inoltre, si caratterizza per un'ampia variabilità alplotipica tra individuo e individuo, che riguarda sia il contenuto genico, sia il numero dei geni presenti. Il fattore che maggiormente contribuisce alla variabilità della regione è costituito dal polimorfismo dei geni KIR, che presentano alleli multipli conosciuti e, presumibilmente, altri ancora non identificati per ciascun *locus*. Il vantaggio di tale variabilità è, probabilmente, la diversificazione della risposta immunitaria, in un contesto di patogeni a rapido cambiamento, come HIV (48).

Alcuni polimorfismi dei geni che codificano per KIR (e in combinazione dei polimorfismi HLA che ne sono i ligandi) si associano a un migliore controllo di replicazione virale in assenza di una terapia antiretrovirale: è stata infatti dimostrata un'interazione tra HLA-Bw4-Ile4 e KIR3DS1, che, quando presente, porta all'attivazione di NK e all'eliminazione di cellule HIV-infette (48, 49).

SUSCETTIBILITÀ ALLA REAZIONE AI FARMACI ANTIRETROVIRALI

Molti farmaci usati per il trattamento della malattia da HIV (comprese le infezioni opportunistiche associate) possono causare reazioni di ipersensibilità, che variano in gravità, manifestazioni cliniche e frequenza. Queste reazioni non sono solo registrate con i farmaci di prima generazione, ma anche con i nuovi farmaci più recentemente introdotti. La patogenesi non è sempre chiara, ma vi è una crescente evidenza a sostegno del fatto che la reazione ai farmaci sia da considerare multifattoriale, dovuta a una combinazione di fattori ambientali e di fattori genetici, molte volte a carico di polimorfismi di geni coinvolti nella risposta immunitaria, *in primis* il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC). La predisposizione genetica al verificarsi di queste reazioni allergiche è stata dimostrata per alcuni farmaci usati per la terapia dell'infezione da HIV. In particolare, uno dei farmaci antiretrovirali più utilizzati (Abacavir) è responsabile di un'ipersensibilità che è fortemente associata all'allele MHC di classe I, HLA-B*5701 (50). L'identificazione di questa variante prima della prescrizione di Abacavir ha dimostrato di essere di utilità clinica: i soggetti che risultano positivi per HLA-B*5701 sono esclusi dal trattamento con Abacavir e ricevono altre terapie antiretrovirali. Questo ha permesso di ridurre (fino ad azzerare) le reazioni avverse dovute a questo farmaco. Di conseguenza, queste evidenze hanno indotto la FDA a variare l'etichetta del farmaco ed è ora raccomandata dalle Linee Guida cliniche l'esecuzione del *test* HLA-B*5701 prima dell'avvio della scelta terapeutica antiretrovirale, procedura che viene praticata nella maggior parte dei paesi occidentali.

SUSCETTIBILITÀ ALLA NEFROPATIA ASSOCIATA ALL'HIV

La nefropatia più comune nei pazienti HIV è la nefropatia associata all'HIV (o "HIVAN", *HIV-associated nephropathy*), una glomerulosclerosi focale segmentaria che conduce all'insufficienza renale cronica. La HIVAN compare prevalentemente nelle persone di colore (51).

Secondo i dati provenienti dal *Renal Data System* degli Stati Uniti (USRDS), quasi il 90% dei pazienti statunitensi affetti da stadio terminale della malattia renale (ESRD) attribuito all'HIV (HIVAN) è di origine afro-americana. La quota sproporzionata di HIVAN e di ESRD HIV-correlata nei pazienti di origine africana è coerente con una forte predisposizione genetica. Il modello animale classico di HIVAN, un topo

transgenico per HIV che esprime geni di HIV in diversi tessuti ("transgenico 26" o "Tg26"), ha anche un fenotipo renale variabile a seconda del *background* murino. Questa variabilità fenotipica ha permesso l'identificazione di potenziali *loci* di suscettibilità genetica nei topi; tuttavia, solo nel 2008 alcuni studi hanno identificato un *locus* genetico associato alla suscettibilità all'HIVAN in soggetti di origine afro-americana. Uno studio genetico chiamato "*mapping admixture linkage disequilibrium*" (MALD) applicato alla FSGS ha identificato nei pazienti afro-americani una forte associazione tra la GSFS sia idiopatica sia HIV-associata e polimorfismi del gene MYH9, che codifica per una catena pesante della miosina IIA non muscolare (52). L'associazione più forte era a carico di un polimorfismo a singolo nucleotide (SNP) in MYH9. Mutazioni mendeliane in MYH9 erano state precedentemente associate ad alcune nefropatie a carattere mendeliano, con fenotipo simil-Alport. Ulteriori analisi hanno dimostrato un forte legame con diversi SNP in MYH9, che sono stati trovati anche associati con il rischio di ESRD in soggetti ipertesi. Nonostante la forte associazione di polimorfismi MYH9 con il rischio di HIVAN, diverse questioni rimanevano aperte. In primo luogo, quasi un terzo dei controlli afro-americani era omozigote per l'aplotipo di rischio più importante, il che suggeriva che altri fattori genetici o ambientali fossero implicati. In secondo luogo, questi studi non chiarivano il meccanismo di associazione osservata, e nessuno degli SNP coinvolti era in grado di influenzare direttamente la trascrizione o la traduzione del gene. Queste incognite hanno stimolato ulteriori indagini della regione di suscettibilità sul cromosoma 22, con la successiva identificazione di un'associazione più forte con polimorfismi del gene adiacente APOL1, che codifica l'apolipoproteina L1 (53). L'analisi iniziale dei dati di 205 casi e di 180 controlli ha identificato due alleli in APOL1 che risultavano fortemente associati con il rischio di GSFS, e ulteriori analisi hanno suggerito un modello di ereditarietà recessiva. Questa associazione è stata validata in una popolazione più ampia di afro-americani ipertesi con e senza malattia renale. Gli alleli APOL1 di rischio sono stati anche annotati per essere presenti solo tra i partecipanti di origine africana del progetto 1000 Genomi e ulteriori analisi statistiche hanno suggerito che l'affermazione di questi alleli nelle popolazioni africane dovesse dipendere da un loro vantaggio selettivo. Poiché è noto che il prodotto genico di ApoL1 è in grado di lisare il parassita tripanosoma *Brucei Brucei* africano, gli Autori hanno ipotizzato che gli alleli di rischio aumentassero l'attività tripanolitica nel siero umano, conferendo così un vantaggio selettivo. Una serie

di studi *in vitro* ha confermato la capacità del siero umano contenente almeno una copia di un allele di rischio per HIVAN di lisare una sottospecie endemica di tripanosoma del Sud-Est africano (53). Il meccanismo ipotizzato dagli Autori per la selezione positiva degli alleli di rischio di APOL1 è analogo al vantaggio selettivo degli eterozigoti per il tratto falciforme in regioni dove la malaria è endemica. I due alleli APOL1 di rischio identificati sono stati dimostrati essere in forte legame di associazione (*linkage disequilibrium*) con il più importante aplotipo di rischio MYH9, e l'associazione tra APOL1 e la malattia renale è rimasta significativa dopo l'aggiustamento per questa e altre combinazioni di alleli MYH9. Gli Autori hanno concluso che l'associazione osservata in precedenza tra MYH9 e la malattia renale era spiegata dalla presenza dell'aplotipo MYH9 di rischio nella maggior parte degli aplotipi contenenti uno degli alleli di rischio APOL1. Nonostante l'associazione statistica robusta e un'ipotesi interessante per spiegare l'alta frequenza di alleli APOL1 di rischio nelle popolazioni africane, non vi è alcun meccanismo biologico noto per l'aumento del rischio di GSFS associata a queste varianti. Al tempo stesso, sono stati condotti ulteriori studi sul potenziale ruolo di MYH9 nella patogenesi delle malattie renali, sebbene, nel modello murino, si siano ottenuti dati incongruenti con la patologia umana: nel topo, la delezione MYH9 è letale se presente in omozigosi mentre la delezione in eterozigosi non mostra alcun fenotipo renale in quello eterozigote. Alcuni prodotti dei geni di suscettibilità associati allo sviluppo dell'HIVAN nel modello murino Tg26 hanno mostrato di regolare l'espressione di MYH9, insieme ad altri geni podocitari, risultato che suggerisce che questi *loci* potrebbero essere coinvolti in un percorso patogenetico comune. Più recentemente, nel modello murino, la delezione di MYH9, confinata però solo nei podociti, predispone allo sviluppo di glomerulopatia da adriamicina, suggerendo che l'assenza o la ridotta espressione di MYH9 nei podociti può predisporre a malattie renali nel contesto di un altro stimolo.

IMPLICAZIONI CLINICHE DERIVATE DALLE CONOSCENZE DELLA SUSCETTIBILITÀ ALL'INFEZIONE DA HIV

Gli studi di associazione tra polimorfismi genetici e infezione da HIV o progressione dell'AIDS, che ultimamente si sono arricchiti con studi GWAS (54-56), non hanno però portato a ricadute rilevanti nella pratica sanitaria, sebbene abbiano contribuito a chiarire alcuni meccanismi patogenetici e a comprendere meglio la variabilità individuale all'infezione da HIV e alla progressione della malattia.

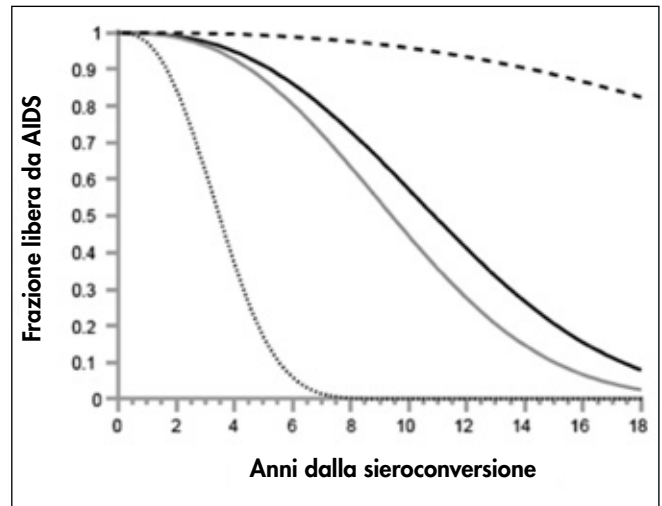


Fig. 1 - Esito dell'infezione in relazione alla combinazione genotipica dei pazienti esposti all'HIV: pazienti con combinazioni tutte di resistenza (linea tratteggiata), con varianti genetiche tutte di rischio (linea a puntini) o con combinazioni in cui i fattori di rischio o di suscettibilità si combinano in maniera casuale.

TABELLA III - FATTORI GENETICI DI SUSCETTIBILITÀ O RESISTENZA ALL'INFEZIONE DA HIV E ALLA PROGRESSIONE DELL'AIDS

Gene	Suscettibilità	Resistenza
CCR5		D32
CCL3		Più copie
SDF-1	3'A (Progr)	
MBL2	Gly54Asp	
HLA	B35 (Progr)	B27 B51 B57
KIR		3DS1(Bw480I)

La Tabella III riassume i fattori genetici maggiormente implicati nella suscettibilità o nella resistenza all'infezione.

Numerose altre varianti genetiche possono poi contribuire alla variabilità individuale, ciascuna con un peso sempre minore. È la risultanza di tutta la variabilità genetica nella risposta all'HIV che alla fine determina il fenotipo osservato. Poiché le diverse varianti genetiche di rischio o di resistenza alla malattia si distribuiscono in maniera *random*, sarà poco probabile che in un individuo si combinino tutte le varianti di suscettibilità o tutte quelle di resistenza. Assisteremo a una distribuzione casuale: saranno poco frequenti nella popolazione individui con varianti genetiche tutte di resistenza (la linea tratteggiata della Fig. 1). Questi individui saranno però quelli che più facilmente resisteranno all'infezione o,

se infettati, che progrediranno lentamente nella malattia. Pure molto rari saranno i soggetti che presentano un cumulo di varianti di suscettibilità, che renderà il decorso della malattia molto rapido. La maggior parte della popolazione avrà una combinazione più o meno equivalente di fattori genetici di rischio e di resistenza: una singola variante genetica non influenzerà in maniera rilevante l'esito dell'infezione.

RIASSUNTO

Trent'anni dopo la scoperta del Virus dell'Immunodeficienza Umana (HIV) come causa della Sindrome da Immunodeficienza Severa Acquisita (AIDS), ancora non sono disponibili vaccini efficaci e neppure una cura per la malattia. La suscettibilità all'infezione da HIV mostra un notevole grado di eterogeneità individuale, che può essere in gran parte dovuta alla variabilità genetica dell'ospite. Nello sforzo di scoprire i fattori dell'ospite necessari alla replicazione virale, di identificare i percorsi patogenetici cruciali e di riconoscere le modalità con cui si sviluppa la risposta di difesa dell'ospite, si è assistito, negli ultimi tempi, a un cambiamento degli approcci usati per la valutazione dei geni coinvolti, partendo da studi

*di associazione con geni candidati per arrivare a studi di associazione su scala genomica e a studi funzionali. Malgrado ciò, il numero di fattori genetici coinvolti nella suscettibilità alle malattie causate dall'infezione da HIV rimane esiguo, in grado di spiegare solo il 15-20% circa dell'eterogeneità osservata, la maggior parte della quale è da attribuire a polimorfismi degli antigeni leucocitari umani (HLA). Studi genetici hanno, tuttavia, permesso di chiarire meglio quali variazioni genetiche siano alla base delle reazioni avverse ad alcuni farmaci antiretrovirali (come, per esempio, HLA-B*5701 nella terapia con Abacavir) o delle complicanze renali nella progressione della malattia, con già possibili ricadute nella pratica sanitaria.*

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

CONTRIBUTI ECONOMICI AGLI AUTORI

Gli Autori dichiarano di non aver ricevuto sponsorizzazioni economiche per la preparazione dell'articolo.

BIBLIOGRAFIA

1. Manolio TA. Genomewide Association Studies and Assessment of the Risk of Disease. *N Engl J Med* 2010; 363 (2): 166-76.
2. Klein R, Xu X, Mukherjee S, Willis J, Hayes J. Successes of Genome-wide Association Studies. *Cell* 2010; 142 (3): 350-1.
3. Fauci AS. 25 Years of HIV/AIDS Science. Reaching the Poor with Research Advances. *Cell* 2007; 131 (3): 429-32.
4. Simon V, Ho DD, Karim QA. HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and Treatment. *Lancet* 2006; 368: 489-504.
5. Cavert W. Viral infections in human immunodeficiency virus disease. *Med Clin North Am* 1997; 81 (2): 411-26.
6. Douek DC, Betts MR, Brenchley JM, et al. A novel approach to the analysis of specificity, clonality, and frequency of HIV-specific T cell responses reveals a potential mechanism for control of viral escape. *J Immunol* 2002; 168 (6): 3099-104.
7. [No authors listed]. Children born to women with HIV-1 infection: natural history and risk of transmission. *European Collaborative Study* 1991; 337 (8736): 253-60.
8. The MHC Sequencing Consortium. Complete structure and gene map of a human major histocompatibility complex (MHC). *Nature* 1999; 401: 921-3.
9. Horton R, Wilming L, Rand V, et al. Gene map of the extended human MHC. *Nat Rev Genet* 2004; 5: 889-99.
10. Martin MP, Carrington M. Immunogenetics of viral infections. *Curr Opin Immunol* 2005; 17 (5): 510-6.
11. Al Jabri AA. HLA and in vitro susceptibility to HIV infection. *Mol Immunol* 2002; 38 (12-13): 959-67.
12. Carrington M, Walker BD. Immunogenetics of spontaneous control of HIV. *Annu Rev Med* 2012; 63: 131-45.
13. Polycarpou A, Ntais C, Korber BT, et al. Association between maternal and infant class I and II HLA alleles and of their concordance with the risk of perinatal HIV type 1 transmission. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2002; 18 (11): 741-6.
14. Shiina T, Hosomichi K, Inoko H, Kulski JK. The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease. *J Hum Genet* 2009; 54: 15-39.
15. Gao X, Nelson GW, Karacki P, et al. Effect of a single amino acid change in MHC class I molecules on the rate of progression to AIDS. *N Engl J Med* 2001; 344: 1668-75.
16. Moore CB, John M, James IR, Christiansen FT, Witt CS, Mallal SA. Evidence of HIV-1 adaptation to HLA-restricted immune response at a population level. *Science* 2003; 296: 1439-43.
17. Carrington M, Nelson GW, Martin MP, et al. HLA and HIV-1: Heterozygote advantage and B*35-Cw*04 disadvantage. *Science* 1999; 283: 1748-52.
18. Alkhatib G, Berger EA, Murphy PM, Pease JE. Determinants of HIV-1 coreceptor function on CC chemokine receptor 3. Importance of both extracellular and transmembrane/cytoplasmic regions. *J Biol Chem* 1997; 272 (33): 20420-6.
19. Winkler C, Modi W, Smith MW, et al. Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant. *ALIVE Study, Hemophilia Growth and Development Study (HGDS), Multicenter AIDS Cohort Study (MACS), Multicenter Hemophilia Cohort Study (MHCS), San Francisco City Cohort (SFCC)*. *Science* 1998; 279 (5349): 389-93.
20. Hendel H, Hénon N, Lebuaneq H, et al. Distinctive effects of CCR5, CCR2, and SDF1 genetic polymorphisms in AIDS progression. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum*

- Retrovirology 1998; 19 (4): 381-6.
21. Magierowska M, Theodorou I, Debré P, et al. Combined genotypes of CCR5, CCR2, SDF1, and HLA genes can predict the long-term nonprogressor status in human immunodeficiency virus-1-infected individuals. *Blood* 1999; 93 (3): 936-41.
 22. Brambilla A, Villa C, Rizzardì G, et al. Shorter survival of SDF1-3'A/3'A homozygotes linked to CD4+ T cell decrease in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Infect Dis* 2000; 182 (1): 311-5.
 23. John GC, Rousseau C, Dong T, et al. Maternal SDF1 3'A polymorphism is associated with increased perinatal human immunodeficiency virus type 1 transmission. *J Virol* 2000; 74 (12): 5736-9.
 24. Ullum H, Cozzi Lepri A, et al. Production of beta-chemokines in human immunodeficiency virus (HIV) infection: evidence that high levels of macrophage inflammatory protein-1beta are associated with a decreased risk of HIV disease progression. *J Infect Dis* 1998; 177 (2): 331-6.
 25. Liu H, Shioda T, Nagai Y, et al. Distribution of HIV-1 disease modifying regulated on activation normal T cell expressed and secreted haplotypes in Asian, African and Caucasian individuals. French ALT and IMMUNOCO Study Group. *AIDS* 1999; 13 (18): 2602-3.
 26. Gonzalez E, Kulkarni H, Bolivar H, et al. The influence of CCL3L1 gene-containing segmental duplications on HIV-1/AIDS susceptibility. *Science* 2005; 307 (5714): 1434-40.
 27. Griffiths PD. Interactions between viral and human genes. *Rev Med Virol* 2002; 12 (4): 197-9.
 28. Nakayama EE, Meyer L, Iwamoto A, et al. Protective effect of interleukin-4-589T polymorphism on human immunodeficiency virus type 1 disease progression: relationship with virus load. *J Infect Dis* 2002; 185 (8): 1183-6.
 29. Turner MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol Immunol* 2003; 40 (7): 423-9.
 30. Garred P, Brygge K, Sørensen CH, Madsen HO, Thiel S, Svejgaard A. Mannan-binding protein-levels in plasma and upper-airways secretions and frequency of genotypes in children with recurrence of otitis media. *Clin Exp Immunol* 1993; 94 (1): 99-104.
 31. Saifuddin M, Hart ML, Gewurz H, Zhang Y, Spear GT. Interaction of mannose-binding lectin with primary isolates of human immunodeficiency virus type 1. *J Gen Virol* 2000; 81 (4): 949-55.
 32. Presanis JS, Kojima M, Sim RB. Biochemistry and genetics of mannan-binding lectin (MBL). *Biochem Soc Trans* 2003; 31 (4): 748-52.
 33. Sumiya M, Super M, Tabona P, et al. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet* 1991; 337 (8757): 1569-70.
 34. Turner MW, Lipscombe RJ, Levinsky RJ, et al. Mutations in the human mannose binding protein gene: their frequencies in three distinct populations and relationship to serum levels of the protein. *Immunodeficiency* 1993; 4 (1-4): 285-7.
 35. Super M, Thiel S, Lu J, Levinsky RJ, Turner MW. Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonisation. *Lancet* 1989; 2 (8674): 1236-9.
 36. Ezekowitz RA, Kuhlman M, Groopman JE, Byrn RA. A human serum mannose-binding protein inhibits in vitro infection by the human immunodeficiency virus. *J Exp Med* 1989; 169 (1): 185-96.
 37. Nielsen SL, Andersen PL, Koch C, Jensenius JC, Thiel S. The level of the serum opsonin, mannan-binding protein in HIV-1 antibody-positive patients. *Clin Exp Immunol* 1995; 100 (2): 219-22.
 38. Garred P, Madsen HO, Balslev U, et al. Susceptibility to HIV infection and progression of AIDS in relation to variant alleles of mannose-binding lectin. *Lancet* 1997; 349 (9047): 236-40.
 39. McBride MO, Fischer PB, Sumiya M, et al. Mannose-binding protein in HIV-seropositive patients does not contribute to disease progression or bacterial infections. *Int J STD AIDS* 1998; 9 (11): 683-8.
 40. Faure S, Meyer L, Costagliola D, et al. Rapid progression to AIDS in HIV+ individuals with a structural variant of the chemokine receptor CX3CR1. *Science* 2000; 287 (5461): 2274-7.
 41. McDermott DH, Colla JS, Kleeberger CA, et al. Genetic polymorphism in CX3CR1 and risk of HIV disease. *Science* 2000; 290 (5499): 2031.
 42. Liu R, Paxton WA, Choe S, et al. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell* 1996; 86 (3): 367-77.
 43. Mulherin SA, O'Brien TR, Ioannidis JP, et al. Effects of CCR5-Delta32 and CCR2-64I alleles on HIV-1 disease progression: the protection varies with duration of infection. *AIDS* 2003; 17 (3): 377-87.
 44. McDermott DH, Zimmerman PA, Guignard F, Kleeberger CA, Leitman SF, Murphy PM. CCR5 promoter polymorphism and HIV-1 disease progression. Multicenter AIDS Cohort Study (MACS). *Lancet* 1998; 352 (9131): 866-70.
 45. Kostrikis LG, Neumann AU, Thomson B, et al. A polymorphism in the regulatory region of the CC-chemokine receptor 5 gene influences perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 to African-American infants. *J Virol* 1999; 73 (12): 10264-71.
 46. Hütter G, Nowak D, Mossner M, et al. Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2009; 360 (7): 692-8.
 47. Campbell KS, Purdy AK. Structure/function of human killer cell immunoglobulin-like receptors: lessons from polymorphisms, evolution, crystal structures and mutations. *Immunology* 2011; 132 (3): 315-25.
 48. Fadda L, Alter G. KIR/HLA: genetic clues for a role of NK cells in the control of HIV. *Adv Exp Med Biol* 2011; 780: 27-36.
 49. Bashirova AA, Thomas R, Carrington M. HLA/KIR restraint of HIV: surviving the fittest. *Annu Rev Immunol* 2011; 29: 295-317.
 50. Mallal S, Nolan D, Witt C, et al. Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet* 2002; 359 (9308): 727-32.
 51. Wyatt CM, Meliambro K, Klotman PE. Recent Progress in HIV-Associated Nephropathy. *Annu Rev Med* 2012; 63: 147-59.
 52. Kopp JB, Smith MW, Nelson GW, et al. MYH9 is a major-effect risk gene for focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 2008; 40 (10): 1175-84.
 53. Genovese G, Friedman DJ, Ross MD, et al. Association of trypanolytic ApoL1 variants with kidney disease in African Americans. *Science* 2010; 329 (5993): 841-5.
 54. Le Clerc S, Limou S, Coulonges C, et al. Genomewide association study of a rapid progression cohort identifies new susceptibility alleles for AIDS (ANRS Genomewide Association Study 03). *J Infect Dis* 2009; 200 (8): 1194-201.
 55. Joubert BR, Lange EM, Franceschini N, Mwapasa V, North KE, Meshnick SR. A whole genome association study of mother-to-child transmission of HIV in Malawi. *Genome Med* 2010; 2 (3): 17.
 56. van Manen D, Delaneau O, Kootstra NA, et al. Genome-wide association scan in HIV-1-infected individuals identifying variants influencing disease course. *PLoS One* 2011; 6 (7): e22208.