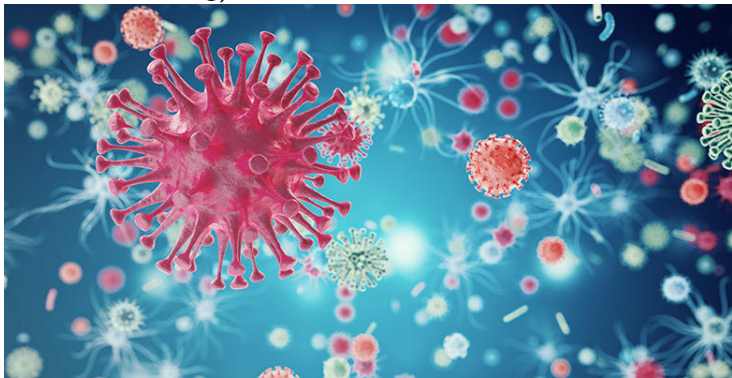


La terapia "combinata" per l'HIV (D. Ho e coll.)

("Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection" Nature(1995) 373, 123-126)

(Articolo al sito elearning)



Obiettivo: studio delle proprietà dell'HIV

Per studiare le caratteristiche del virus dell'HIV e mettere a punto una terapia e' necessario, per prima cosa, conoscere sia la "carica virale" (numero di copie dell'RNA virale $/\mu\text{l}$ presenti nel sangue) che la quantità di anticorpi prodotti dall'organismo per contrastare il virus. Il lavoro di D. Ho et al. si occupa di questi problemi.

Carica virale

A questo scopo ricordiamo che che l'HIV e' un RNA virus (retrovirus).
Questo vuol dire che

- (a) quando il virus infetta un organismo, l'enzima della trascrittasi inversa, trasportato dal virus stesso, permette la produzione di una copia del DNA dall'RNA
- (b) il DNA del virus viene integrato in quello di una cellula ospite grazie all'azione di un nuovo enzima, l'integrasi.
- (c) La proteasi e' infine l'enzima che permette la maturazione, la replicazione e l'infettivita' virale all'interno della cellula ospite (se si inibisce l'azione della proteasi tutti i processi citati non si realizzano)

Per questo motivo gli inibitori della proteasi dell'HIV, entrati sul mercato a partire del 1995, si sono dimostrati agenti terapeutici molto importanti (anche in combinazione con inibitori della trascrittasi inversa) per la cura della malattia.

Per personalizzare i dosaggi degli inibitori è necessario conoscere la carica virale di ogni ammalato.

L'efficace associazione terapeutica degli inibitori è nota come HAART: Highly Active Antiretroviral Therapy. Purtroppo, spesso il virus va incontro a mutazioni che portano alla farmaco-resistenza, e ciò spinge ad intensi sforzi per la ricerca di nuovi composti chimici.

Osservazione preliminare: quale modello?

La replicazione del virus avviene per gemmazione (duplicazione), quindi se $V(t)$ descrive la numerosità di cellule virali (copie dell'RNA) al tempo t , trascurando la mortalità, il modello più adatto è esponenziale:

$$V(t) = V(0)2^t.$$

In una scala di tempi opportuna, la legge di duplicazione

$V(t) = V(0)2^t$ e' equivalente alla crescita malthusiana

$V(t) = V(0)e^{rt}$, $r = n - m$.

(Il fenomeno della duplicazione puo' essere descritto quantitativamente da una qualunque delle due leggi). Infatti

Per definizione, misuriamo il tempo t con la nuova unita' di misura

$$T = (t \ln 2)/r,$$

($\Rightarrow t = t(T) = rT/\ln 2$) Ad es. se nella scala t si ha $t = 5$, nella scala T risulta $T = (5 \ln 2)/r \approx 3.46/r$.

La legge di duplicazione si riscrive

$$V(t(T)) = V(T) = V(0)2^{t(T)} = V(0)2^{rT/\ln 2}$$

Calcolando il logaritmo naturale di ambo i membri si ha

$$\begin{aligned}\ln V(T) &= \ln(V(0) \cdot 2^{rT/\ln 2}) = \ln V(0) + \frac{rT}{\ln 2} \ln 2 = \\ &= \ln V(0) + rT\end{aligned}$$

$$\ln V(T) - \ln V(0) = \ln[V(T)/V(0)] = rT$$

Calcolando l'esponenziale di ambo i membri si ha

$$V(T)/V(0) = e^{rT} \Rightarrow V(T) = V(0)e^{rT}$$

Si ricorda che la funzione $V(T) = V(0)e^{rT}$ è la soluzione dell'equazione differenziale di tipo malthusiano $V'(t) = rV(t)$ (r tasso netto di variazione della numerosità).

Per l'HIV l'equazione che regola la variazione della numerosità è in realtà un pò diversa.

Infatti si può osservare che la numerosità $V(t)$ varia, principalmente, a causa dell'immissione, costante, di nuove cellule virali e per l'eliminazione di una certa percentuale di cellule che muore naturalmente o vien annientata dal sistema immunitario.

Un modello ragionevole è quindi quello con immigrazione costante

$$V'(t) = -cV(t) + P$$

$$V(0) = V_0$$

dove P è la carica virale e c il tasso proprio di decadimento delle cellule virali.

Nella fase di pseudolatenza si verifica sperimentalmente che, almeno approssimativamente, le cellule virali non variano in numero, deve essere quindi $V(t) = V_{eq} = \text{costante}$ e dunque $V'(t) = 0$.

Ma $V'(t) = -cV(t) + P = 0$ implica

$$cV(t) = P$$

per tutti i tempi ($V(t) = V_0 = P/c$).

STIMA del VALORE di c tasso proprio di decadimento

Se al malato si somministra un inibitore della proteasi, si ha $P = 0$ (non vi è, almeno approssimativamente, produzione di nuove cellule virali) e il modello diventa

$$V'(t) = -cV(t)$$

$$V_0 = P/c$$

la soluzione dell'equazione differenziale è'

$$V(t) = V_0 e^{-ct} = (P/c) e^{-ct}$$

(N.B. E' sperimentalmente provato che l'inibitore della proteasi non influenza il valore di c)

Per calcolare c , osserviamo che, nel decadimento, esiste un tempo $t_{1/2}$ in cui il numero delle cellule e' dimezzato cioe'

$$V(t_{1/2}) = P/(c)e^{-ct_{1/2}} = V(0)/2.$$

Semplificando, la relazione $V(0)/2 = P/(2c) = P/(c)e^{-ct_{1/2}}$ implica

$$e^{-ct_{1/2}} = 1/2 \quad \Rightarrow \quad e^{ct_{1/2}} = 2.$$

Calcolando il logaritmo naturale di ambo i membri si ha

$$\ln(e^{ct_{1/2}}) = ct_{1/2} = \ln 2$$

e quindi

$$c = \ln 2/t_{1/2}$$

I dati sperimentali mostrano che in media si ha $t_{1/2} = 2.1 \pm 0.4$ giorni .
Inoltre $\ln 2 \approx 0.7$ quindi il tasso di decadimento del virus é

$$c \approx 0.33 \pm 0.06 \text{ giorni}^{-1}.$$

(ogni giorno muore circa 1/3 delle cellule)

Si può ora stimare del valore di P .

Infatti se si ricava con opportune analisi il valore sperimentale di V
($10^6 < V_{eq} < 10^7$ cellule virali per cm^3) segue

$$10^6(0.33 \pm 0.06) < P < 10^7(0.33 \pm 0.06) \text{ cellule per } cm^3.$$

Come si deve interpretare questo risultato?

Nella fase di pseudolatenza, anche se si inibisce farmacologicamente la produzione di cellule infette, l'ordine di grandezza delle cellule infette presenti é di milioni di cellule.

Visto che il decadimento delle cellule virali é grande, questo risultato dice anche che il virus deve necessariamente continuare a replicarsi altrove; studi sperimentali hanno mostrato che ciò accade nei tessuti linfatici!

Dunque per curare la malattia non basta inibire la proteasi, ma occorre anche inibire la trascrittasi inversa che controlla il processo di formazione del DNA del virus nella cellula ospite.

Il "cocktail di farmaci", che inibisce entrambi i processi e che deve essere mirato per ciascun ammalato, va sotto il nome di terapia combinata ed é, attualmente, la cura piú efficace per l'AIDS.

"Il modello ci ha permesso di capire cosa accade nei malati, quando sembrava che nulla accadesse".

(D.Ho)