

## **Il ruolo del laboratorio nell'ottica delle prospettive di cura funzionale.**

Isabella Abbate , Laboratorio di Virologia dell'INMI L.Spallanzani, Roma

La terapia antiretrovirale (cART) è efficace nel sopprimere la replicazione dell'HIV nella maggior parte degli individui infetti, ma l'esistenza di *reservoir* virali in cellule latentemente infette rappresenta il maggiore ostacolo per l'eradicazione dell'infezione. Per cura funzionale dell'infezione da HIV si intende la possibilità che l'organismo infetto possa mantenere a lungo la viremia soppressa dopo sospensione di terapia antiretrovirale, senza manifestare segni di progressione clinica della malattia.

Poiché è stato dimostrato che la possibilità di un precoce *rebound* virologico dopo sospensione di cART è direttamente legata all'entità del *reservoir* virale presente al momento della sospensione, le metodiche di laboratorio per la valutazione dei *reservoir* di HIV stanno assumendo un'importanza crescente.

Le metodiche di laboratorio per lo studio qualitativo e quantitativo dei *reservoir* cellulari dell'infezione sono varie ed al momento sono per lo più d'appannaggio di laboratori specializzati, poiché si basano principalmente su metodiche *in house*, non standardizzate, che forniscono risultati difficilmente comparabili. Inoltre, le diverse metodiche misurano diversi aspetti biologici del fenomeno.

Per lo studio dei *reservoir* dell'infezione da HIV si utilizzano metodiche molecolari e metodiche che si basano sulla crescita *in vitro* del virus (*viral outgrowth assays*, VOA). Le metodiche molecolari possono rilevare e quantificare diverse forme genomiche del virus, distinguendo la quota di genomi HIV sottoforma episomale lineare o circolare dal provirus integrato e, poiché le prime forme citate sono più labili nel tempo, si ritiene che esse siano associate a situazioni in cui c'è replicazione attiva del virus. La viremia plasmatica residua, essendo correlata all'entità del provirus presente nei linfomonociti circolanti, può essere usata come misura indiretta del *reservoir* dell'infezione. Per la quantificazione possono essere utilizzate tecnologie diverse che vanno dalla *Real-time* PCR alla *droplet digital* PCR, con ricadute sull'accuratezza, specie riguardo ai prodotti virali meno rappresentati dal punto di vista quantitativo. Le metodiche che si basano sulla crescita del virus misurano la quota di cellule latentemente infette che possono essere attivate a produrre particelle virali. Mentre i metodi molecolari hanno la caratteristica di sovrastimare l'entità del *reservoir* virale rispetto ai VOA, perché quantificano anche provirus difettivi, non capaci di dare luogo a progenie virale, i metodi VOA sono molto più indaginosi e richiedono l'utilizzo di strutture di biocontenimento appropriate. Recentemente è stato introdotto un nuovo metodo che si basa sulla combinazione di metodi colturali e molecolari, denominato con l'acronimo TILDA (*Tat/Rev Induced Limiting Dilution Assay*), che risulta essere più veloce ed economico dei tradizionali metodi VOA.

Al momento non è chiaro quale sia la strategia migliore per quantificare il *reservoir* dell'infezione da HIV, ma è molto sentita la necessità di avere un'informazione precisa sulla sua entità per mettere in atto interventi clinici mirati, che vanno dalla possibile semplificazione della terapia antiretrovirale, all'uso di molecole capaci di slatentizzazione la replicazione del virus presente nei *reservoirs*, attualmente oggetto di diversi *trials* clinici.