

Riassunto

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) il numero di nuovi casi di malattie sessualmente trasmesse (*Sexually transmitted diseases*, STDs) nel mondo è di circa 340 milioni l'anno, di cui il 75-85% nei Paesi in via di sviluppo. Tra le STDs l'herpes genitale, causato generalmente da herpes simplex-2 (HSV-2), è una delle più prevalenti. Herpes simplex-1 (HSV-1), distinto da HSV-2 da un punto di vista sierologico è, invece, associato all'*herpes labialis*, ma sembra oggi responsabile del 35-50% dei nuovi casi di *herpes genitalis* probabilmente a causa del cambiamento nelle abitudini sessuali.

L'infezione primaria, che dura fino a 21 giorni, è caratterizzata dalla comparsa di vescicole a livello genitale, che poi si ulcerano e formano croste; può inoltre essere associata a dolore, linfadenopatia e disuria, sintomi sistemici e meningite. Dopo l'infezione primaria il virus va in latenza a livello del ganglio lombosacrale e può riattivarsi in seguito a stress ormonali o ambientali. Nei soggetti immunodepressi le lesioni sono più estese, durano più a lungo e si hanno manifestazioni simili alla varicella, che possono coinvolgere anche più organi. E' stato recentemente dimostrato che l'herpes genitale, oltre ad aumentare la suscettibilità verso altre infezioni secondarie, può aumentare fino a 3 volte il rischio di contrarre il virus dell'immunodeficienza umana (HIV). Inoltre, l'infezione contratta in gravidanza può essere trasmessa al figlio con rischio di aborto, gravi malformazioni congenite, cecità, encefalite e malattia disseminata con disfunzione a livello di più organi.

Su queste premesse e, anche a causa della comparsa di ceppi resistenti alle attuali terapie antivirali, la vaccinazione sembra essere la misura preventiva

più efficace. Sfortunatamente i vaccini ad oggi sperimentati (inattivati, attenuati, a subunità, ricombinanti) non hanno dato risultati soddisfacenti.

La mia tesi si inserisce in un progetto teso allo sviluppo di un vaccino anti-herpes basato sui vettori virali. I virus infatti, grazie alla loro capacità di trasferire il loro materiale genetico nella cellula ospite, possono essere sfruttati per veicolare geni di interesse terapeutico in cellule target specifiche, (trasduzione). Tra questi, i vettori lentivirali offrono i maggiori vantaggi, in quanto in grado di permettere un'espressione genica più duratura e di trasdurre anche cellule non in attiva replicazione. Nel nostro laboratorio è in corso lo studio in vivo di un vettore derivato dal virus dell'immunodeficienza felina (FIV), virus simile per organizzazione genomica e capacità di veicolazione ad HIV, ma notevolmente più sicuro per l'uomo. Il vettore vaccinale veicola la glicoproteina B1 (gB1), che è presente sul pericapside di HSV-1 ed è in grado di indurre risposta immune sia contro HSV-1 che HSV-2. Il vettore è stato già precedentemente testato *in vitro*, dimostrando la sua capacità di trasdurre vari istotipi cellulari.

In questa tesi è descritto un protocollo vaccinale contro HSV-2, a sua volta sviluppato da un precedente studio effettuato contro HSV-1 e che ha dato risultati positivi in termini di protezione. Topi C57BL/6 sono stati inoculati con vettore esprimente gB1 di HSV-1 (LAW34-gB1) o con vettore vuoto di controllo, LAW34. Lo schema vaccinale ha previsto 2 inoculi nella pianta del piede a distanza di una settimana e un terzo intradermico a distanza di due settimane dal secondo. Dopo ogni inoculo alcuni animali sono stati sacrificati e la risposta immunitaria anticorpale e cellulo-mediata valutate attraverso diversi test immunologici. A distanza di tre settimane dall'ultimo inoculo i topi sono stati sfidati per via vaginale con HSV-2. I topi sono stati monitorati giornalmente, valutando gli stadi della malattia secondo uno score predefinito

e i risultati dell'analisi macroscopica sono stati verificati mediante ulteriori test *in vitro*. La forte e duratura risposta del sistema immunitario indotta dal vettore vaccinale si è tradotta *in vivo* in un'efficiente protezione contro l'infezione.