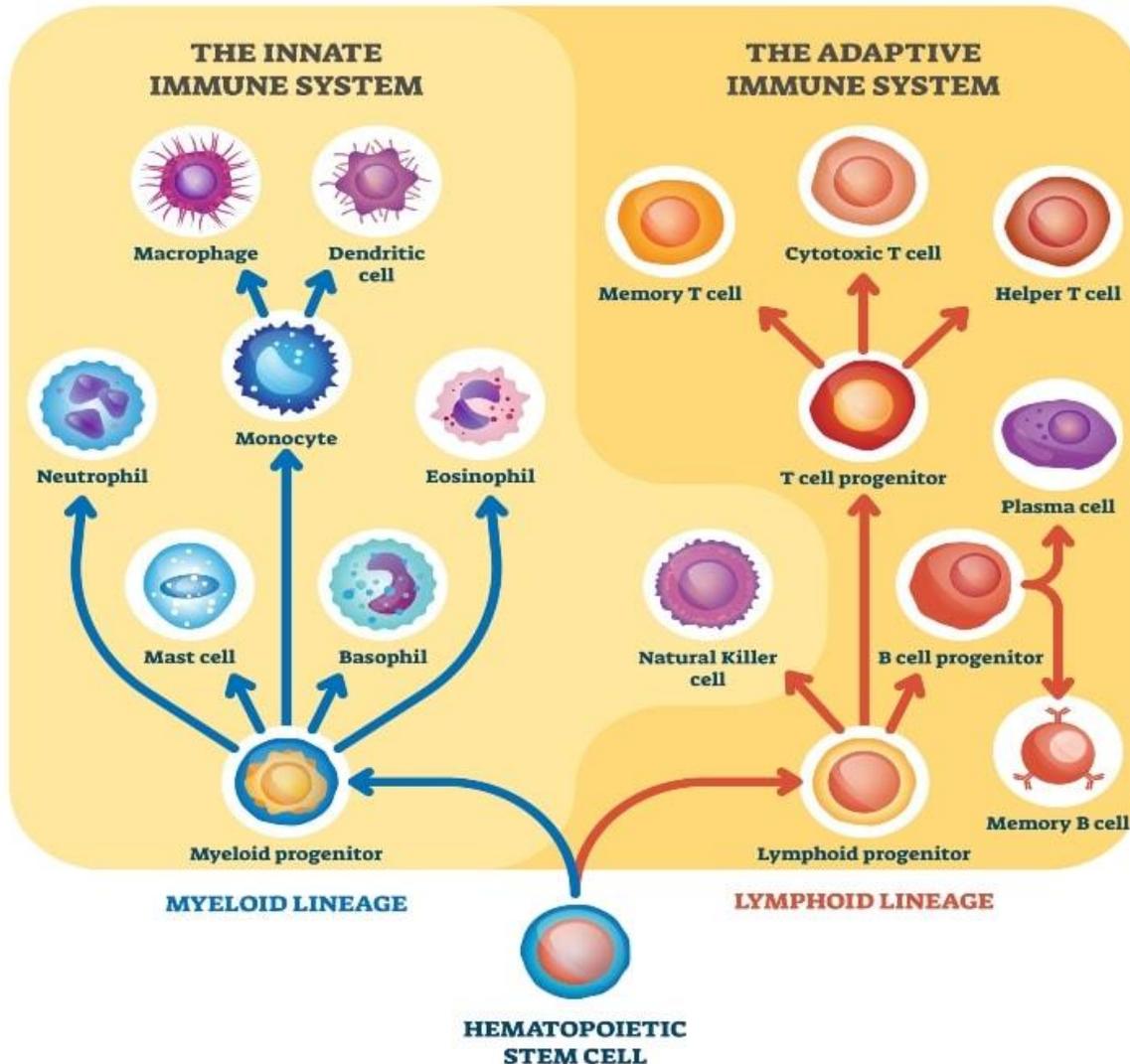


# Risposta immunitaria innata

## CELLS OF THE IMMUNE SYSTEM



Maurizio Romano, PhD  
Dipartimento di Scienze della Vita  
Edificio R  
<http://tinyurl.com/edificior>  
<http://tinyurl.com/maurizioromanoita>

Università di Trieste  
Via A. Valerio, 28  
Tel: 040-3757316  
e-mail: [mromano@units.it](mailto:mromano@units.it)

# Immunità Innata ed Acquisita

L'**immunità** è la capacità di utilizzare le proprie difese per contrastare gli agenti patogeni che, penetrando nel corpo, potrebbero provocare malattie.

Nel corpo umano esistono due principali meccanismi di difesa immunitaria:

- 1. l'immunità innata o aspecifica;**
- 2. l'immunità adattativa o specifica.**

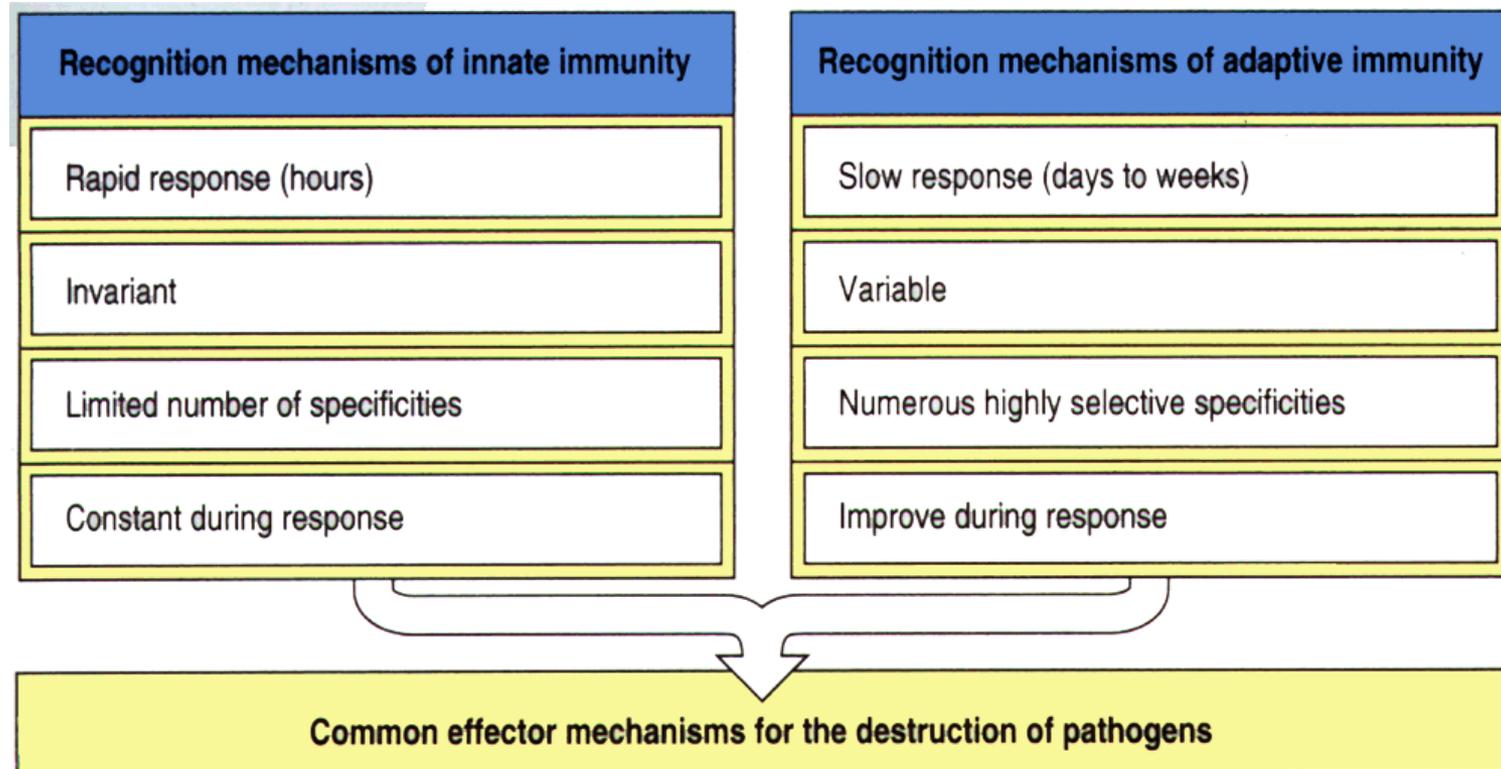
# Immunità naturale ed acquisita

- **Immunità INNATA (naturale o aspecifica)**

- Barriere anatomiche
- Meccanica
- Biochimica
  - Non-specifica (Esempio: pH acido)

- **Immunità ACQUISITA (antigene-specifica)**

- Recettore- dipendente
- Cloni di cellule T e B selezionati per riconoscere antigeni non-self. Ogni Linfocito è specifico per un antigene diverso



# Vie di infezione dei patogeni

Vie di entrata	Modalità di trasmissione
<b>Superfici Mucose</b>	
Aria	Gocce inalate
Tratto gastrointestinale	Acqua o cibi contaminati
Apparato riproduttivo	Contatto fisico

<b>Epiteli esterni</b>	
Superfici esterne	Contatto fisico
Ferite e abrasioni	Abrasioni cutanee Ferite da puntura Trattare con animali infetti
Punture di insetti	Punture di zanzara ( <i>Aedes aegypti</i> ) Punture di zecca Punture di zanzara ( <i>Anopheles</i> )



# Immunità Innata

L'**immunità innata** comprende vari meccanismi aspecifici di protezione che agiscono allo stesso modo sui patogeni.

Fanno parte dell'immunità innata:

- **Difese "esterne"**: impediscono a organismi estranei di penetrare nel corpo;
- **Difese "interne"**: si attivano quando i patogeni sono riusciti a penetrare all'interno dei tessuti.

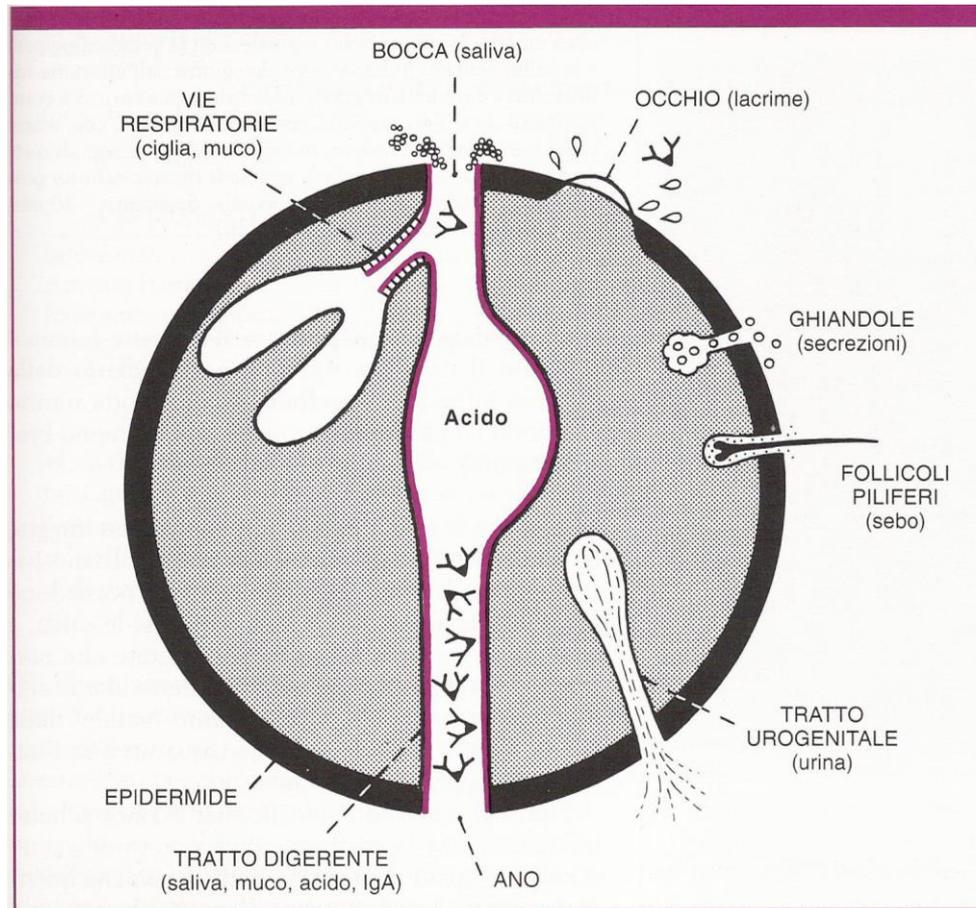
# Difese aspecifiche nell'uomo

	Meccanismo di difesa	Funzione		Meccanismo di difesa	Funzione
Barriere di superficie	Cute	Impedisce l'ingresso di patogeni e di sostanze estranee.	Difese aspecifiche cellulari, chimiche e coordinate	Flora normale	Compete con i patogeni; può produrre sostanze tossiche per i patogeni.
	Secrezioni acide	Inibiscono la crescita batterica sulla cute.		Febbre	Risposta generalizzata dell'organismo che inibisce la proliferazione dei patogeni e accelera i processi di riparazione.
	Muco	Impedisce l'ingresso di patogeni; produce difensine che uccidono i patogeni.		Tosse, starnuti	Espellono i patogeni dalle vie respiratorie superiori.
	Secrezioni mucose	Intrappolano i batteri e altri patogeni nelle vie respiratorie e nel canale digerente.		Risposta infiammatoria	Limita la diffusione dei patogeni ai tessuti circostanti; concentra le difese; digerisce patogeni e cellule morte; rilascia mediatori chimici che attraggono fagociti e linfociti.
	Peli delle narici	Filtrano i batteri nelle vie nasali.		Fagociti (macrofagi e granulociti neutrofili)	Inglobano e distruggono i patogeni che penetrano nell'organismo.
	Ciglia	Spingono verso l'esterno il muco e i materiali intrappolati.		Linfociti natural killer (NK)	Attaccano e lisano cellule infettate da virus o cancerose.
	Succhi gastrici	L'acido cloridrico concentrato e le proteasi uccidono i patogeni nello stomaco.		Proteine antimicrobiche:	
	Ambiente acido della vagina	Limita la crescita di funghi e batteri nelle vie genitali femminili.		Interferoni	Vengono rilasciati da cellule infettate da virus per proteggere il tessuto sano dall'infezione virale; mobilitano le difese specifiche.
	Lacrime, saliva	Lubrificano e lavano; contengono lisozima, che uccide i batteri.		Proteine del complemento	Lisano i microrganismi, aumentano la fagocitosi e contribuiscono alla risposta infiammatoria e a quella anticorpale.
Difese aspecifiche cellulari, chimiche e coordinate	Flora normale	Compete con i patogeni; può produrre sostanze tossiche per i patogeni.			
	Febbre	Risposta generalizzata dell'organismo che inibisce la proliferazione dei patogeni e accelera i processi di riparazione.			
	Tosse, starnuti	Espellono i patogeni dalle vie respiratorie superiori.			

NONSPECIFIC DEFENSE MECHANISMS		SPECIFIC DEFENSE MECHANISMS (IMMUNE SYSTEM)
First line of defense	Second line of defense	Third line of defense
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Skin</li> <li>• Mucous membranes</li> <li>• Secretions of skin and mucous membranes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Phagocytic white blood cells</li> <li>• Antimicrobial proteins</li> <li>• The inflammatory response</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lymphocytes</li> <li>• Antibodies</li> </ul>

# La prima linea difensiva (immunità innata)

- Fattori ANATOMICI
- Fattori MECCANICI
- Fattori BIOCHIMICI



**Rappresentazione schematica dell'organismo che mostra le principali vie di ingresso dei parassiti ed i meccanismi di difesa fondamentali presenti sulle superfici corporee**

# Sommario Barriere alla base della risposta immune innata

	<b>Skin</b>	<b>Gastrointestinal tract</b>	<b>Respiratory tract</b>	<b>Urogenital tract</b>	<b>Eyes</b>
<b>Mechanical</b>	<b>Epithelial cells joined by tight junctions</b>				
	<b>Flow of fluid, perspiration, sloughing off of skin</b>	<b>Flow of fluid, mucus, food, and saliva</b>	<b>Flow of fluid and mucus, e.g., by cilia Air flow</b>	<b>Flow of fluid, urine, mucus, sperm</b>	<b>Flow of fluid, tears</b>
<b>Chemical</b>	<b>Sebum (fatty acids, lactic acid, lysozyme)</b>	<b>Acidity, enzymes (proteases)</b>	<b>Lysozyme in nasal secretions</b>	<b>Acidity in vaginal secretions Spermine and zinc in semen</b>	<b>Lysozyme in tears</b>
	<b>Antimicrobial peptides (defensins)</b>				
<b>Microbiological</b>	<b>Normal flora of the skin</b>	<b>Normal flora of the gastrointestinal tract</b>	<b>Normal flora of the respiratory tract</b>	<b>Normal flora of the urogenital tract</b>	<b>Normal flora of the eyes</b>

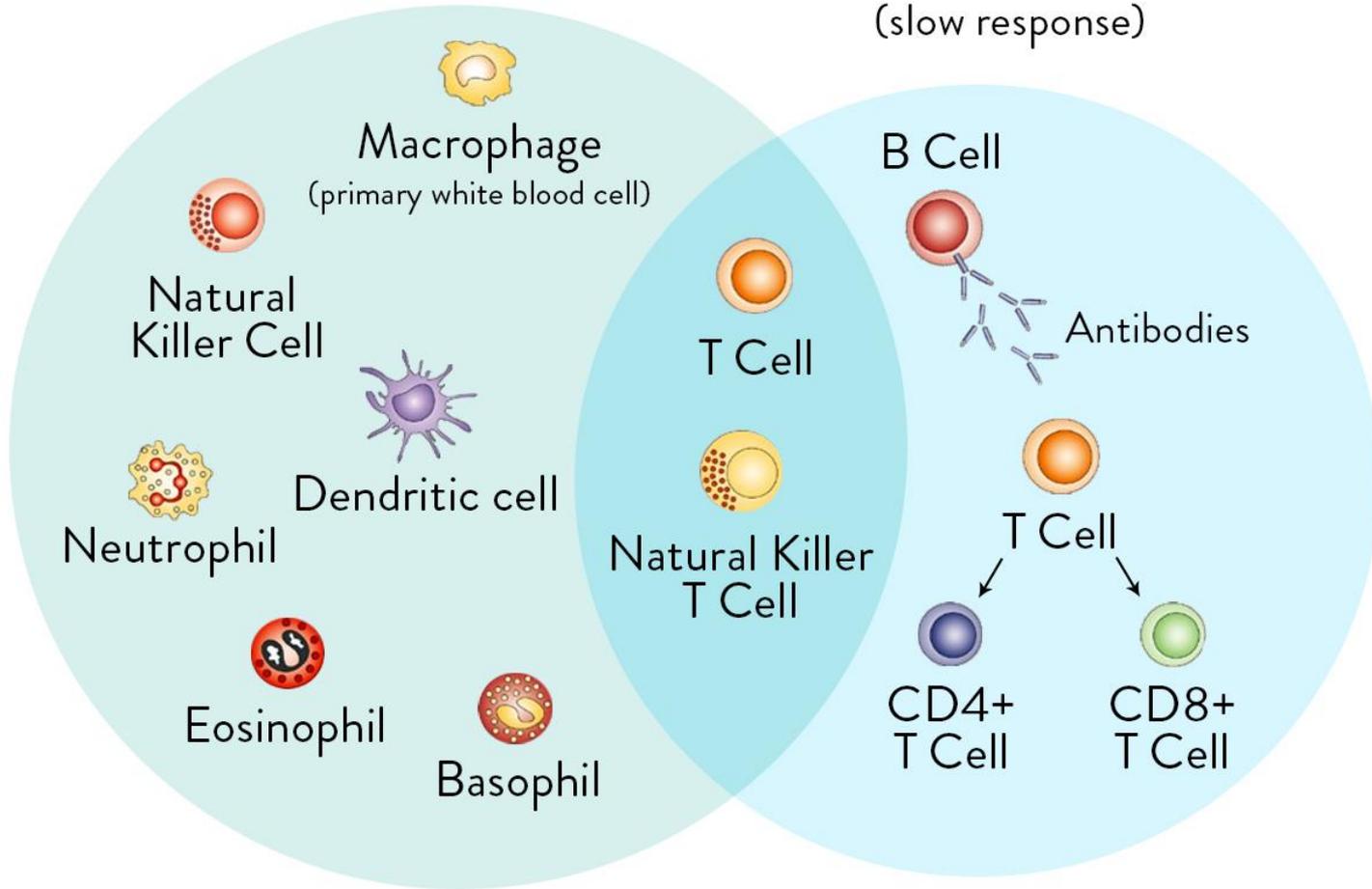
Figure 1.6 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

# INNATE IMMUNITY

(rapid response)

# ADAPTIVE IMMUNITY

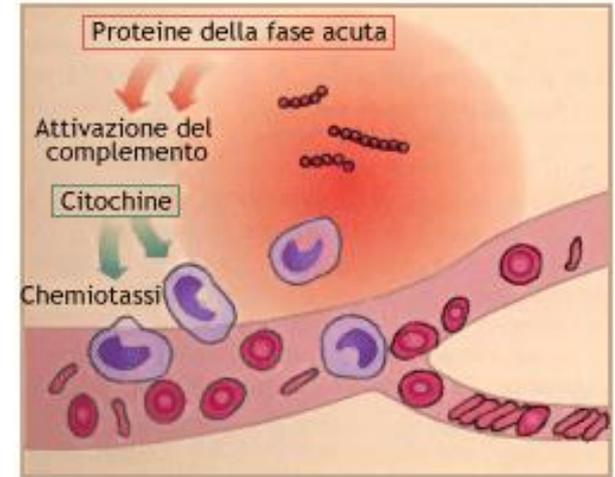
(slow response)



# Proteine della Risposta immune Innata

## Interferoni alfa e beta

Molecole che vengono liberate da leucociti infettati da virus e da cellule connettivali per proteggere le cellule non ancora infette. Questa strategia consiste in un abbassamento drastico, anche se temporaneo, all'interno delle cellule, della neosintesi di proteine proprie o estranee all'organismo; in tal modo viene rallentata anche la proliferazione dei virus.



•**Sistema del Complemento.** Funzioni: Lisi (danno a livello delle membrane plasmatiche cellulari, dei batteri Gram -negativi, dei virus provvisti di mantello). Opsonizzazione. Chemiotassi ed Attivazione dei Fagociti. Iperemia. Anafilassi (liberazione di altri mediatori di flogosi da parte dei mastociti)

•**Citochine secrete dai fagociti in risposta alle infezioni:**

–IL-1

- Attiva endotelio vascolare ed i linfociti
- Incrementa l'adesività dei leucociti

–IL-6

- Induce la maturazione terminale dei linfociti B in plasmacellule

–IL-8

- Induce espressione di integrine adesive b2 sui neutrofili, favorendone la migrazione verso il sito di infezione

–IL-12

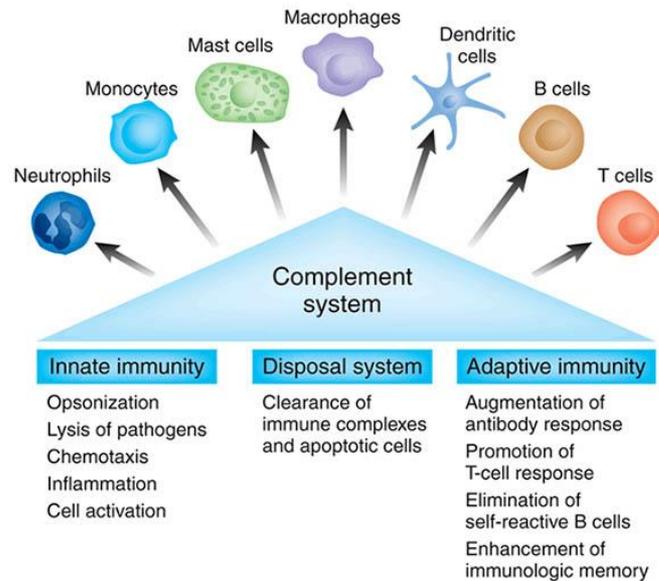
- Attiva i linfociti NK cells ed induce la differenziazione dei Th1

–TNF-alfa

- Attiva l'endotelio vascolare ed incrementa la permeabilità vascolare, favorendo l'accumulo di anticorpi e complemento nei tessuti infetti

# Molecole della Risposta immune Innata: il sistema del Complemento

- E' costituito da una 20na di proteine sieriche , che interagiscono l'una con l'altra attraverso un sistema di reazione "a cascata".

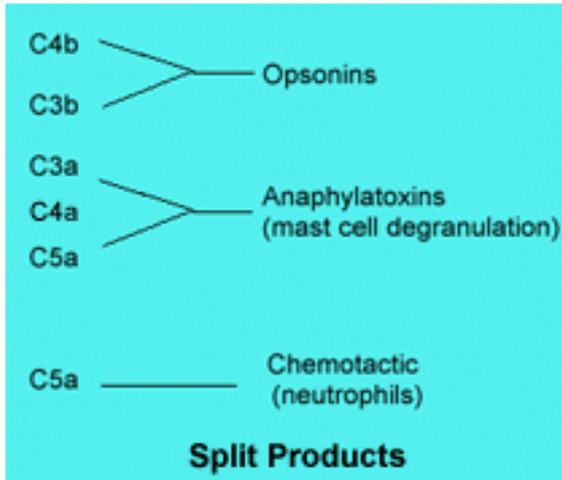


# Lisi da Complemento

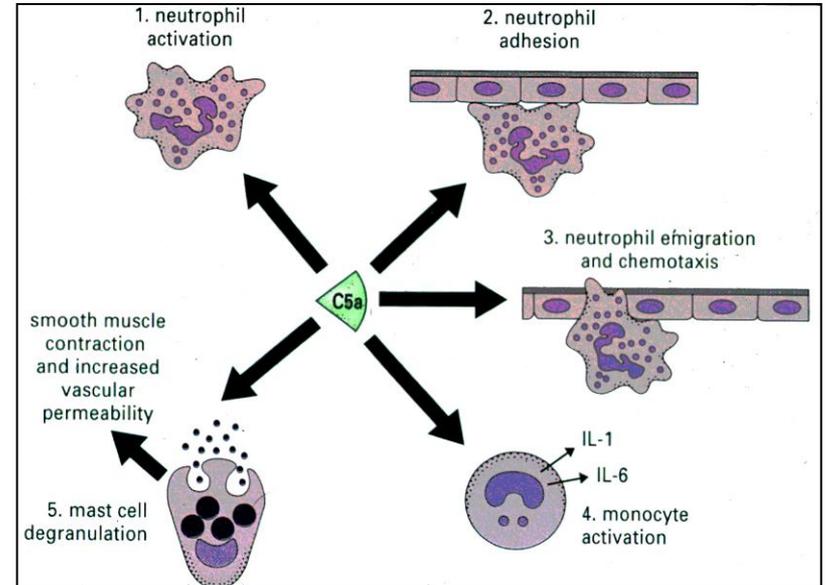


<https://www.youtube.com/watch?v=vbWYz9XDtLw>

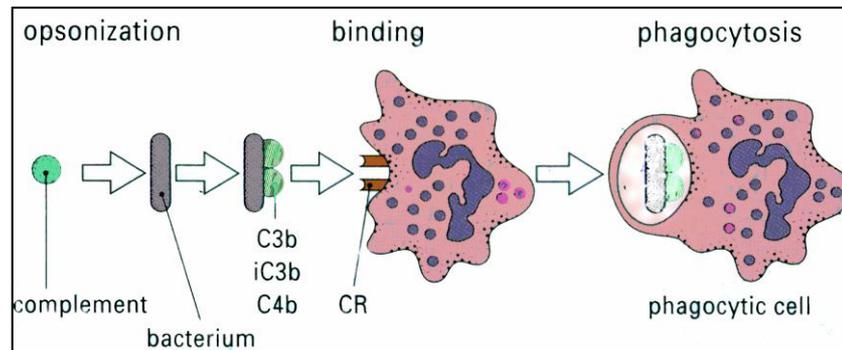
# Altre funzioni del complemento



## Effetti del C5a



## Opsonizzazione e fagocitosi



# Caratteristiche e tipi di interferone (IFN)

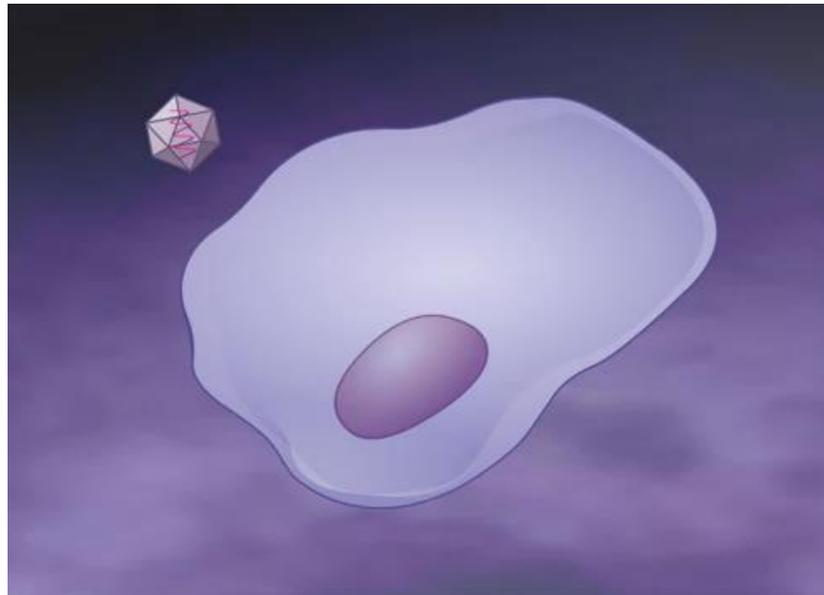
Caratteristiche	Interferon		
	Alfa (IFN- $\alpha$ )	Beta (IFN- $\beta$ )	Gamma (IFN- $\gamma$ )
Altre denominazioni	IFN leucocitario IFN tipo I	IFN fibroblastico IFN tipo I	IFN immune IFN tipo II
N° di geni codificanti	> 20	1	1
Stabilità a pH 2.0	Stabile	Stabile	Labile
Induttori principali	Virus (RNA > DNA)	Virus (RNA > DNA)	Antigeni Mitogeni
Principali tipi di cellule produttrici	Leucociti (linfociti, monociti, cellule dendritiche circolanti <sup>1</sup> )	Fibroblasti Cellule epiteliali	Linfociti T <sub>H</sub> CD4, T CD8 Cellule NK

<sup>1</sup> Una quota di rilievo dell'IFN- $\alpha$  prodotto *in vivo* si deve ad alcune cellule dendritiche appartenenti ad un peculiare subset (cellule dendritiche plasmocitoidi) che, pur essendo relativamente rare (~0.1% delle cellule mononucleate del sangue periferico), producono IFN- $\alpha$  con una particolare efficienza (~10 pg IFN per cellula).

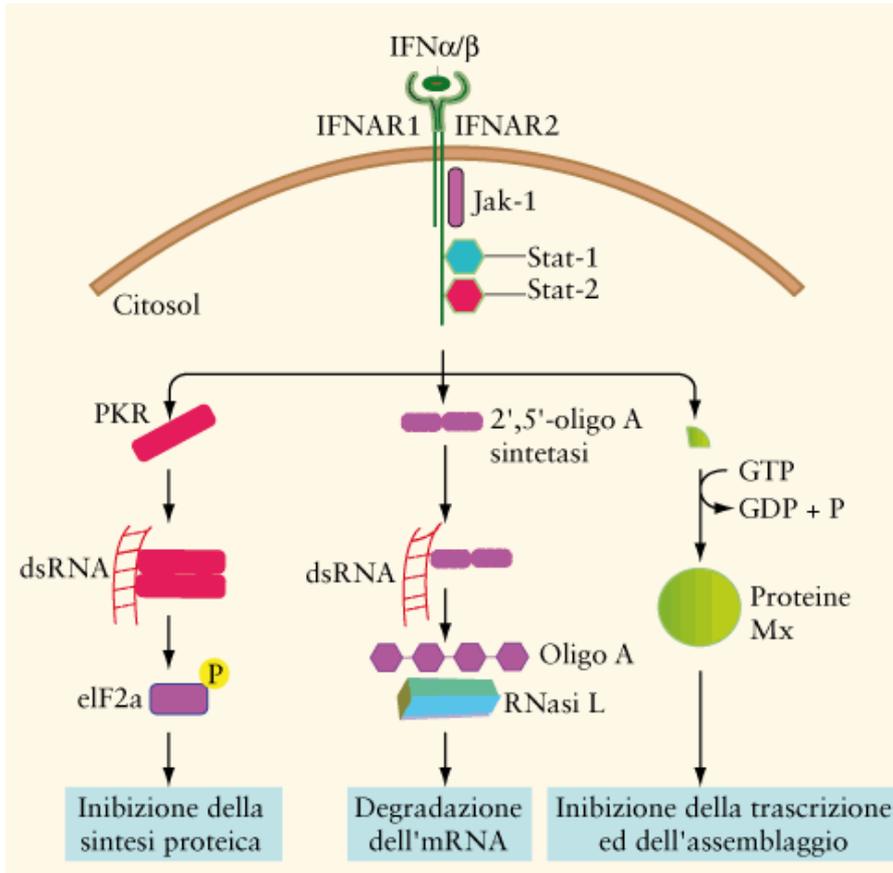
- **Classe alfa (IFN di tipo I, leucocitario prodotto da monociti e linfociti)** è formata da almeno 18 sottotipi, con PM compreso fra 17,5-23 kD. Gli interferoni di questa classe presentano sequenze omologhe pari a circa l'80%.
- **Classe beta (IFN di tipo I fibroblastico).** È costituita probabilmente da un solo tipo di glicoproteina con PM di 23 kD e punto isoelettrico di 6,8-7,8. L'omologia fra interferone alfa e beta è pari al 29%.
- **Classe gamma (IFN di tipo II, sintetizzato dai linfociti T attivati).** È una classe eterogenea con PM che varia a seconda del grado di glicosilazione e possibile oligomerizzazione. Non presenta omologia con le classi alfa e beta.

## Azione degli IFN nel corso dell' infezione

- **IFN- $\alpha$**  è molto diffusibile => **azione a lungo raggio**: raggiunge organi distanti contribuendo a contrastare l' estensione dell' infezione, in particolare agendo sugli endoteli delle barriere naturali (ematoencefalica, polmonare, placentare).
- **IFN- $\alpha$** : primo tipo di interferone prodotto (nelle mucose dove iniziano la maggior parte delle infezioni virali).
- **IFN- $\beta$**  diffonde scarsamente => **azione locale**
- Virus diffonde attraverso il sistema linfatico ed il circolo ematico => in entra in contatto con leucociti e cellule dendritiche plasmocitoidi (producono **IFN- $\alpha$** ).
- **Infezione duratura**: attivazione risposta immune specifica => antigeni virali interagiscono con gli specifici linfociti TH CD4 e T CD8 =>> produzione di **IFN- $\gamma$**  (potenzia azione delle cellule effettrici della risposta cellulo-mediata).



## Meccanismi antivirali degli interferoni alfa e beta



- **Gli interferoni (IFN alfa e beta) esplicano attività antivirale sia verso virus a DNA che RNA e attività anti-infiammatoria.**
- A seconda del tipo di virus gli interferoni possono interferire nella trascrizione del materiale genetico, nell'assemblaggio o nel rilascio del virus dalla cellula ospite.
- In particolare regolano la trascrizione di proteine ad attività enzimatica quali la 2',5'-oligoadenil-sintetasi e la proteinchinasi P1. La prima attiva la ribonucleasi L che degrada l'RNA virale e rende inadeguato l'RNA messaggero cellulare per la replicazione del virus. La seconda blocca l'inizio della sintesi della catena polipeptidica virale.
- Tutti gli interferoni mostrano **attività immunomodulatrice con effetti dose-dipendenti**:
  - attivano linfociti B, macrofagi, cellule NK (cellule natural killer);
  - inducono alcune attività citotossiche dei linfociti T, il rilascio di interleuchina 1 e 2 e fattori di necrosi tumorale.

- **Esplicano un'azione antiproliferativa**
- **Esercitano un'azione di controllo immunitario sulla crescita neoplastica.**

# Applicazioni terapeutiche degli IFN

## Infezioni virali → rIFN- $\alpha$

- ✓ Papillomavirus
- ✓ Infezioni croniche da HBV e HCV

## Neoplasie → rIFN- $\alpha$

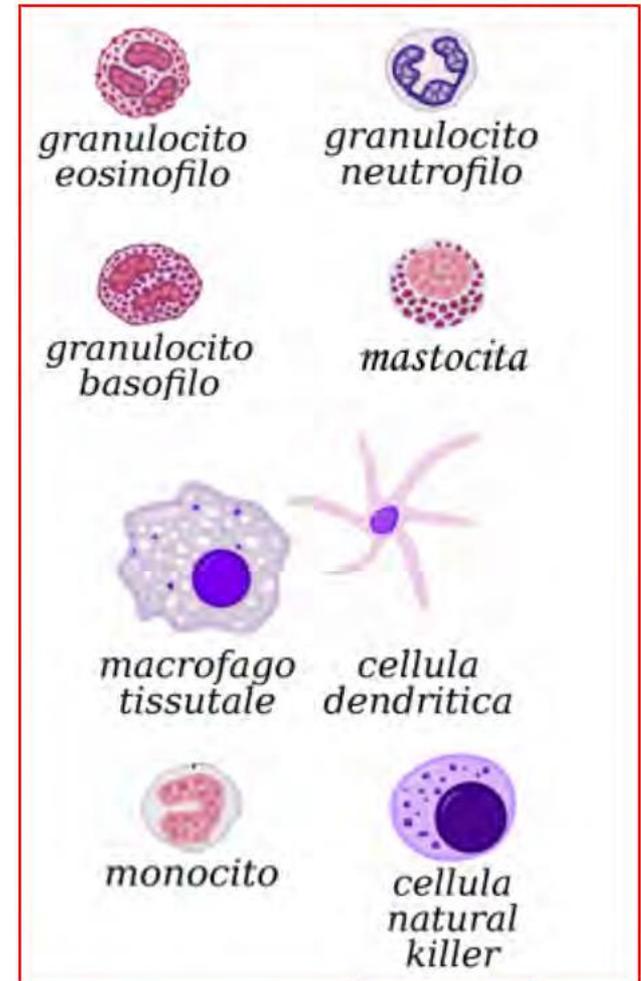
- ✓ Leucemia mieloide cronica
- ✓ Leucemia a cellule capellute
- ✓ Linfoma di Hodgkin
- ✓ Sarcoma di Kaposi
- ✓ Melanoma

## Malattie neurodegenerative → rIFN- $\beta$

- ✓ Sclerosi multipla

# Cellule dell'immunità innata

- **Fagociti**
  - Neutrofili
  - Monociti/macrofagi
- **Linfociti NK (large granular lymphocytes)**
  - Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC)
  - Due funzioni principali
    - Lisi delle cellule bersaglio
    - Produzione di citochine (IFN-g & TNF-a)
  - ✓ Agiscono contro i patogeni intracellulari:
    - Herpesviruses
    - *Leishmania*
    - *Listeria monocytogenes*
  - ✓ Agiscono contro i protozoi
    - *Toxoplasma*
    - *Trypanasoma*
- **Mast cells (mastociti)**
  - Localizzate nella tonaca sierosa, sotto l'epidermide e in prossimità dei vasi sanguinei, nervi, ghiandole
  - Capaci di fagocitosi
  - Processano & presentano antigeni usando MHC di classe I e II
  - LPS può causare direttamente la degranulazione dei mastociti
  - Complemento (C3a & C5a) induce degranulazione dei mastociti
    - Chemiotassi, attivazione fagociti
    - TNF- $\alpha$  prodotto dai mastociti stimola migrazione dei neutrofili in situ



# Riconoscimento dei microrganismi da parte del sistema immunitario innato

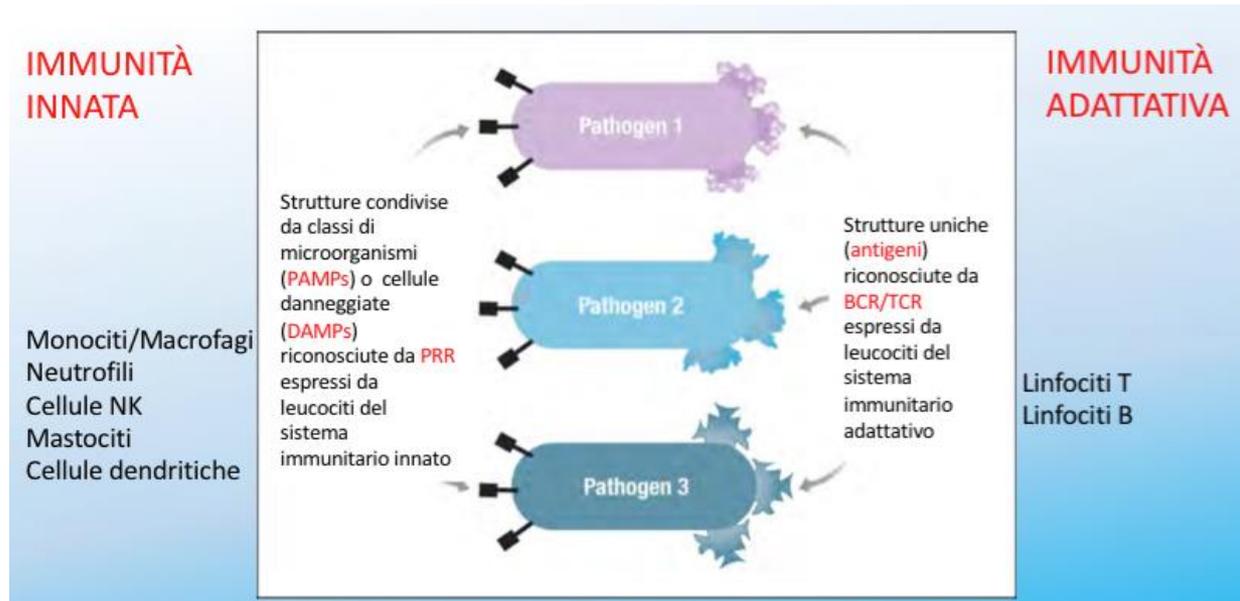
Solo i vertebrati hanno un sistema immune specifico

**MA**

- Le cellule dell'**immunità innata** esprimono **COSTITUTIVAMENTE DIVERSI RECETTORI**, ognuno dei quali **riconosce PROFILI MOLECOLARI CHE SONO CONDIVISI DA VARIE CLASSI DI MICRORGANISMI** e non sono espressi dalle cellule dell'ospite;
- **Riconoscimento "multiplo"** molto diverso da quello delle cellule dell'immunità acquisita, ognuna delle quali esprime un solo tipo di recettore, specifico per una sola struttura molecolare;

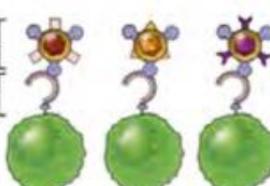
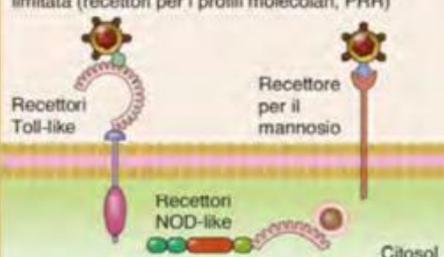
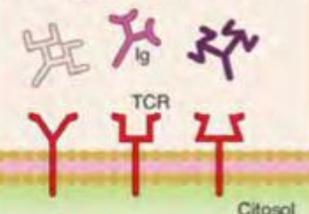
# Riconoscimento dei microrganismi da parte del sistema immunitario innato

- **PAMPs** (Pathogen Associated Molecular Patterns): **Molecole bersaglio dell'immunità innata** => **sono condivisi da microbi dello stesso tipo;**
- **PRR** (Pattern Recognition Receptor): **Recettori** che riconoscono **PAMPs**;
- Sono generalmente riconosciute strutture microbiche indispensabili alla loro sopravvivenza e infettività;
- **I recettori dell'immunità innata** sono codificati nella linea germinale e non prodotti mediante ricombinazione genica



# SPECIFICITÀ DELL'IMMUNITÀ INNATA E DELL'IMMUNITÀ ADATTATIVA

**Repertorio:**  
insieme dei recettori  
espressi da tutte le  
cellule di un individuo

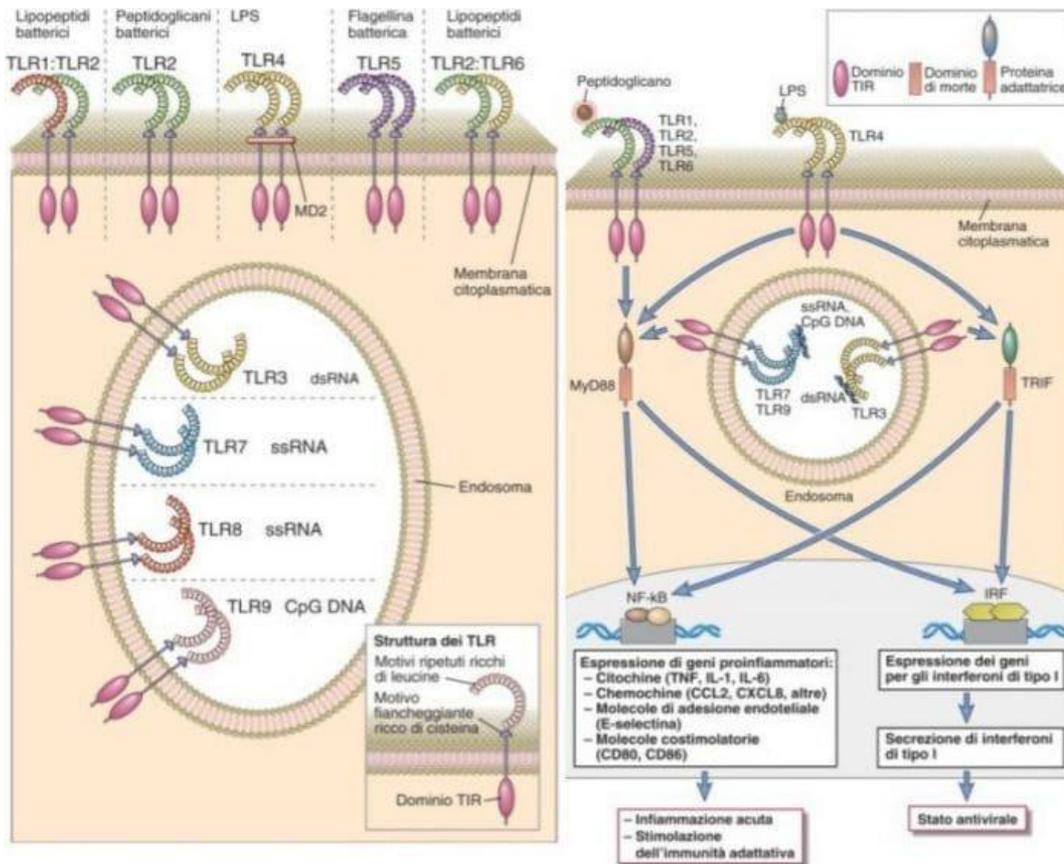
	Immunità innata	Immunità adattativa
<b>Specificità</b>	<p>Per le strutture condivise da classi di microrganismi (profili molecolari associati ai patogeni) o cellule danneggiate (profili molecolari associati al danno cellulare)</p> <p>Diversi tipi di microbi Recettori per il mannosio identici</p> 	<p>Per dettagli strutturali di molecole microbiche (antigeni); possono riconoscere antigeni non microbici</p> <p>Diversi tipi di microbi Molecole anticorpali diverse</p> 
<b>Recettori</b>	<p>Codificati nella linea germinale; diversificazione limitata (recettori per i profili molecolari, PRR)</p> <p>Recettori Toll-like Recettore per il mannosio Recettori NOD-like Citosol</p> 	<p>Codificati da geni derivanti dalla ricombinazione somatica di segmenti genici; maggiore diversificazione</p> <p>Ig TCR Citosol</p> 
<b>Distribuzione dei recettori</b>	Non clonali, recettori identici in tutte le cellule della stessa linea	Clonale: i cloni di linfociti con specificità distinta esprimono recettori diversi
<b>Discriminazione del self sano dal non self</b>	Si; le cellule ospiti non sono riconosciute o possono esprimere molecole che impediscono le reazioni immunitarie innate	Si, basata sulla selezione negativa dei recettori autoreattivi; può essere imperfetta (dando luogo all'autoimmunità)
<b>Numero e tipi di recettori</b>	<100 differenti tipi di recettori senza variabilità	Soltanto 2 tipi di recettori (Ig e TCR) ciascuno con milioni di varianti

**Numero di molecole riconosciute:**

**~10<sup>3</sup> profili molecolari  
PAMPs/DAMPs**

**>10<sup>7</sup> antigeni**

# RECCETTORI TOLL-LIKE\*

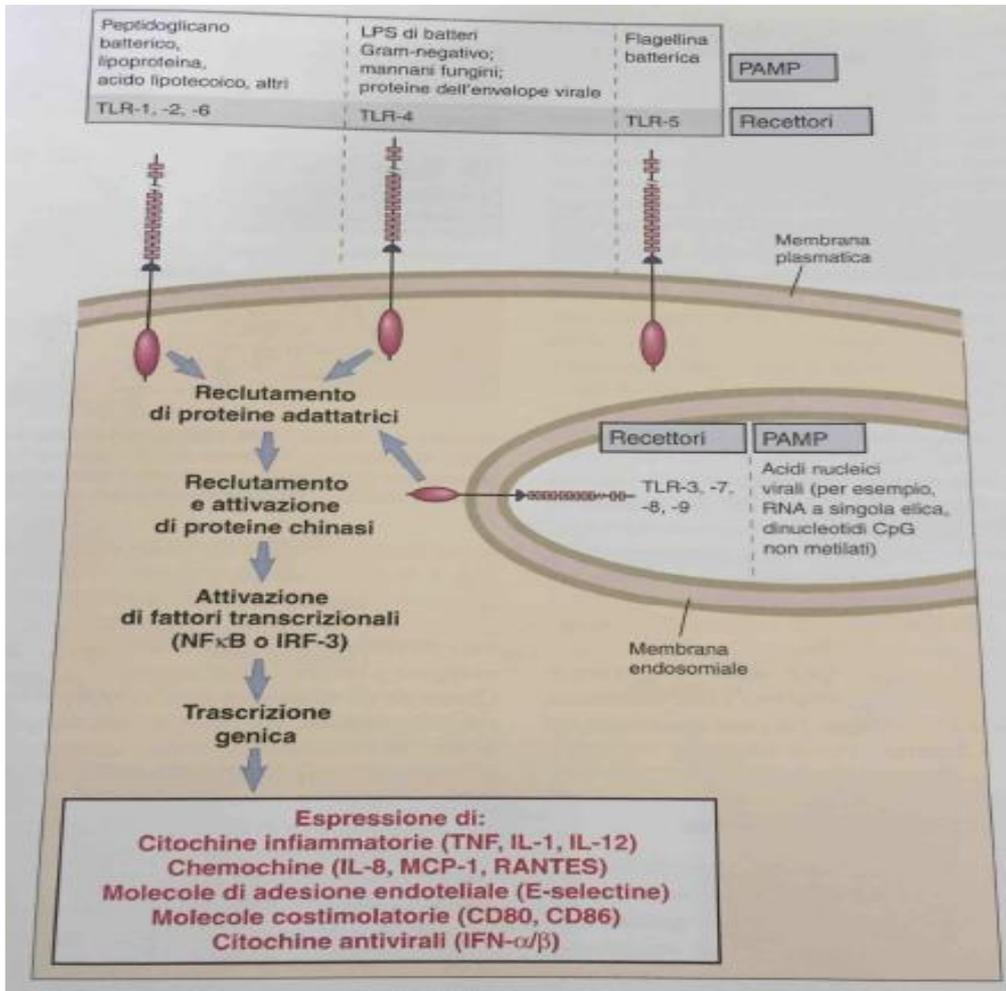


Abul K. Abbas, ottava edizione, Immunologia cellulare e molecolare, pagina 61 e 62.

\*Omologhi al gene *Toll* (tedesco: grande, magnifico) scoperto in *Drosophila melanogaster*, come gene importante per l'orientamento dorso-ventrale dell'insetto e per la resistenza ai funghi

- **Toll-Like Receptor TLR:** sono la classe più importante di recettori dell'immunità innata.
- Recettori transmembrana espressi soprattutto sulla membrana di cellule "sentinella" (macrofagi e cellule dendritiche).
- Riconoscono strutture tipiche di patogeni e microbi e fanno parte della superfamiglia dei "recettori che riconoscono profili molecolari" (Pattern Recognition Receptors).
- Una volta che i patogeni superano le barriere anatomiche dell'ospite (es. cute o mucosa intestinale dell'uomo), sono "riconosciuti" grazie ai TLR che attivano le risposte immunitarie delle cellule sentinella.
- **Possono riconoscere PAMPs sulla membrana cellulare o da vescicole intracellulari (endosomi).**

# SPECIFICITÀ & FUNZIONI DEI TLR



- Diversi TLR rispondono a diversi prodotti microbici
- Generano risposta attraverso una trasduzione del segnale

# Inibitori TLR nel trattamento delle malattie autoimmuni

- La terapia farmacologica per il **lupus eritematoso sistemico** o LES, oggi basata su diversi medicinali, molti dei quali iniettabili, nessuno dei quali, da solo, curativo ma, nel migliore dei casi, in grado di controllare la malattia, potrebbe essere a una svolta. I primi dati su una nuova molecola chiamata **afimedoran**, presentati dai ricercatori dell'azienda Bristol Meyers Squibb (MBS) nel **2022** dimostrano infatti che assicura una remissione dei sintomi + regressione dei danni d'organo tipicamente associati alla malattia, causati da un'inflammatione cronica diffusa.
- Il farmaco è la concretizzazione di un'idea che ha iniziato a farsi strada tra gli immunologi qualche anno fa, rafforzata da informazioni genetiche, e cioè che il LES fosse dovuto a un malfunzionamento di una classe di proteine scoperte nel 1985 (per le quali Christiane Nusslein-Volhard ed Eric Wieschaus vinceranno il premio Nobel per la medicina nel 1995), i **Toll-like Receptors o TLR**.
- Attraverso uno screening, sono state individuate alcune molecole che mostravano potenzialità interessanti, e le hanno modificate in base alla struttura dei **TLR7 e TLR8**, verificandone via via la specificità di azione, fino ad arrivare all'**Afimedoran**, piccola molecola da assumere oralmente.
- **Azioni dell'Afimedoran:**
  - **interferisce con la cascata degli interferoni**
  - **tiene sotto controllo le cellule B iperattive, limitandone i danni anche con la soppressione della secrezione di altri mediatori di tipo citochinico.**

Oltre alla Bristol Meyers Squibb, altre aziende stanno esplorando l'inibizione dei TLR 7 e TLR8  
Merck è già in fase 2 con un suo bloccante specifico, chiamato **enpatoran**.

