

DIFESE ANTIVIRALI

DIFESE DELL'ORGANISMO

Gli organismi hanno essenzialmente 3 tipi di difese, disposte "sequenzialmente", che il virus deve superare:

Difese di superficie



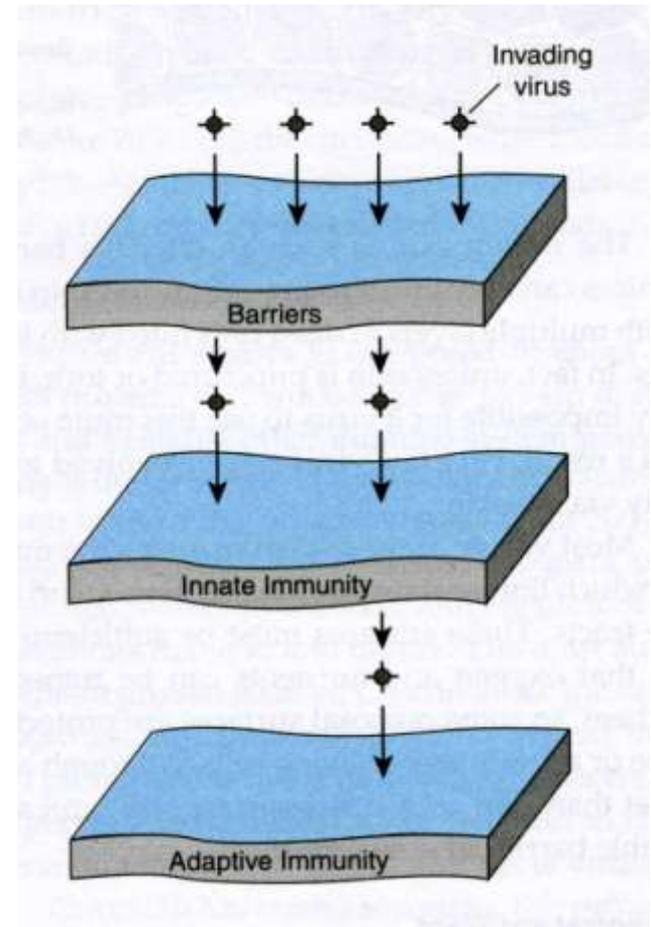
❖ Barriere fisiche

Difese sistemiche



❖ Immunità innata

❖ Immunità adattativa



1. Difese di Superficie

Barriere fisiche: cute (strato cheratinizzato), membrane mucosali (strati di cellule vive, protette da muco, saliva che contiene sostanze antivirali, pH acido dello stomaco, degradazione da parte degli enzimi digestivi, sali biliari che distruggono l'envelope).

Meccanismi di rimozione: desquamazione cutanea, lacrime, muco, motilità ciliare, tosse, salivazione, deglutizione, peristalsi, defecazione, minzione

Competizione da parte della flora normale: resistenza alla infezione, interferenza

Inibitori chimici: secrezione acida gastrica, acido lattico, acidi grassi, sali biliari, ecc.

Sostanze antivirali: muco, IgA secretorie, ecc.

2. Difese sistemiche

Immunità INNATA

Sistema fagocitario: fagociti fissi e circolanti
(monociti, granulociti neutrofili, eosinofili, basofili)

Cellule NK

Sistema del complemento, fattori infiammatori

IFN, defensine, RNA interference

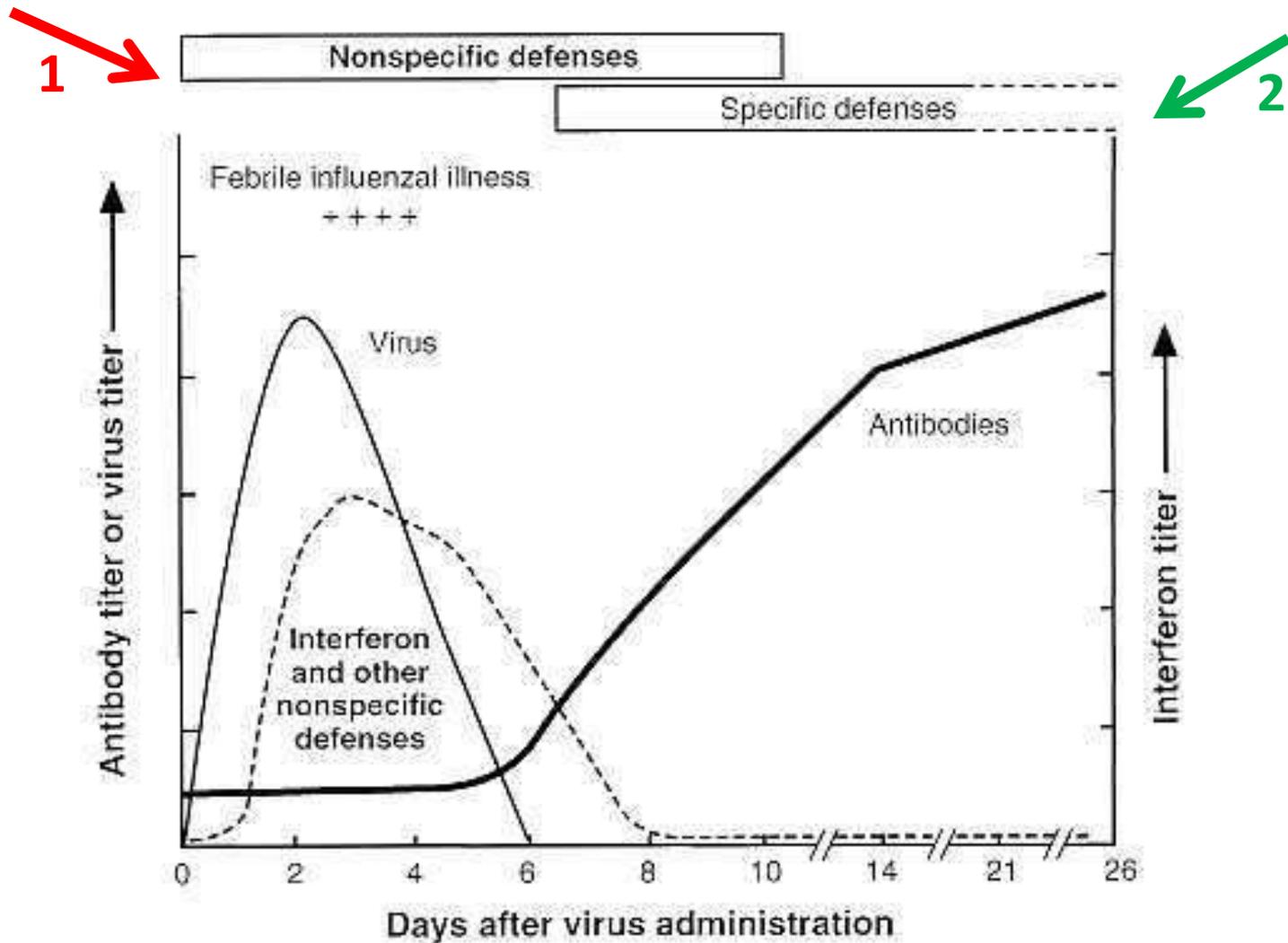
Immunità ADATTATIVA

Immunità umorale: Linfociti B, plasmacellule,
immunoglobuline

Immunità cellulo mediata: Linfociti T, citochine

RISPOSTE CONTRO I VIRUS

Prima immunità INNATA e solo dopo risposta ADATTATIVA.



La risposta dell'ospite all'infezione virale

L'immunità innata (I.I.), o costitutiva, è un meccanismo di difesa preesistente all'incontro con l'antigene.

Rappresenta la prima linea di difesa dell'organismo e viene attivata da molecole espresse solo dal patogeno (e non dall'ospite) e da segnali di stress. E' caratterizzata da:

- assenza di specificità, in quanto è attiva contro un largo spettro di microorganismi;
- assenza di memoria;
- velocità di risposta;
- assenza di un meccanismo del riconoscimento del "self".

L'immunità acquisita, o inducibile, è l'espressione della risposta dell'individuo all'azione di agenti estranei (antigeni) che si sviluppa in seguito al loro contatto. Le sue caratteristiche fondamentali sono la specificità, dovuta agli anticorpi prodotti dalle plasmacellule, e la memoria, dovuto al clone di cellule memoria che serve a prevenire successive infezioni, rendendo la risposta più forte e rapida.

L'I.I. è importante non solo per combattere l'infezione, ma anche perchè innesca e prepara molte risposte dell'immunità adattativa.

PAMPs e TLRs

L'I.I. viene innescata dai **PAMPs** (*pathogen associated molecular patterns*, assenti nelle cellule dell'ospite), che si legano ai **TLRs** (*Toll-like receptors*), specifici recettori espressi sulla membrana delle cellule effettrici dell'I.I. (es. cell. dendritiche)

TLRs e loro ligandi



Recentemente, sono stati scoperti nel topo 2 nuovi TLRs, di cui ancora non si sa niente

TLR	Cellular localization	Viral ligands	Bacterial ligands
1	Plasma membrane		Lipoproteins, peptidoglycans
2	Plasma membrane	Envelope proteins	Lipoproteins, peptidoglycans
3	Endosomes	ds RNA	
4	Plasma membrane	Envelope proteins	Lipopolysaccharide
5	Plasma membrane		Flagellin
6	Plasma membrane		Lipoproteins, peptidoglycans
7	Endosomes	ssRNA	
8	Endosomes	ssRNA	
9	Endosomes	Unmethylated CpG	Unmethylated CpG
10	Plasma membrane	Unknown (2005)	Unknown (2005)
11	Plasma membrane		Uropathogenic bacteria

TLRs coinvolti nelle infezioni virali

TLR9: riconosce motivi CpG non metilati (es. DNA di herpesvirus)

TLR3: riconosce dsRNA (intermedio replicativo virus a RNA)

TLR7, 8: riconoscono ssRNA tipici virali

Mentre i TLRs che riconoscono batteri e miceti sono all'esterno della membrana, quelli che riconoscono gli acidi nucleici virali sono sulle membrane intracellulari

INTERFERON

Il sistema degli interferoni (IFNs) è una delle più importanti difese antivirali: gruppo di proteine sintetizzate in risposta all'infezione virale.

Effetto transiente.

Effetto non diretto.

Specie-specifici ma non virus-specifici.

Secreti sia localmente che sistemicamente, inducono le cellule a produrre una serie di proteine che causano molteplici effetti (blocco replicazione virale, inibizione crescita cellulare - specie tumorale - attivazione macrofagi, linfociti, NK, upregolazione molecole istocompatibilità, ecc.).

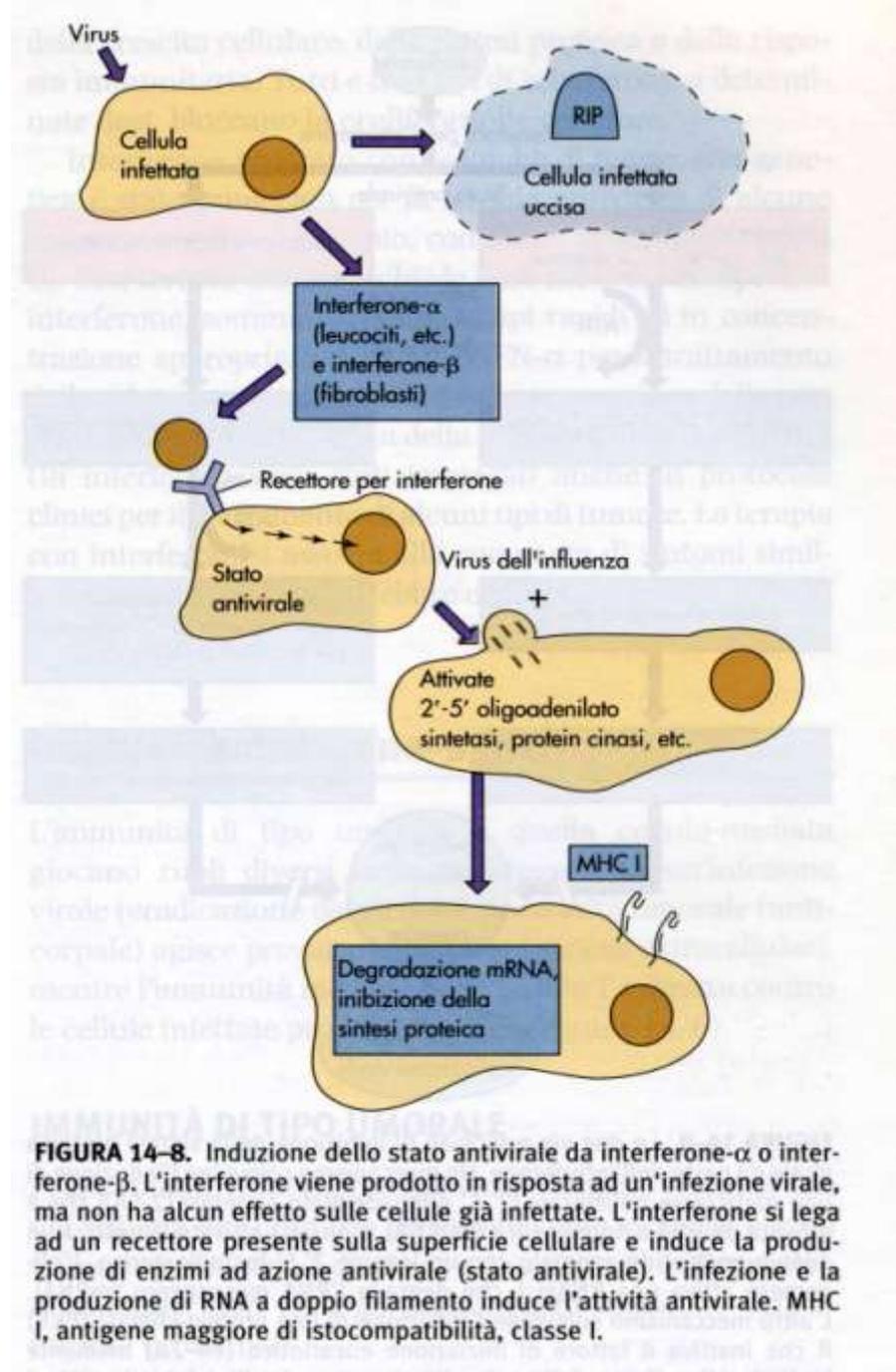


FIGURA 14-8. Induzione dello stato antivirale da interferone- α o interferone- β . L'interferone viene prodotto in risposta ad un'infezione virale, ma non ha alcun effetto sulle cellule già infettate. L'interferone si lega ad un recettore presente sulla superficie cellulare e induce la produzione di enzimi ad azione antivirale (stato antivirale). L'infezione e la produzione di RNA a doppio filamento induce l'attività antivirale. MHC I, antigene maggiore di istocompatibilità, classe I.

Induttori di IFN

- **Virus**
- **Microrganismi intracellulari**
(batteri, miceti, protozoi)
- **Attivatori dei TLRs o mitogeni**
- **Polimeri sintetici** (polifosfati, ecc.)
- **Antibiotici** (es kanamicina)
- **Vari composti sintetici a basso PM**

RIQUADRO 14-6. Interferoni

Induzione

Acido ribonucleico a doppio filamento (dsRNA) (ad esempio, RNA intermedio virale)

Inibizione virale della sintesi proteica cellulare

Interazione dei virus con envelope con le cellule dendritiche immature

Meccanismo d'azione

Le cellule inizialmente infettate rilasciano interferone

L'interferone si lega ad uno specifico recettore sulla superficie di un'altra cellula

L'interferone induce uno "stato antivirale":

Sintesi di protein-chinasi R (PKR), 2'-5' oligoadenilato sintetasi, ribonucleasi L

L'infezione virale della cellula attiva questi enzimi

L'RNA messaggero (mRNA) viene degradato e la sintesi proteica inibita per bloccare la replicazione virale

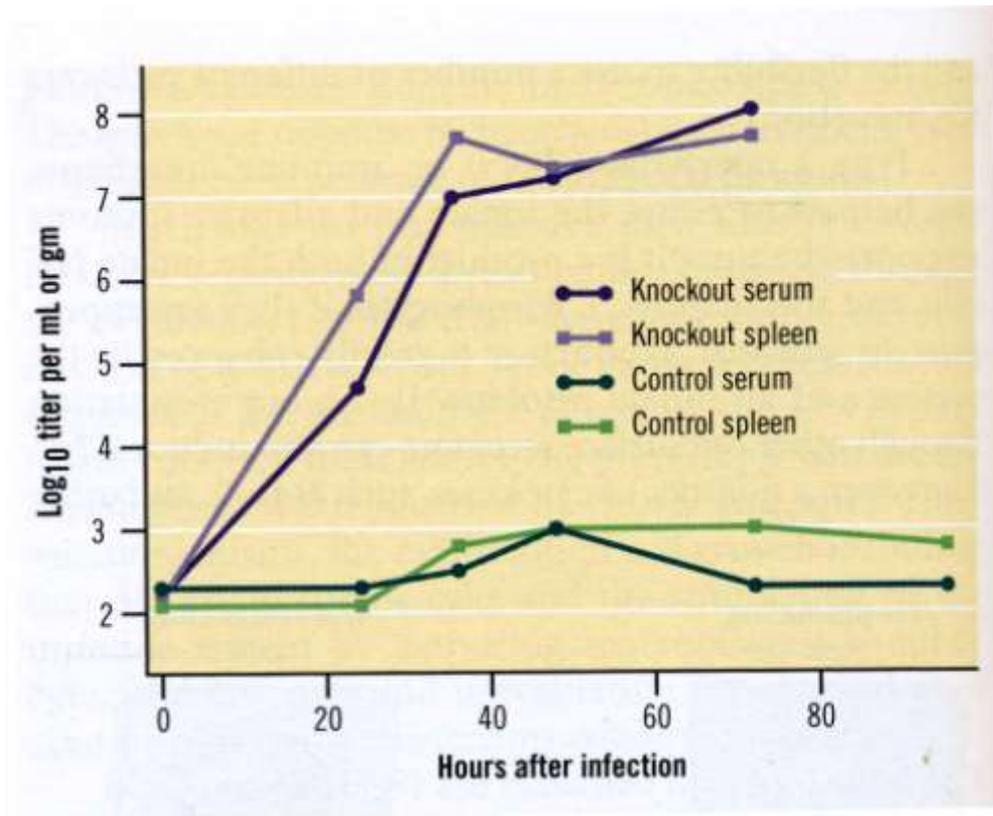
Degradazione di RNA (2'-5' oligoadenilato sintasi e RNasi L)

Inibizione dell'assemblaggio ribosomiale (PKR)

Inizio della risposte antivirali innate e immuni

Importanza dell'IFN

Topi knockout senza il recettore per IFN di tipo 1 sono estremamente suscettibili all'infezione da virus. I topi sono stati infettati con bassa carica (100 PFU) di virus Sindbis.



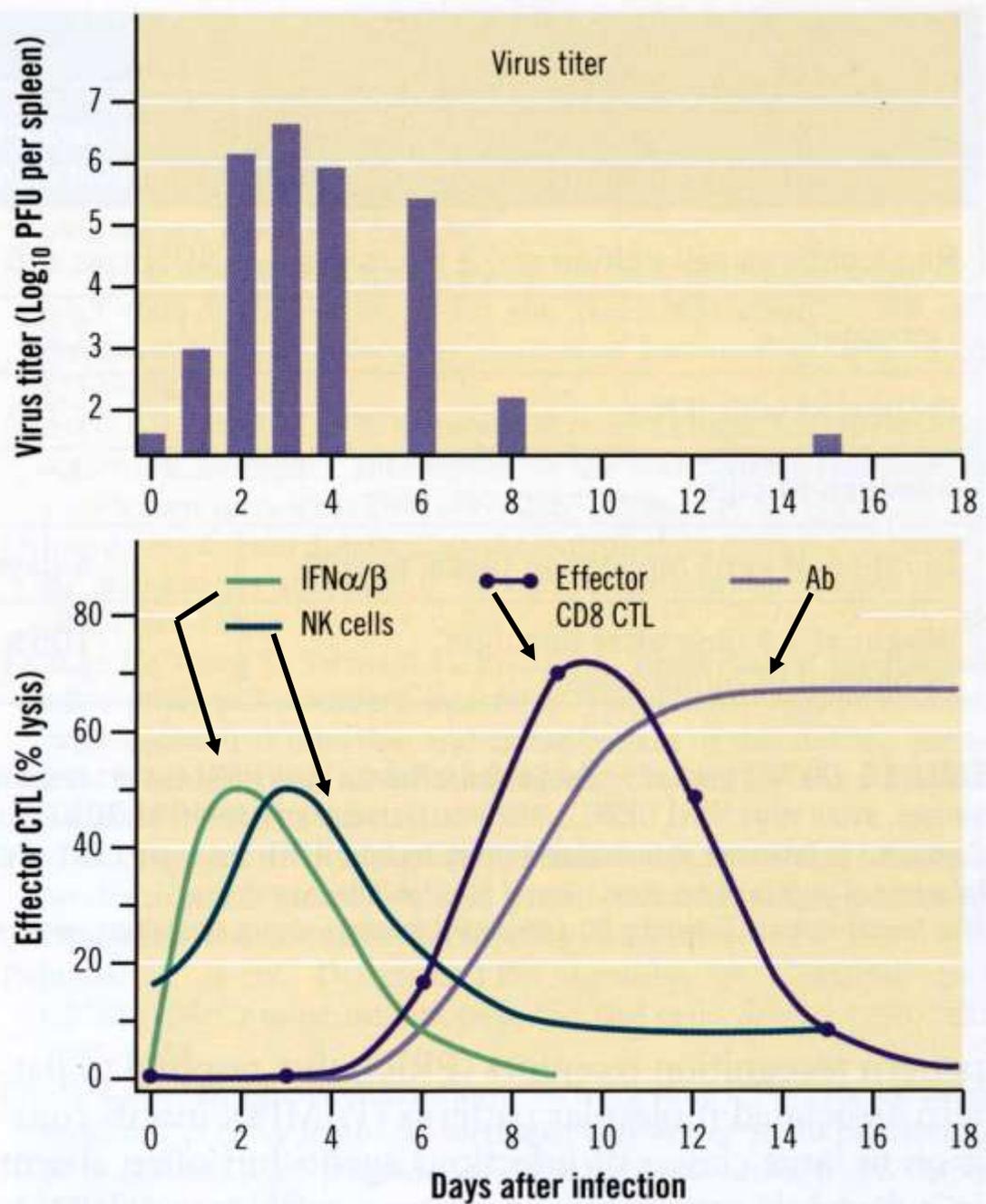
Azione sequenziale degli IFNs

1. **IFN-beta** (tipo 1), prodotto da cellule epiteliali e fibroblasti, diffonde scarsamente dalla sede di produzione, e raggiunge facilmente alte concentrazioni locali, efficaci nel proteggere le cellule vicine a quella infettata.
2. Se l'infezione progredisce e raggiunge il circolo, può venire in contatto con i diversi tipi leucocitari che producono **IFN-alfa** (tipo 1): molto diffusibile, raggiunge tutti gli organi e contrasta efficacemente la diffusione dell'infezione.
3. Continuando l'infezione, si attiva la risposta adattativa con la produzione di **IFN-gamma** (tipo 2), che potenzia la risposta cellulo-mediata.

Cinetica delle risposte immunitarie all'infezione virale

Le risposte innate non specifiche precedono l'induzione delle risposte antigene-specifiche. Le due risposte agiscono in modo sinergico e complementare

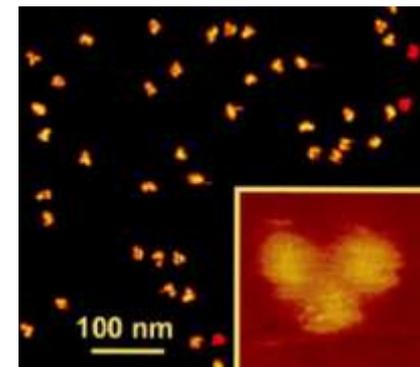
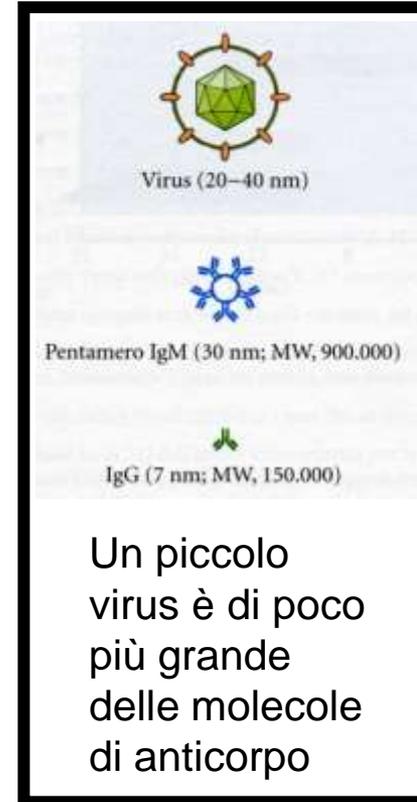
Il diagramma mostra la sequenza della comparsa di Interferoni, attività NK, CTL virus-specifici e anticorpi nell'infezione col virus murino della coriomeningite linfocitaria.



Immunità Adattativa Umorale

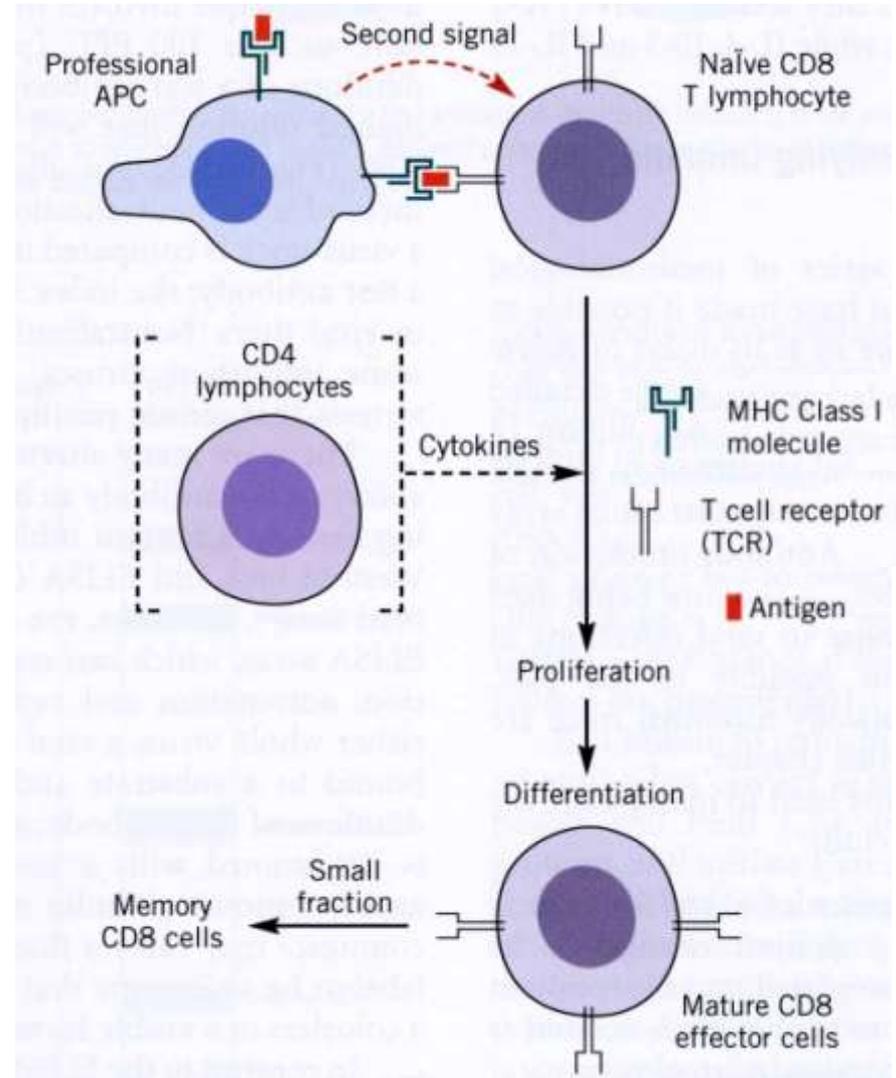
Gli anticorpi antivirali specifici hanno diverse funzioni:

- ❖ Legano il virione e lo “**neutralizzano**” rendendolo non infettante (è impedito l'assorbimento ai recettori) (NB non tutti gli anticorpi sono neutralizzanti, e non sempre l'attività neutralizzante in vivo correla con quella in vivo)
- ❖ Legano **complemento**, attivando la cascata e causando la lisi del virione
- ❖ Legano i recettori **Fc** presenti sui macrofagi, aumentando la fagocitosi dei complessi Ag/Ab
- ❖ Mediano la **ADCC** (Antibody Dependent Cell-mediated Cytolysis) operata dalle NK, che distruggono cellule che esprimono antigeni virali



Immunità Adattativa cellulo-mediata

I linfociti T **CD8** sono cellule effettrici che lisano le cellule bersaglio e secernono citochine. Quando i CD8 sono attivati (mediante interazione con le APC), rilasciano **perforina**, che produce pori nelle cellule bersaglio (=che esprimono l'Ag presentato alle CD8). Secernono anche **serin esterasi** che innescano l'apoptosi della cellula bersaglio. Producono **citochine** ($\text{IFN}\gamma$, $\text{TNF}\alpha$, IL-2) che possono indurre apoptosi.



Schema semplificato dell'induzione dei CD8 citotossici. Una APC espone sulla superficie l'antigene presentato da MHC classe I. Il CD8 "naive" lega il peptide attraverso il TCR e, attraverso ulteriori segnali, prolifera. Poi differenzia in CD8 maturo capace di riconoscere e uccidere le cellule che espongono lo stesso antigene esposto originariamente dalla APC.

Immunità mucosale

Particolarmente importante, visto che le mucose sono uno dei migliori siti di entrata per i virus. E' importante soprattutto nelle reinfezioni, e utilizza sia le risposte umorali che cellulo-mediate. Le mucose contengono molte plasmacellule, che secernono **IgA**. Sono presenti anche **IgG**, che escono per diffusione dai capillari.

Le mucose contengono anche cellule **CD4** e **CD8**, in grado di montare riposta cellulo-mediata con diversa distribuzione di attività CTL rispetto alla presentazione sistemica, che sembra proteggere meglio.

Le immunità mucosale e sistemica inducono diverse distribuzioni di CTL, e diversa protezione

		Immunization		
		Subcutaneous	Rectal	Not immunized
CTL response (% lysis)	Spleen	68%	45%	ND
	Peyer's patches	3%	35%	ND
	Lamina propria	5%	30%	ND
Rectal challenge	Virus titer log 10 per ovary	8.3	4.3	8.3

Topi sono stati immunizzati con un peptide virale per via sottocutanea o intrarettale. CTL specifici si ritrovano nella milza con entrambi i tipi di immunizzazione, ma nel sito mucosale i CTL si trovano solo dopo immunizzazione rettale.

Quando poi i topi sono stati infettati per via rettale con un virus che presentava lo stesso Ag, il titolo virale era significativamente più basso con l'immunizzazione rettale.

Immunopatogenesi virale

Le risposte immunitarie che servono per difenderci a volte possono essere responsabili della patologia.

Sintomi di molte malattie sono conseguenza dell'azione di citochine o di una risposta immune troppo intensa.

Esempi:

I sintomi tipici dell'influenza e di molte altre infezioni virali sono il risultato dell'azione dell'IFN e di altre citochine indotte dal virus)

L'interazione fra Ab e grandi quantità di virus presenti nel sangue può causare **malattie da immunocomplesso.**

Il danno tissutale dell'epatite B è il risultato della risposta immune cellulo-mediata.

Quello che può sembrare un paradosso riflette semplicemente l'equilibrio dinamico fra virus e ospite:

se la risposta immune elimina l'infezione distruggendo un piccolo numero di cellule infettate, i sintomi sono assenti o molto lievi, e l'ospite guarisce senza danni;

se invece prima dall'attivazione immune sono infettate un gran numero di cellule, la distruzione stessa delle cellule infettate può causare gravi conseguenze.