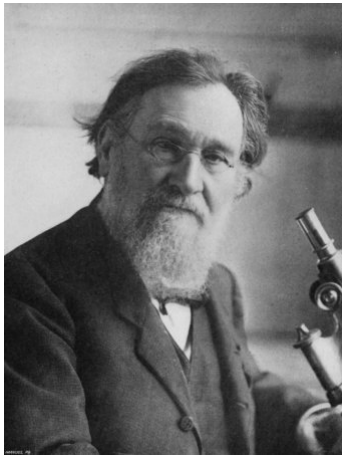




Fagocitosi: scoperta a Messina da Metchnikov...

Nobel 1908 dopo anni di discussioni sul significato della fagocitosi, nonostante il sostegno di Virchow



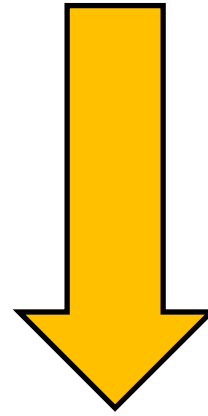
INTERAZIONE A LIVELLO DELLA MEMBRANA

OCCUPAZIONE DEI RECETTORI DA PARTE DI:

Opsonine

complemento

Frammenti anticorpali



AGGREGAZIONE DEI RECETTORI SULLA MEMBRANA



**RIORGANIZZAZIONE DEL
CITOSCHELETRO**

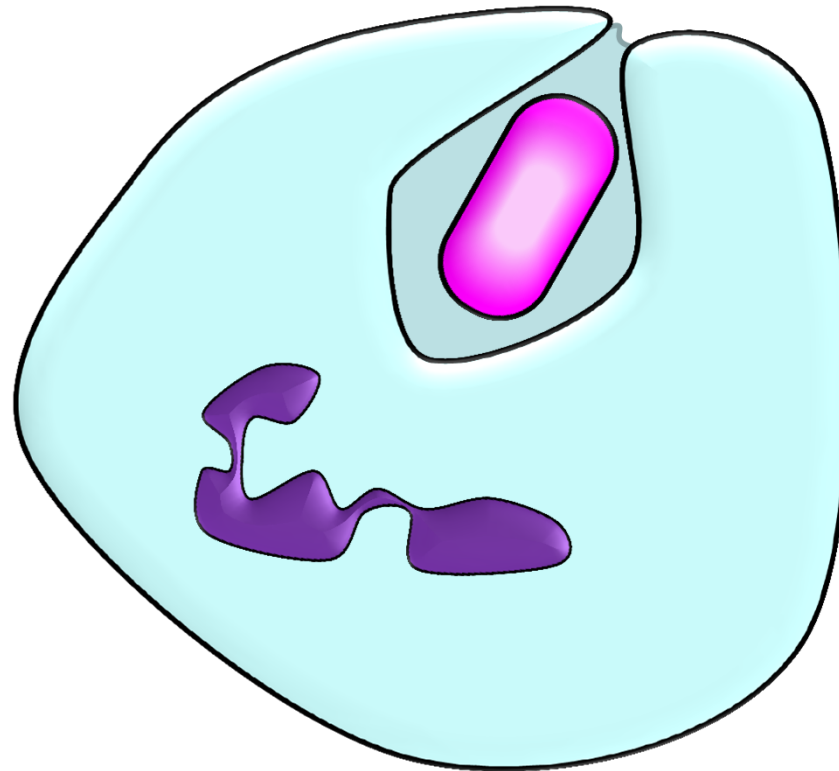
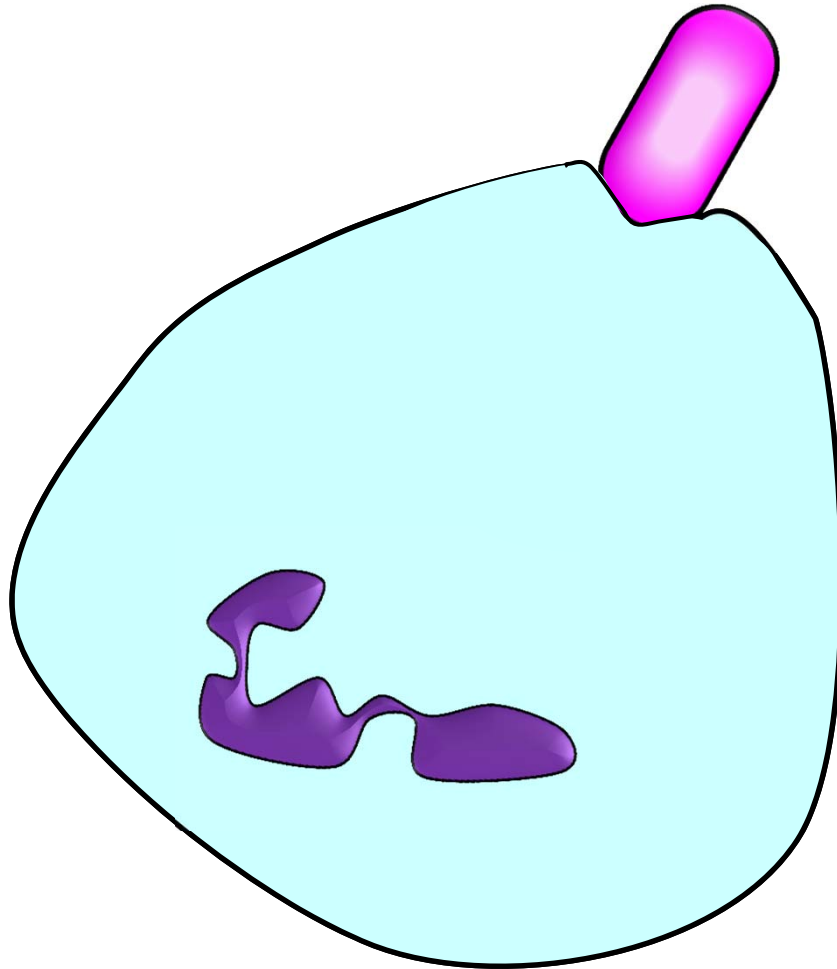


FORMAZIONE DEL FAGOSOMA

L'actina del citoscheletro polimerizza per azione di *GTPasi*

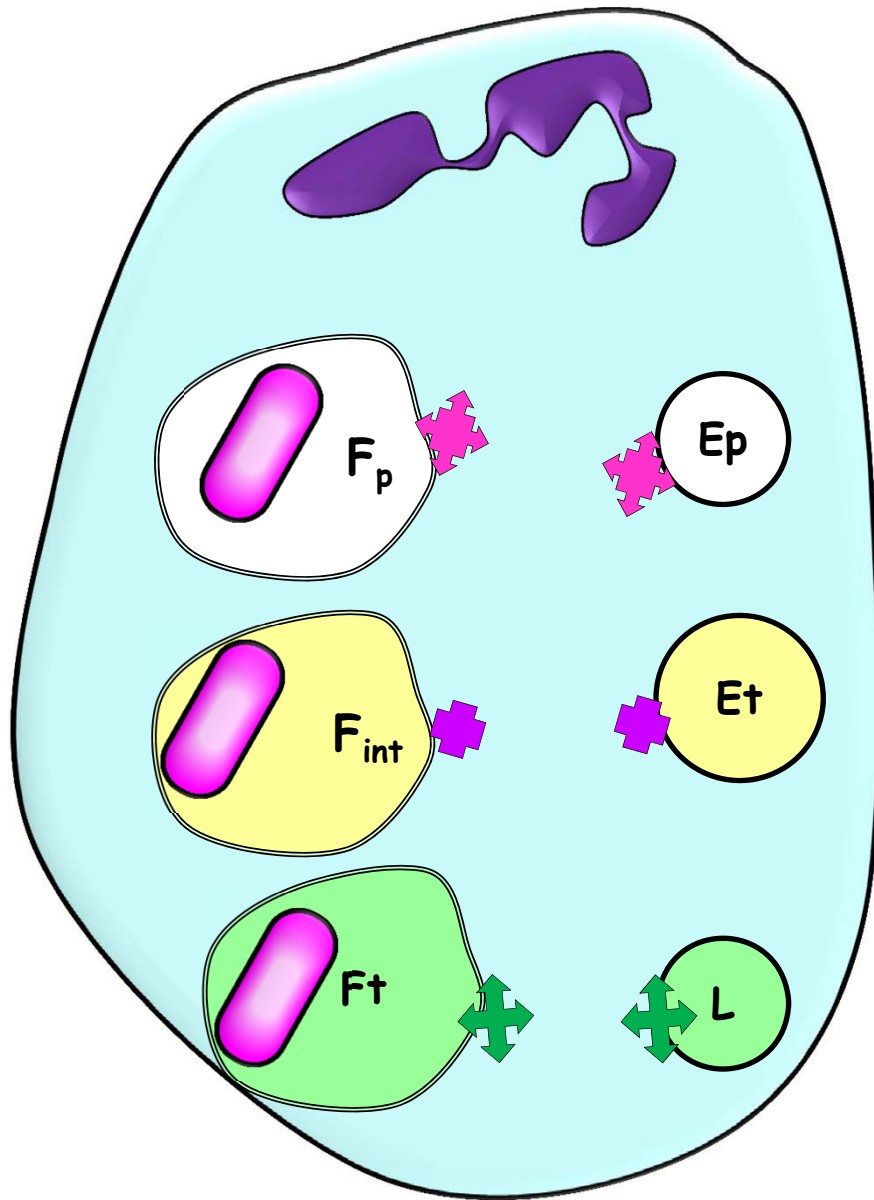
una fossetta avvolge la particella

Dai bordi si alzano pseudopodi che si richiudono sulla particella, inglobandola



Si forma il fagosoma, che si stacca dalla membrana e passa al citoplasma

MATURAZIONE



Il fagosoma si dissocia dal
citoscheletro

SI ACIDIFICA
(ATPasi)

DURANTE LA MATURAZIONE
interagisce con altri organelli

Endosomi (precoci e tardivi)

Lisosomi

In questo processo
acquisisce marcatori di maturazione
(proteine di membrana di endosomi o porzioni
del complesso Golgi/RE)

I marcatori della fase precoce
sono Rab5 + EAA-1

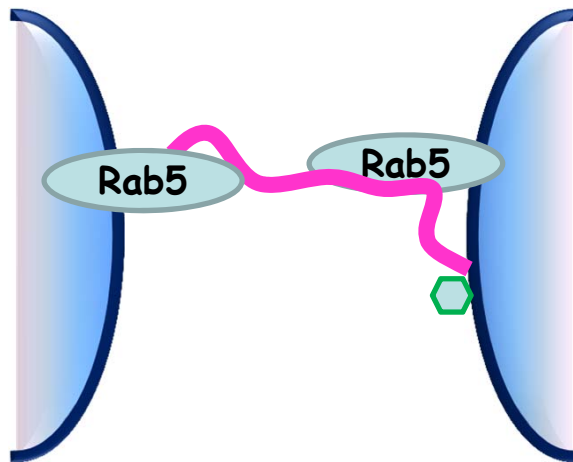
Rab5 è una GTPasi tipica degli
endosomi precoci

Il fagosoma lo
acquisisce

dalla membrana
di origine

Dal citosol

per fusione con
endosomi precoci



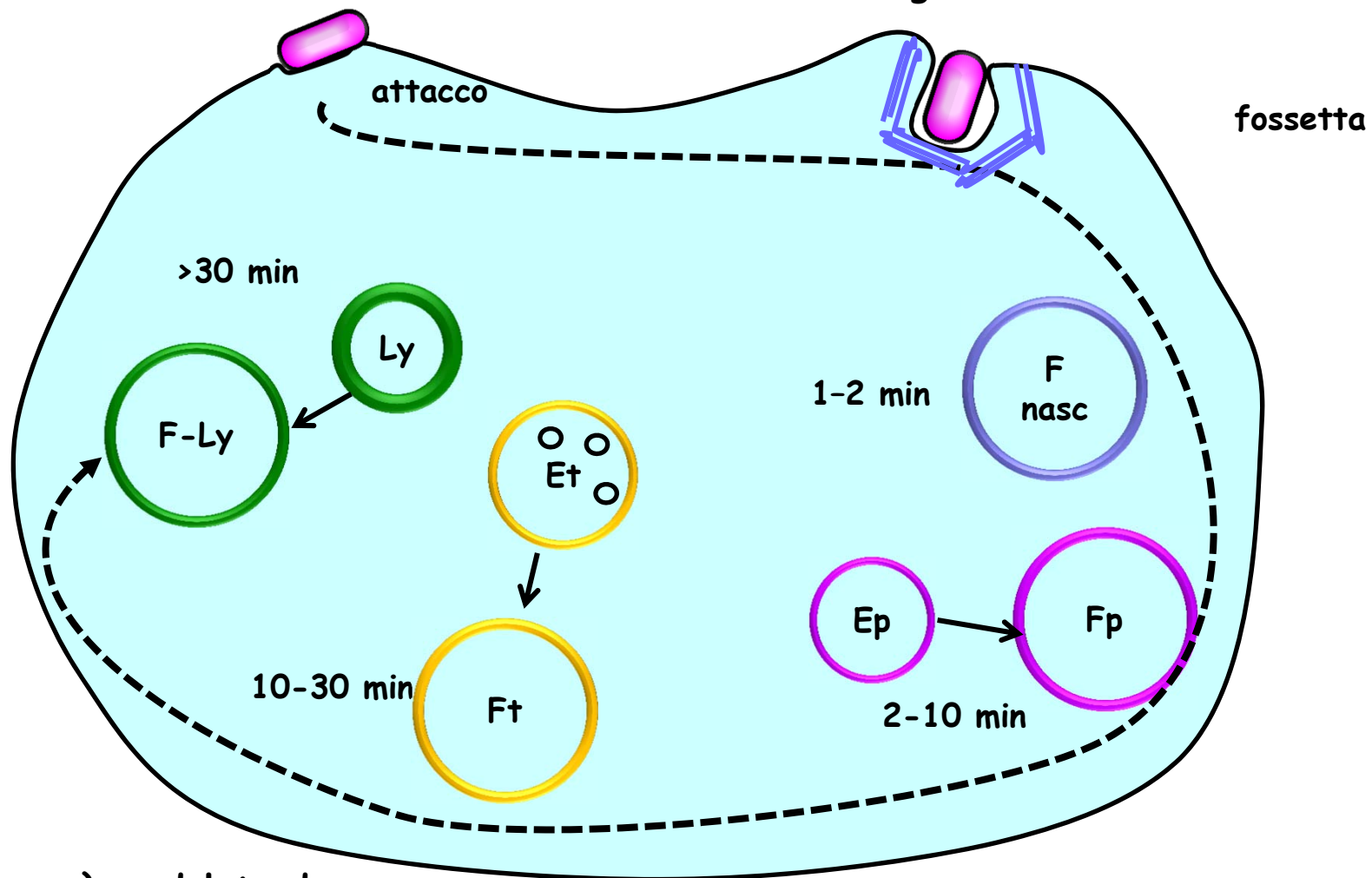
Rab5 recluta EAA-1, un altro
marcatore di stadio precoce
presente negli endosomi

EEA1 innesca la fusione con gli
endosomi tardivi

Recluta Rab7 che è cruciale
per l'interazione con il lisosoma

LAMP-1 è reclutato
nell'interazione con questi

Il processo è completo in genere in
40-60' dalla chiusura del fagosoma



è modulato da:

LIPIDI

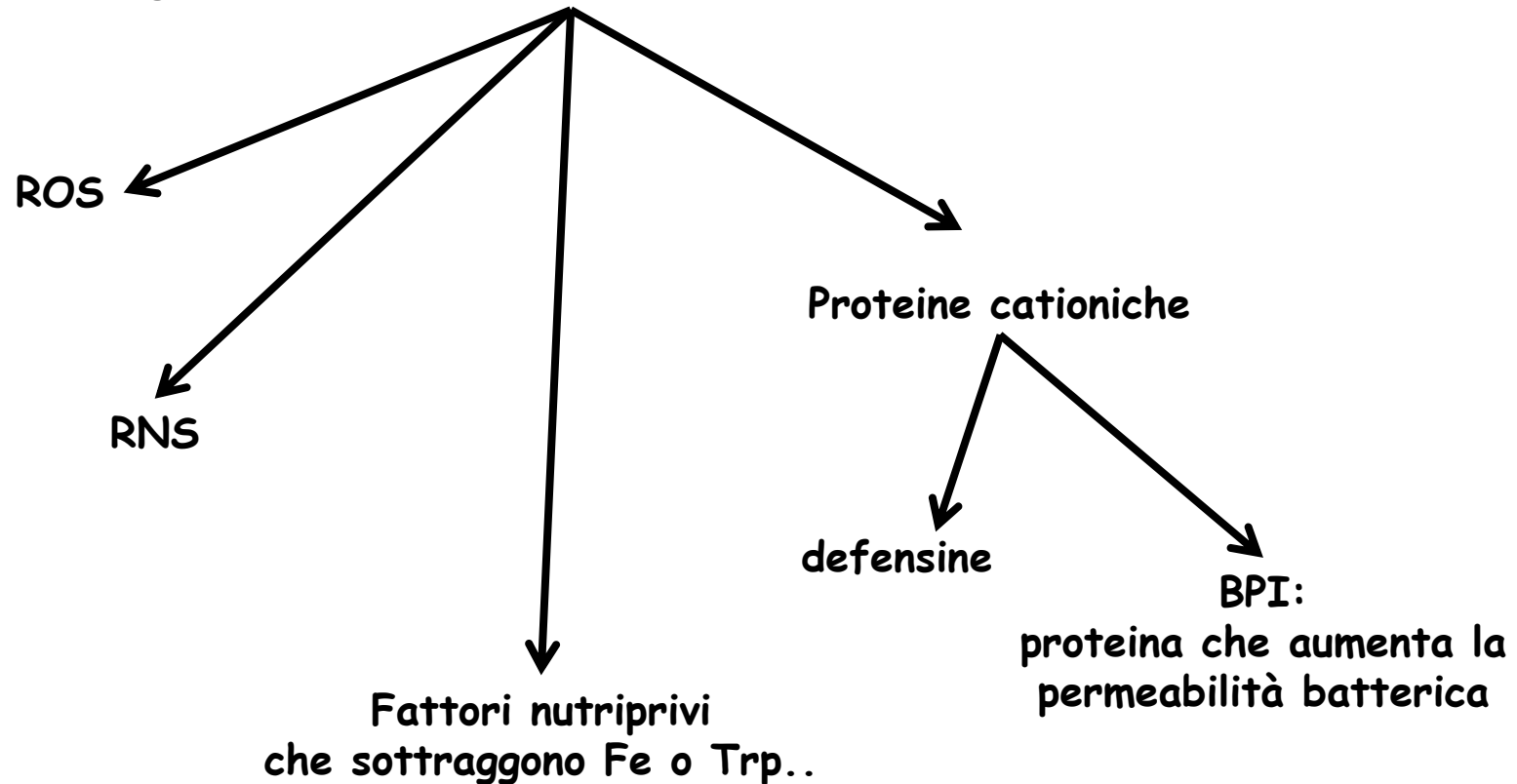
pH

Ca⁺⁺

IL FAGOSOMA MATURO SI ASSOCIA CON IL LISOSOMA

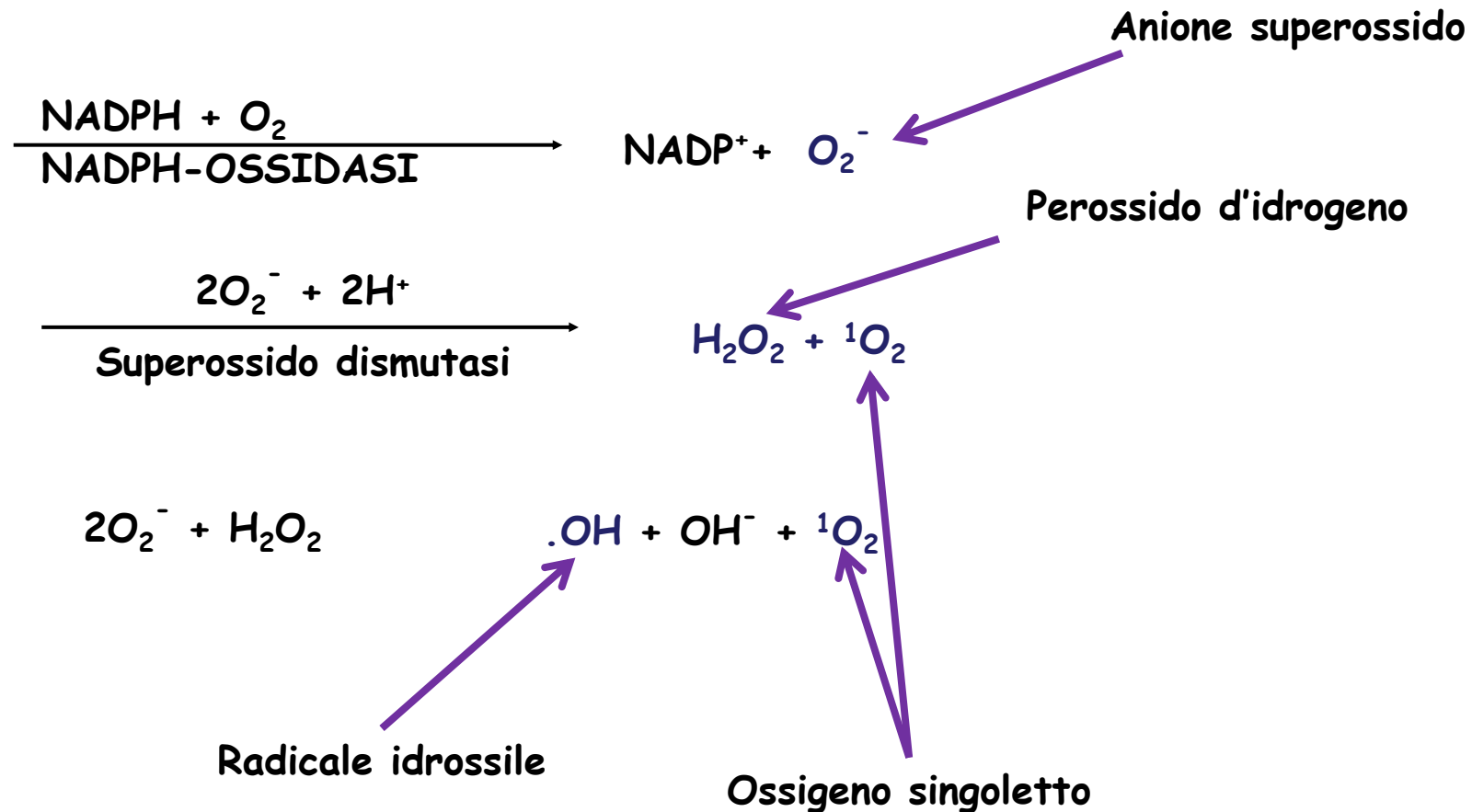
L'acidificazione prosegue nel fagolisosoma

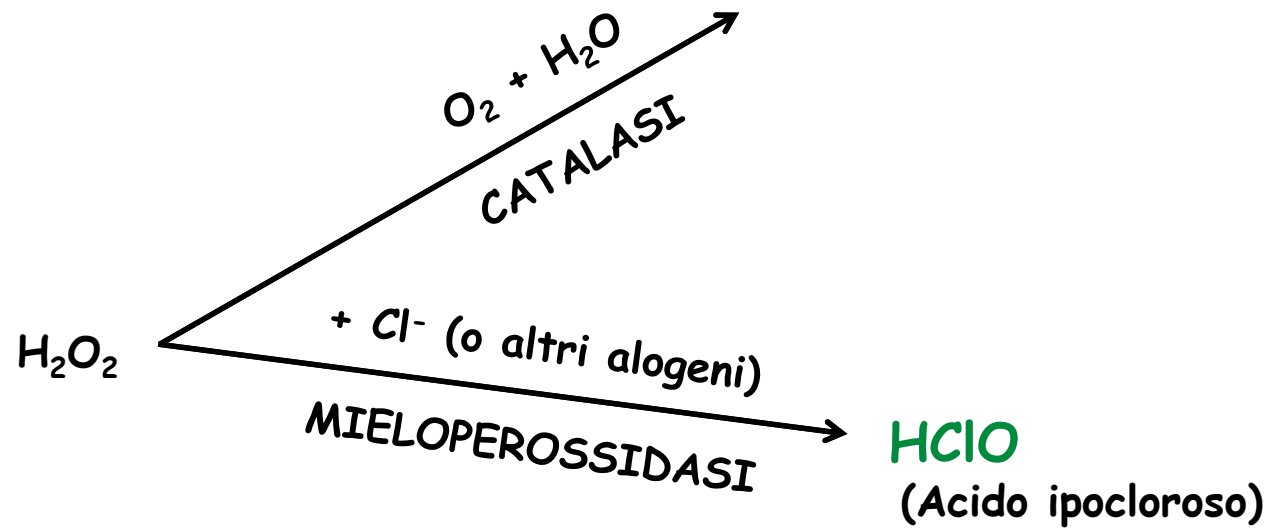
nel fagolisosoma sono riversate sostanze microbicide



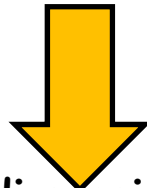
Produzione di ROS
(esplosione respiratoria= consumo di ossigeno)

Iniziata dalla NADPH-ossidasi situata sulla membrana cellulare e su quella del fagosoma

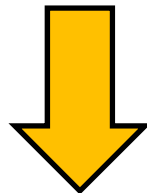




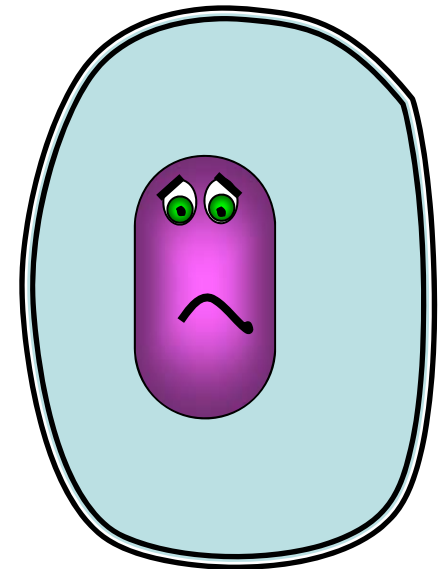
ROS + HClO



Perossidazione lipidi e acidi nucleici batterici



Ossidazione altri costituenti batterici

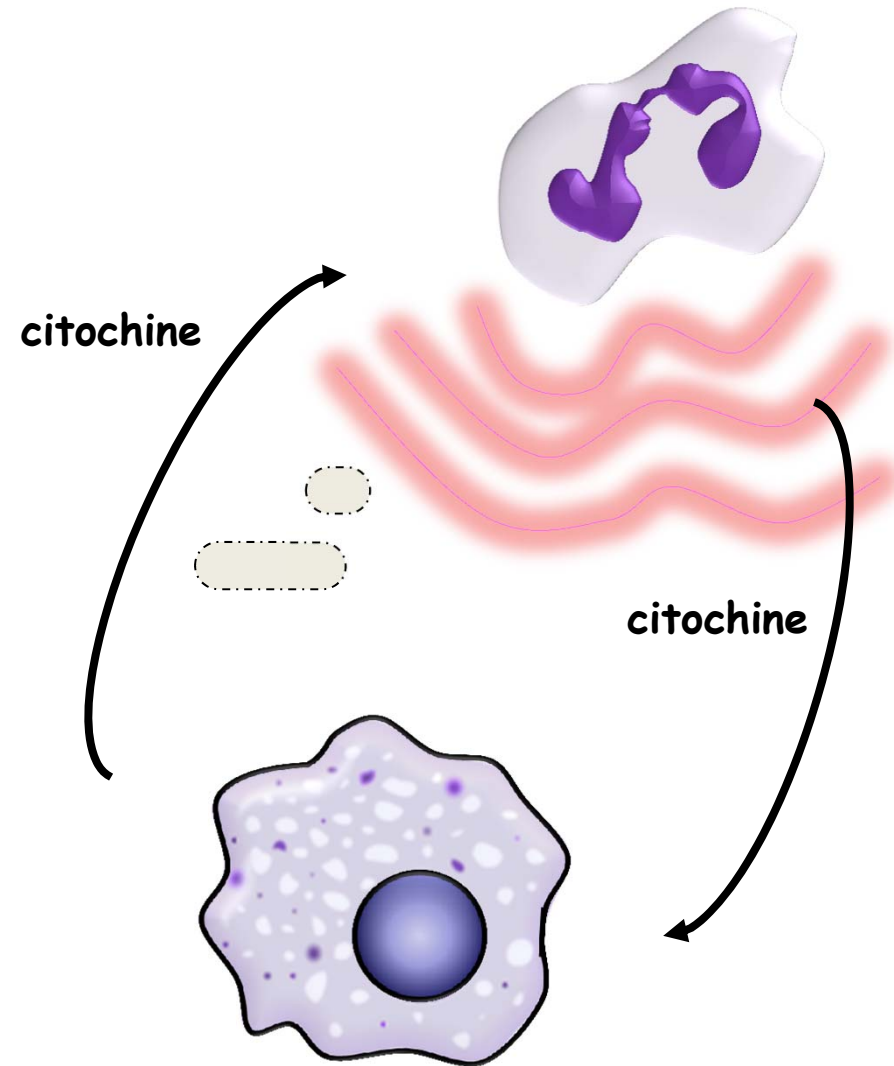


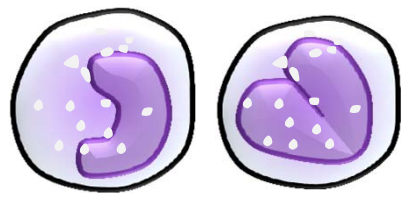
Quando i PMN hanno portato a termine il loro compito

Sono sostituiti dai macrofagi

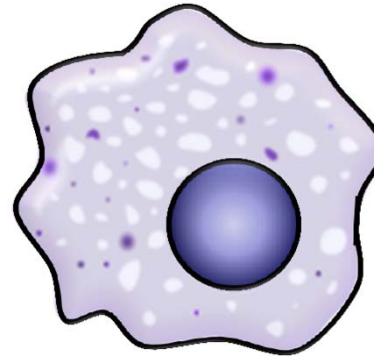
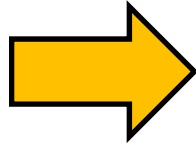
Richiamati da sostanze
emesse dai PMN

ELIMINANO
DETRITI E
BATTERI RESIDUI





MONOCITI



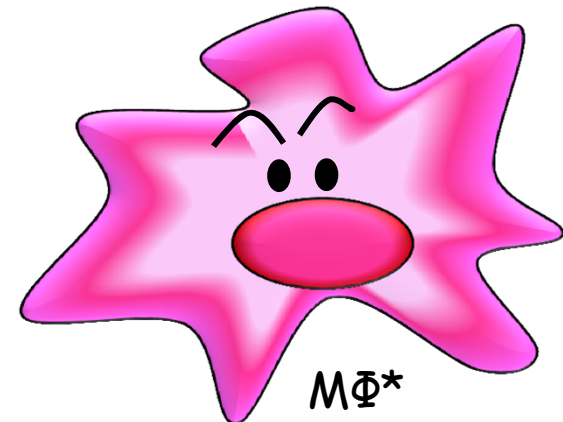
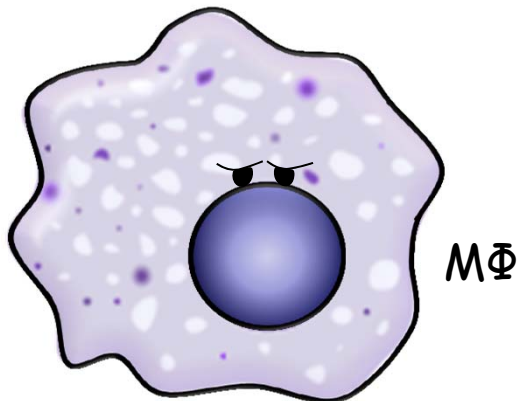
A differenza dei PMN hanno VITA
LUNGA (anche anni)

Localizzati nei tessuti
(reticolo-endoteliali)

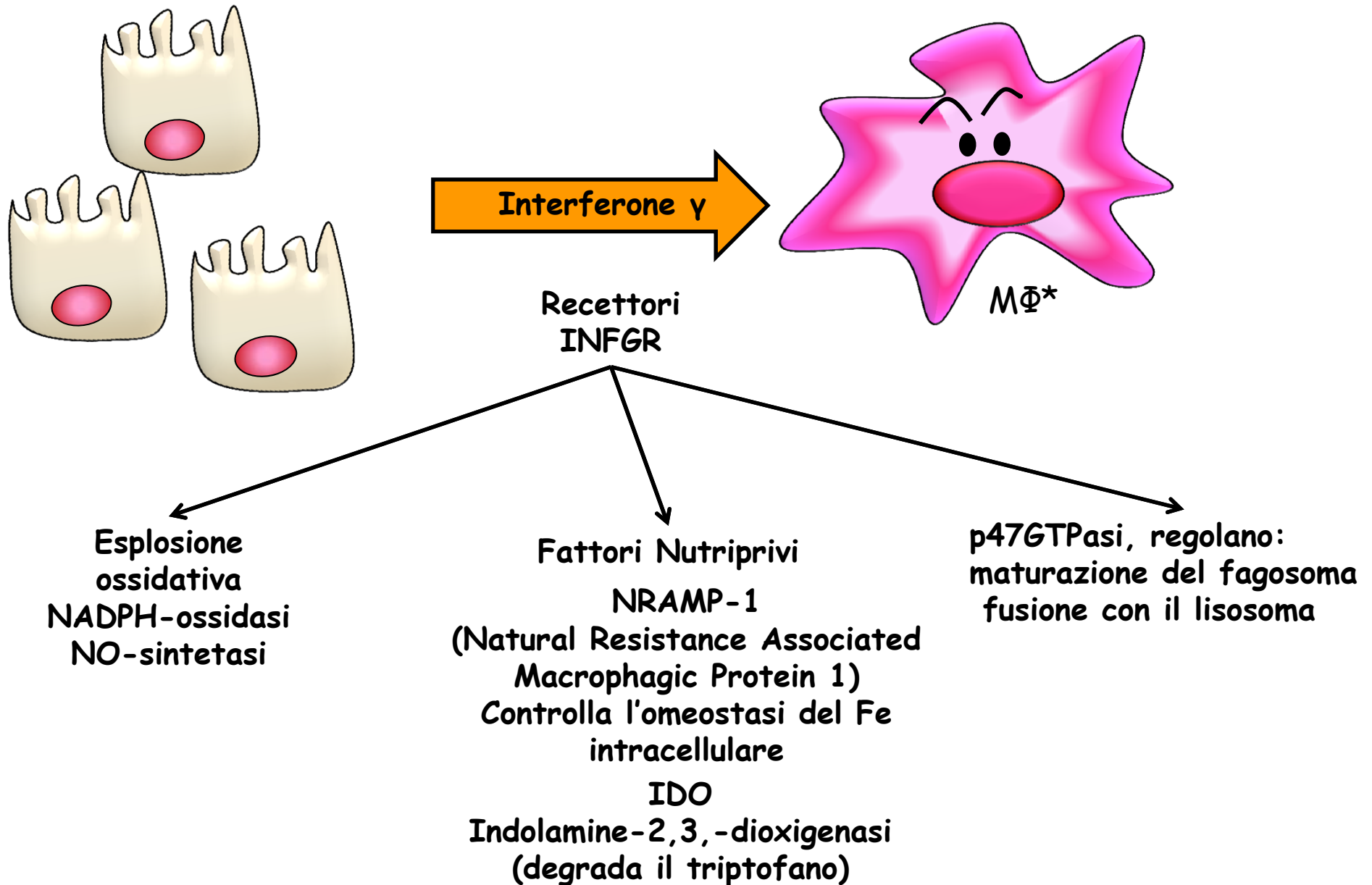
Subentrano definitivamente ai neutrofili
se l'infiammazione diventa cronica

La capacità di fagocitosi e di
uccisione dei macrofagi è BASSA

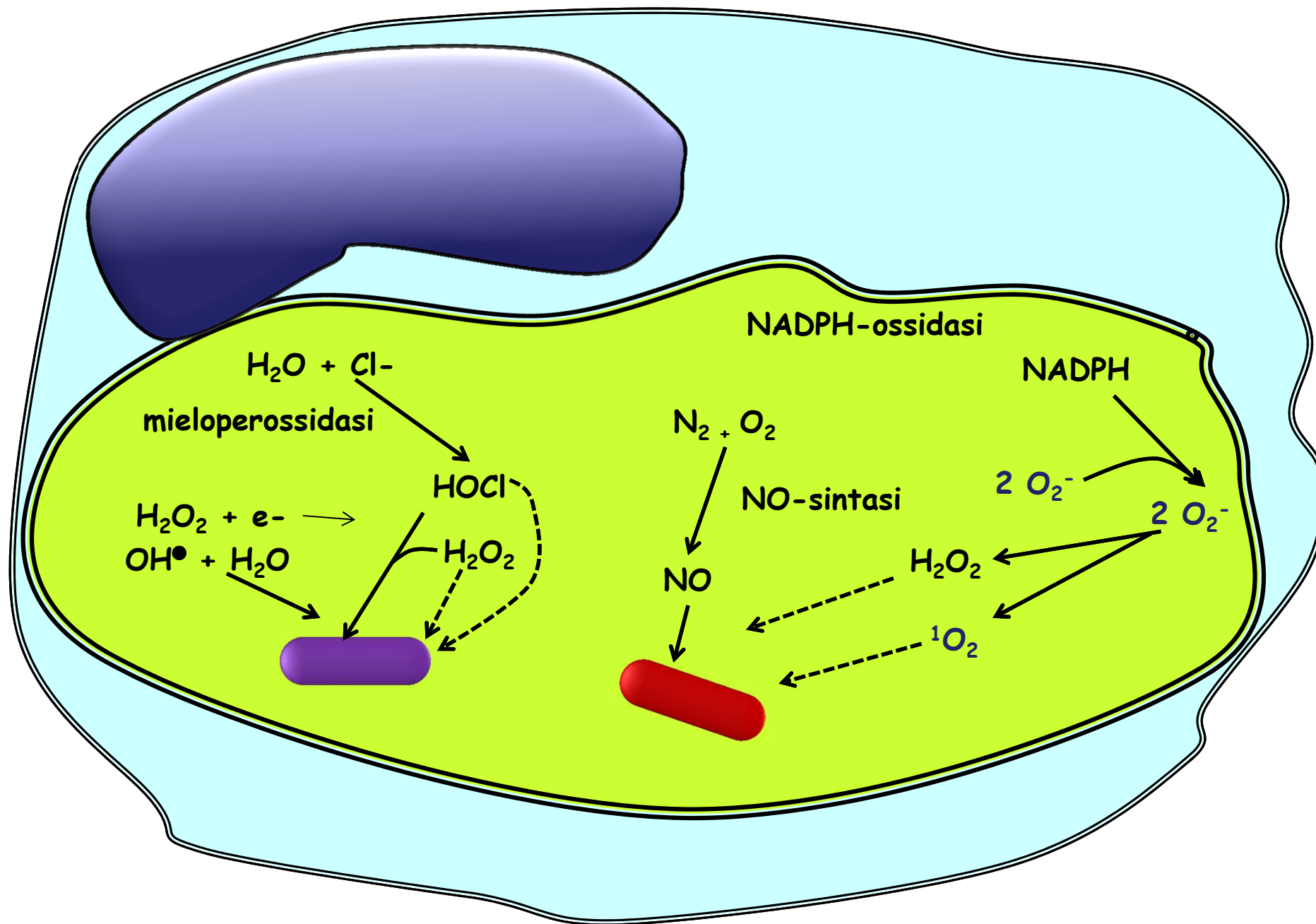
Perché sia efficiente è
necessario che i
macrofagi siano
ATTIVATI



ATTIVAZIONE DEI MACROFAGI

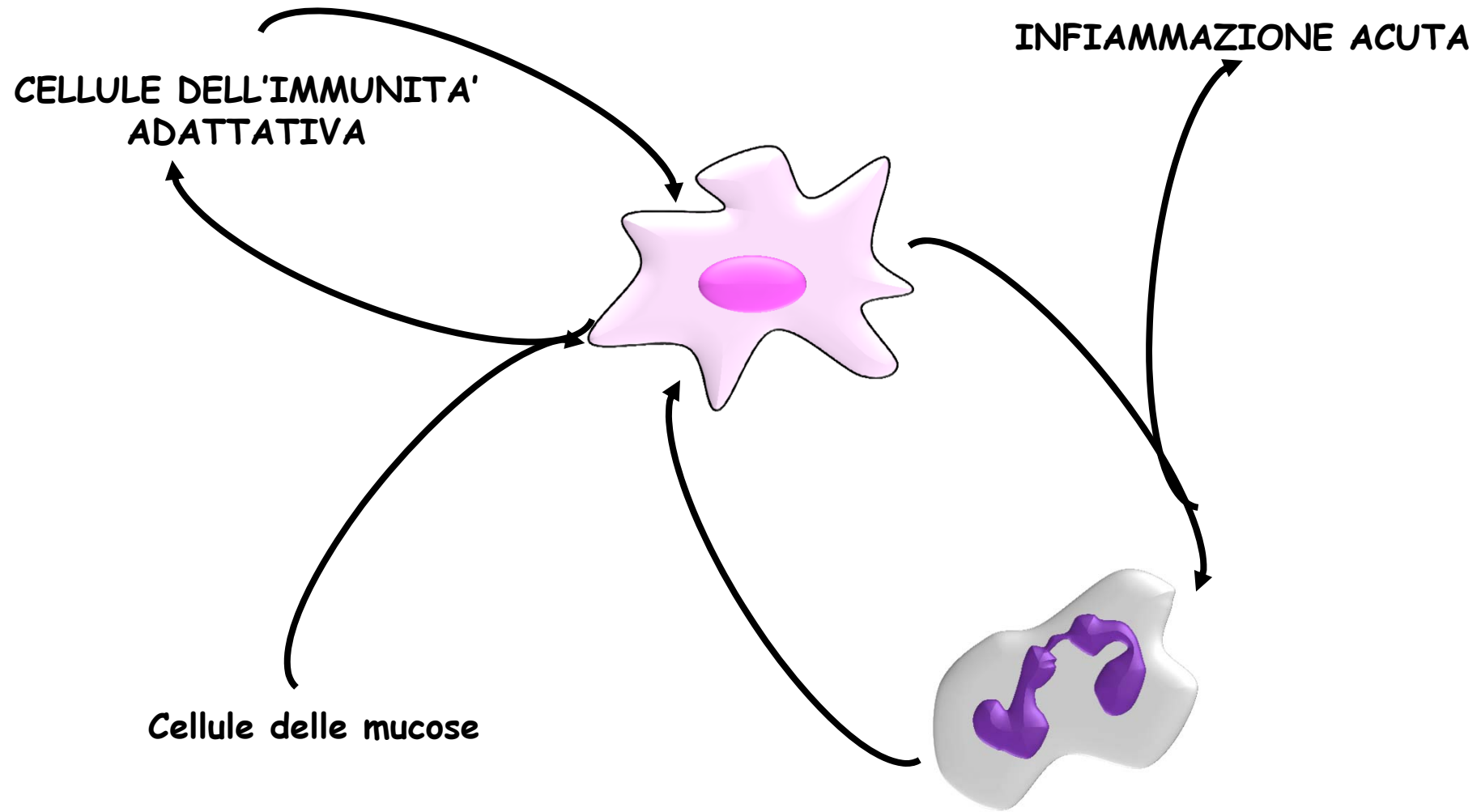


Nei macrofagi attivati sono presenti anche RNS sintetizzate dalla NO-sintasi (inducibile)



**MONOCITI/MACROFAGI: RUOLO CENTRALE
NELLA RISPOSTA IMMUNITARIA**

**INTERAGISCONO CON ALTRE CELLULE
ATTRAVERSO LE CITOCINE**

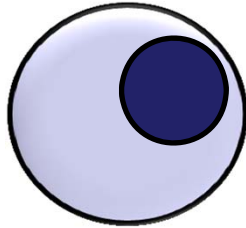


DIFESE ADATTATIVE

ESPOSIZIONE ALL'AGENTE
INFETTANTE



RISPOSTA SPECIFICA

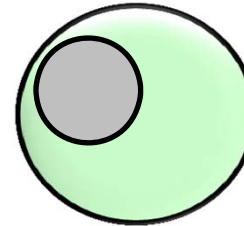


Cellule B
SI SVILUPPANO NEL
MIDOLLO

UMORALE (anticorpi)

ANTICORPI:
IMMUNOGLOBULINE

VARIETA' ENORME
(RIARRANGIAMENTO GENICO)



Cellule T
SI SVILUPPANO NEL TIMO

CELLULO-MEDIATA

RISPOSTA A MOLECOLE
ESTRANEE

ANTIGENE: SOSTANZA NON
RICONOSCIUTA COME "SELF"

INDUCE LA FORMAZIONE DI ANTICORPI

ANTIBODY GENERATOR



ANTIGEN

APTENE

"απτομαι" LEGARE
STRINGERE

UN APTENE NON INDUCE LA
FORMAZIONE DI ANTICORPI

MA E' IN GRADO DI LEGARLI

"ANTIGENE INCOMPLETO"

Linfocita B



ANTIGENI

Proliferaazione
clonale

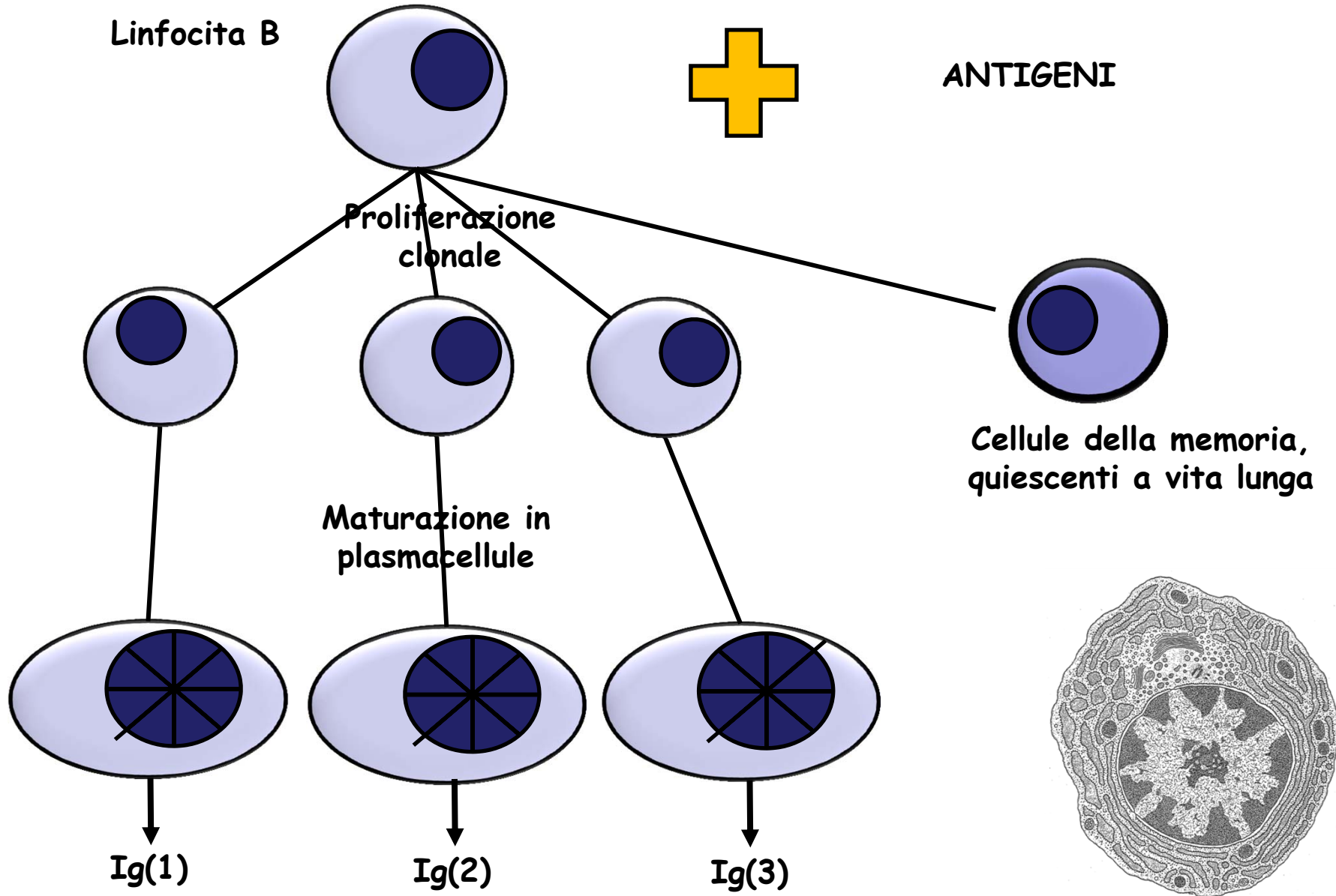
Cellule della memoria,
quiescenti a vita lunga

Maturazione in
plasmacellule

Ig(1)

Ig(2)

Ig(3)

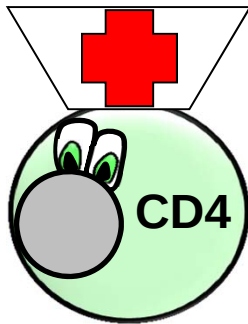


IMMUNITA' CELLULO-MEDIATA

I patogeni intracellulari non sono raggiunti da anticorpi, C', fagociti



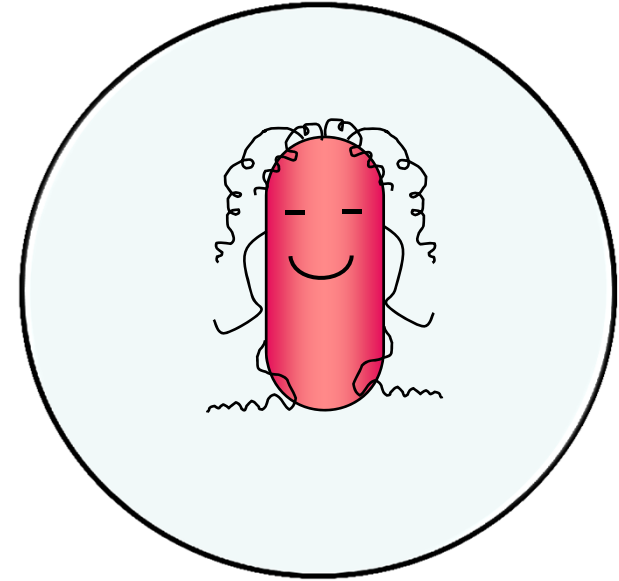
INTERVENTO DEI LINFOCITI T



HELPER



KILLER

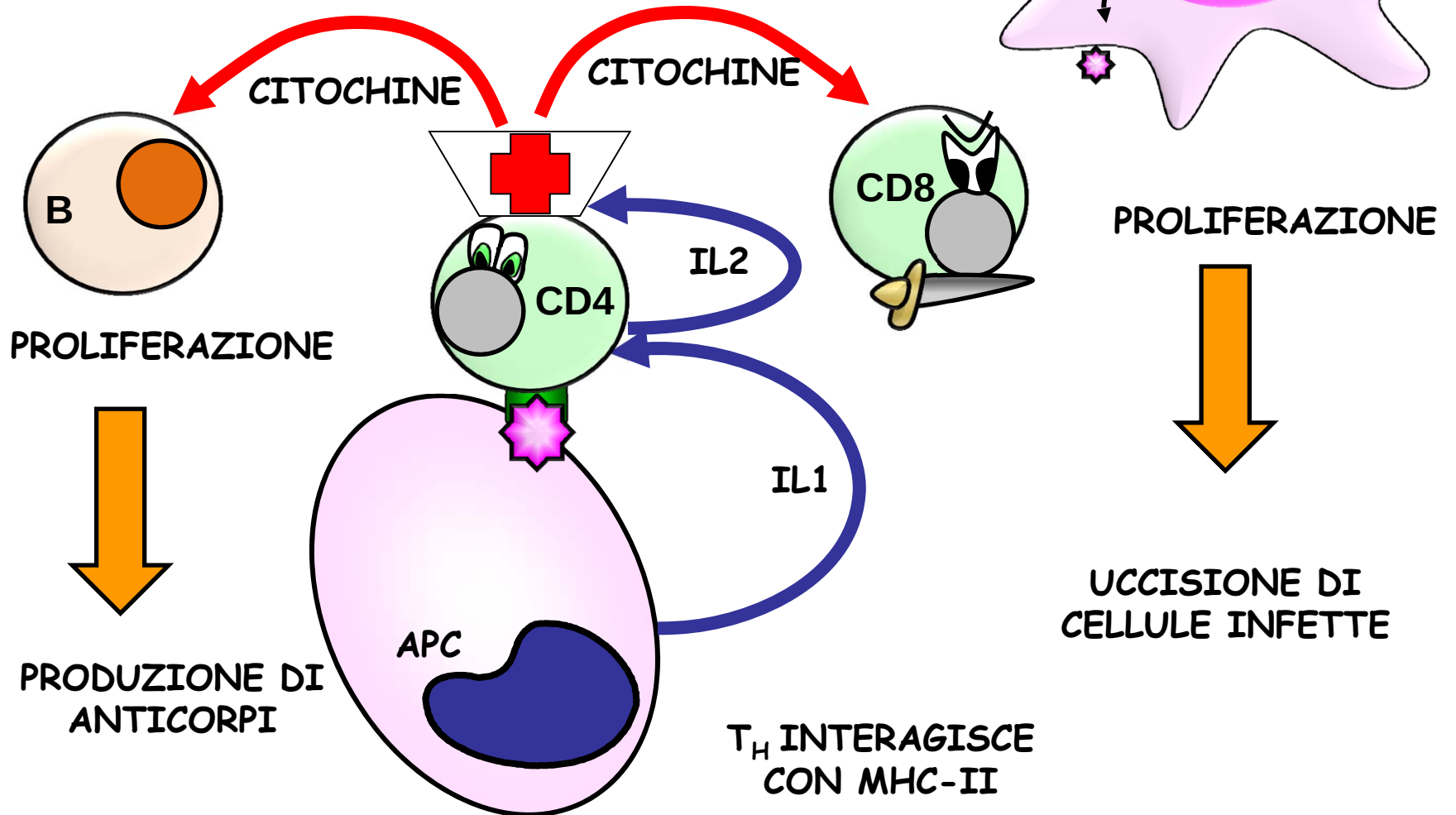


LE CELLULE SOMATICHE HANNO IL COMPLESSO MHC

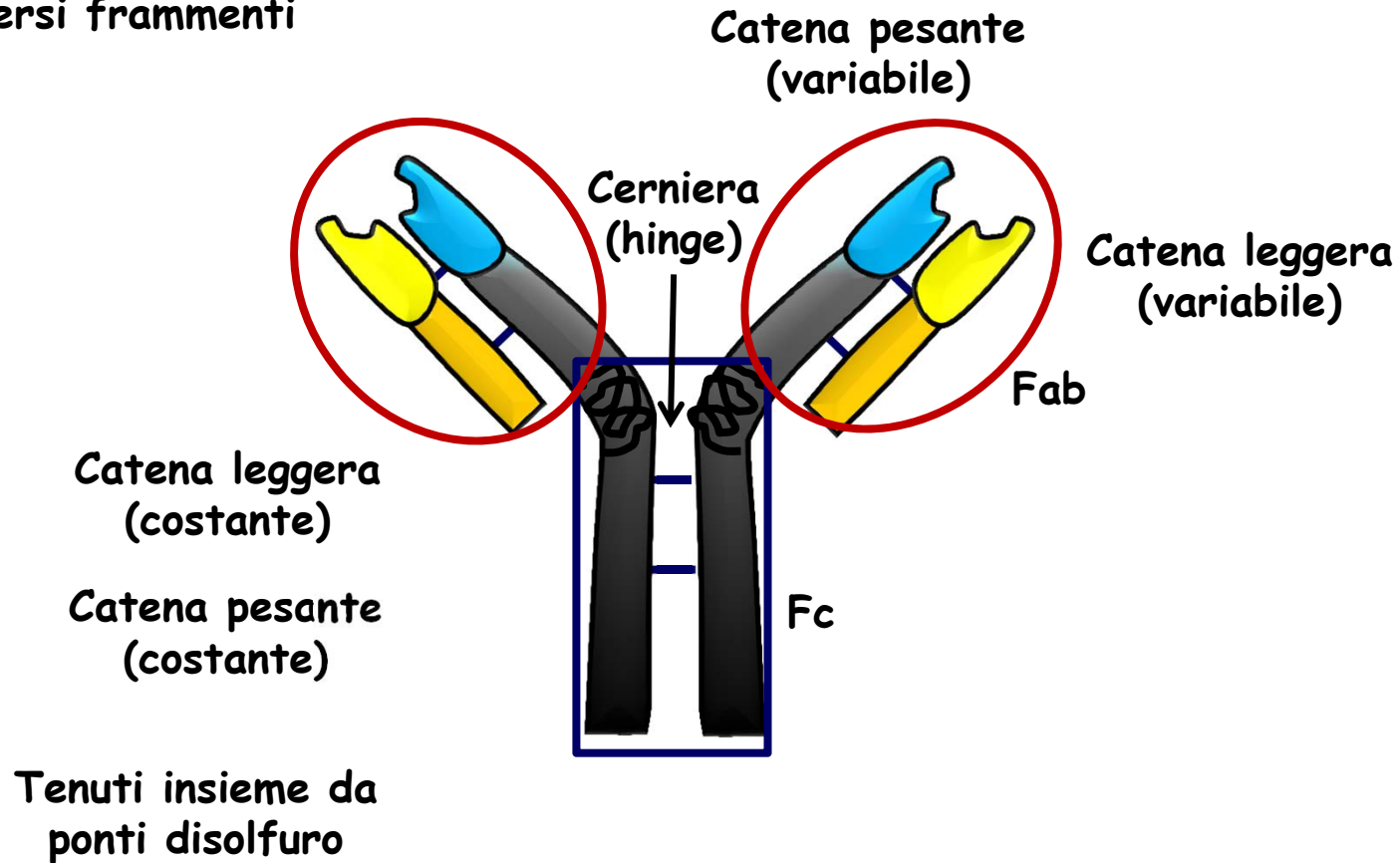
MANTENGONO GLI ANTIGENI IN CONFORMAZIONE TALE DA ESSERE RICONOSCIUTI

APC: Antigen Presenting CELL
ES. UN MACROFAGO

ESPONE L'ANTIGENE SU MHC-II



Anticorpi: formati da
diversi frammenti



Sono divisi in 5 classi
IgA, IgD, IgE, IgG, IgM

FUNZIONI

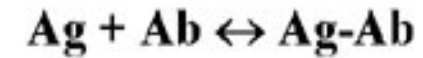
Neutralizzazione (es. tossine)
opsonizzazione

Aggregazione → allontanamento

AFFINITA'

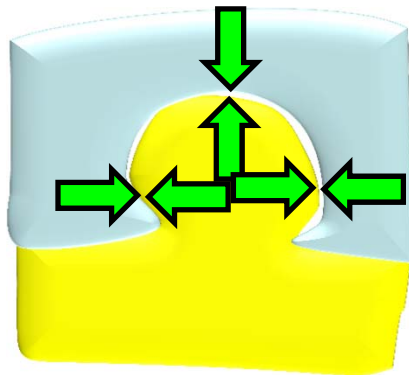
FORZA DI REAZIONE TRA UN SOLO
DETERMINANTE ANTIGENICO E UN
SOLO SITO COMBINATORIO

SOMMA TRA LE FORZE REPULSIVE
E QUELLE ATTRATTIVE

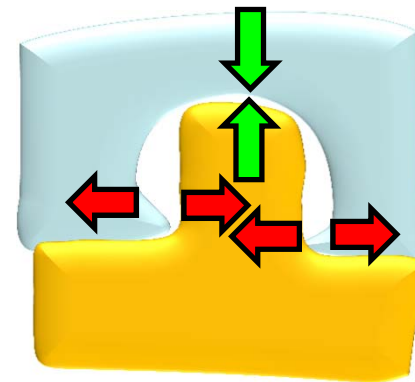


$$K_{eq} = \frac{[Ag-Ab]}{[Ag] \times [Ab]}$$

È LA COSTANTE DI EQUILIBRIO CHE DESCRIVE
LA REAZIONE ANTIGENE-ANTICORPO



ALTA AFFINITA'

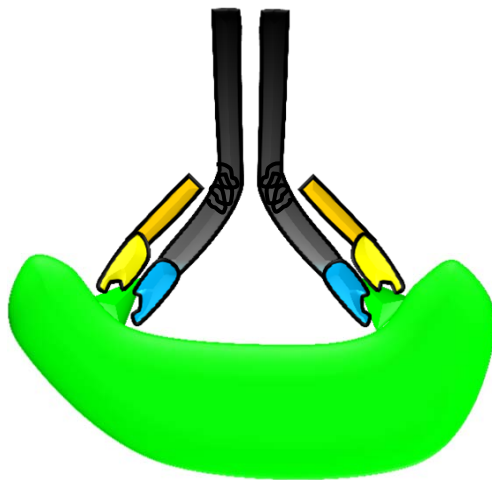


BASSA AFFINITA'

MISURA DELLA FORZA DI
LEGAME CUMULATIVA

TRA UN ANTIGENE CON PIU'
DETERMINANTI
E UN ANTICORPO
MULTIVALENTE

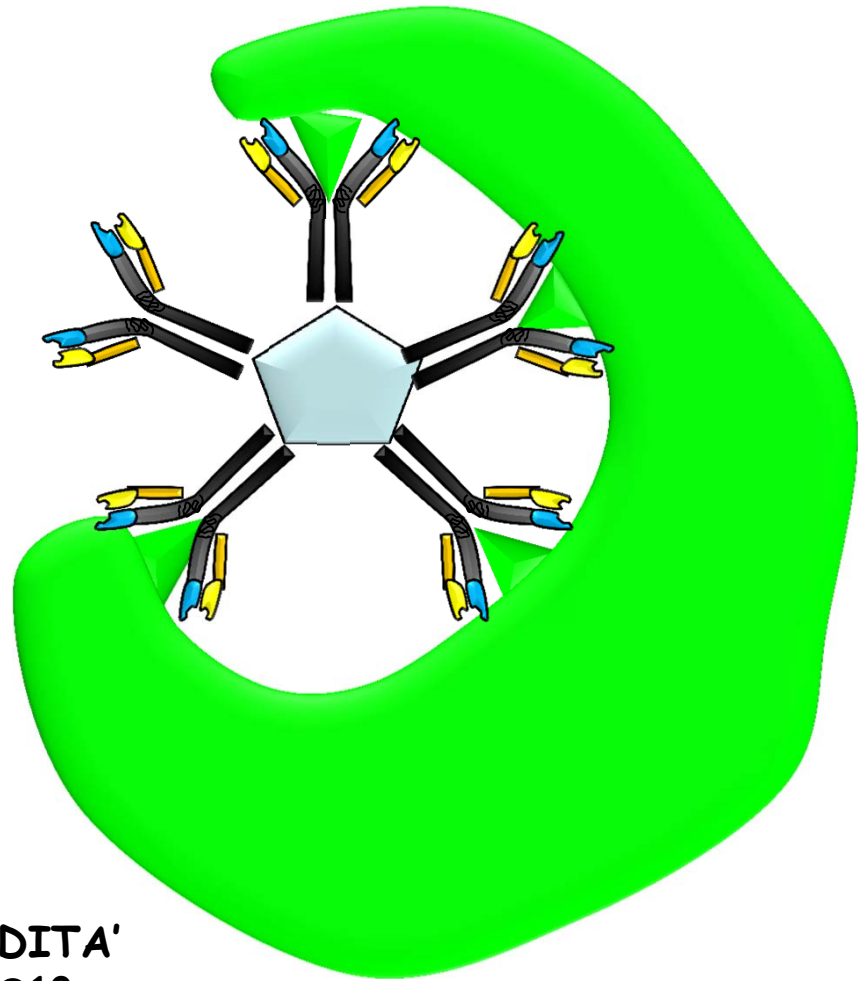
E' > DELLA SOMMA DELLE
AFFINITA' INDIVIDUALI



AVIDITA'
 10^6

AVIDITA'

DIPENDE DA ENTRAMBI

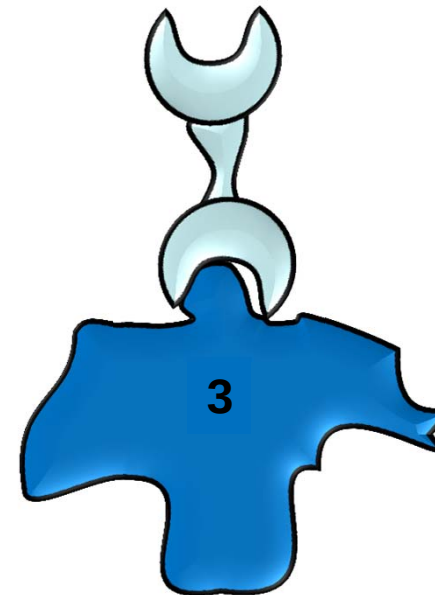
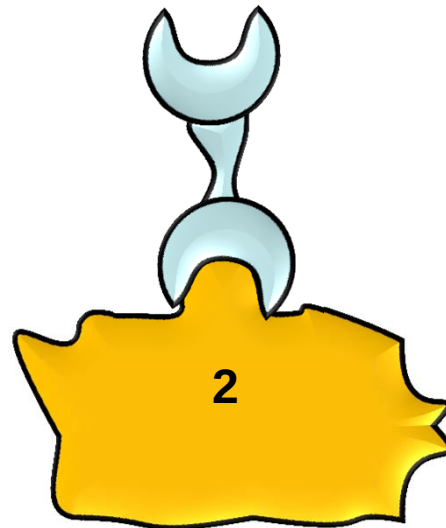


AVIDITA'
 10^{10}

REAZIONE CROCIATA

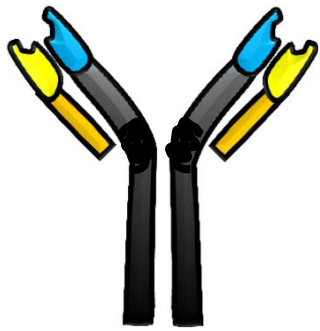
ANTICORPO CONTRO
L'ANTIGENE 1

PUO' REAGIRE ANCHE CON:



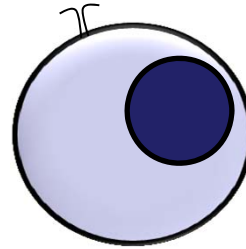
ANTIGENE 2
(EPITOPO IN COMUNE)

ANTIGENE 3
(EPITOPO SIMILE)



IgD, E, G monomeriche

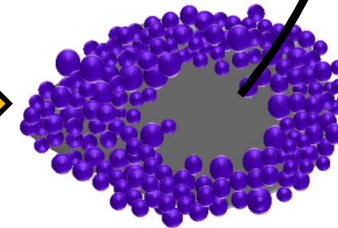
IgD: recettore per Ag
sulle cellule B non
esposte all'antigene



IgE: implicate nei
fenomeni allergici



allergene



Mast-Zellen

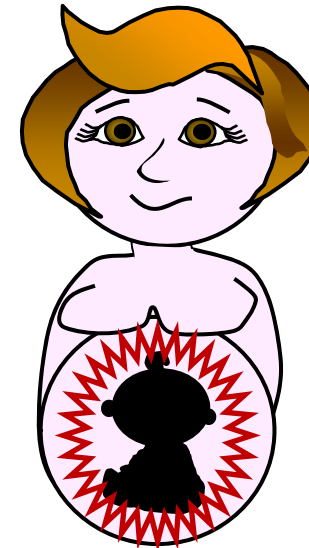
istamina

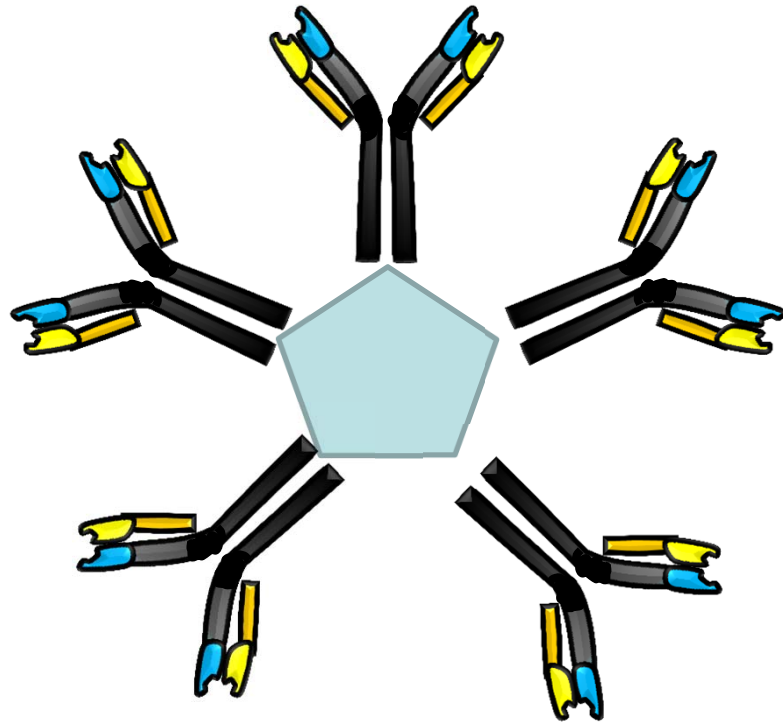


IgG: principali
circolanti, legano C'
Via classica

4 forme (IgG, IgG2, IgG3, IgG4)

Passano il filtro placentare
(immunità passiva al feto)





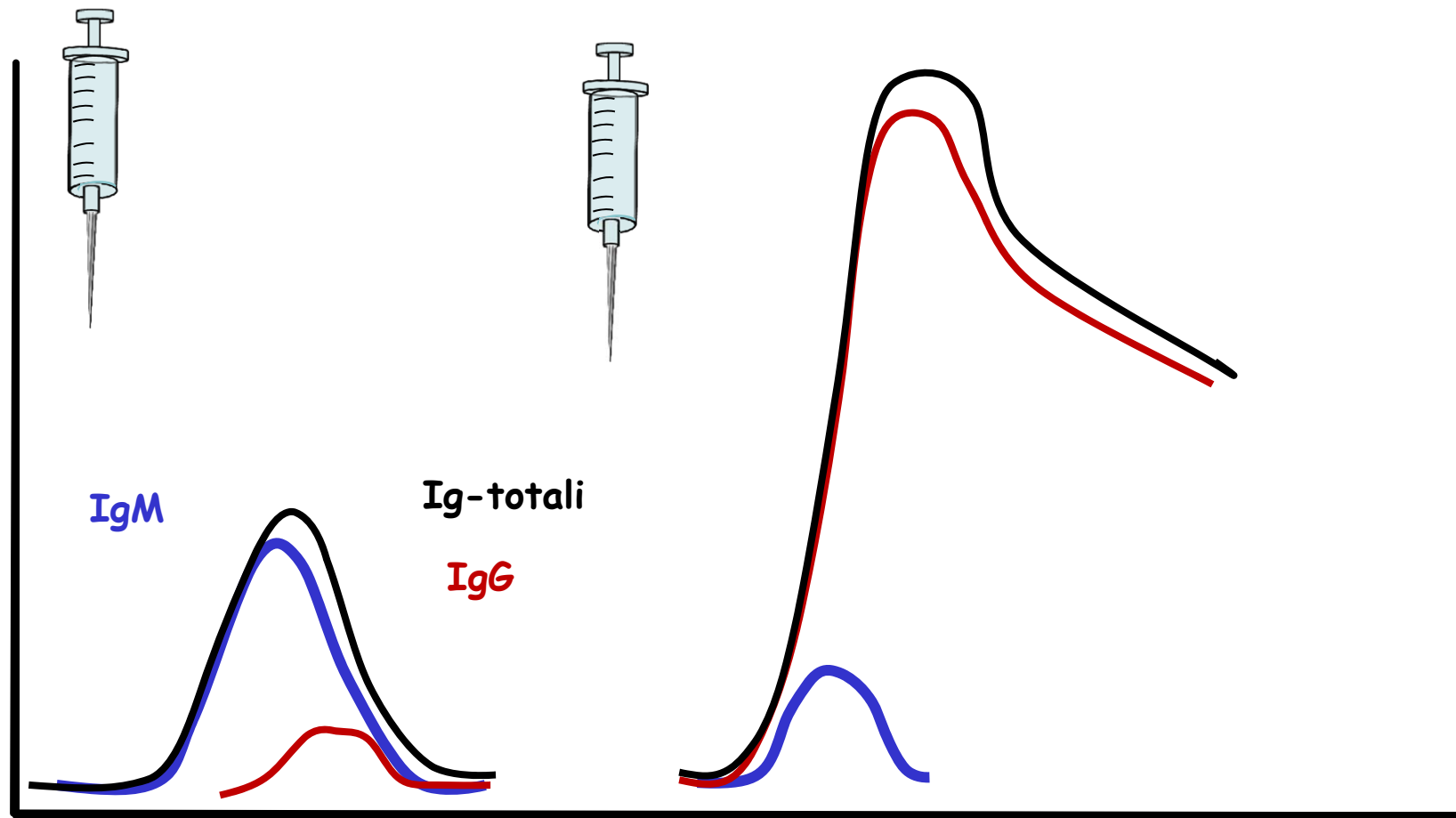
IgM monomeriche
legate alle cellule B

IgM, secrete, pentameriche
legano C' (Via classica)

Prime a comparire, garantiscono la protezione
finchè il livello di IgG non è sufficiente

Risposta primaria

Risposta secondaria

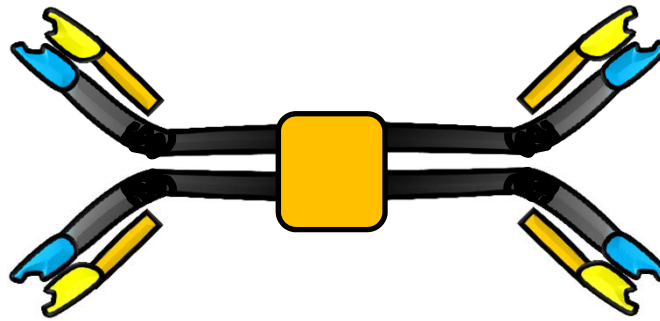


Le percentuali relative di IgM e IgG sono diverse

IgA circolanti
monomeriche

IgA secrete
dimeriche

Interazioni con C' solo
via alternativa



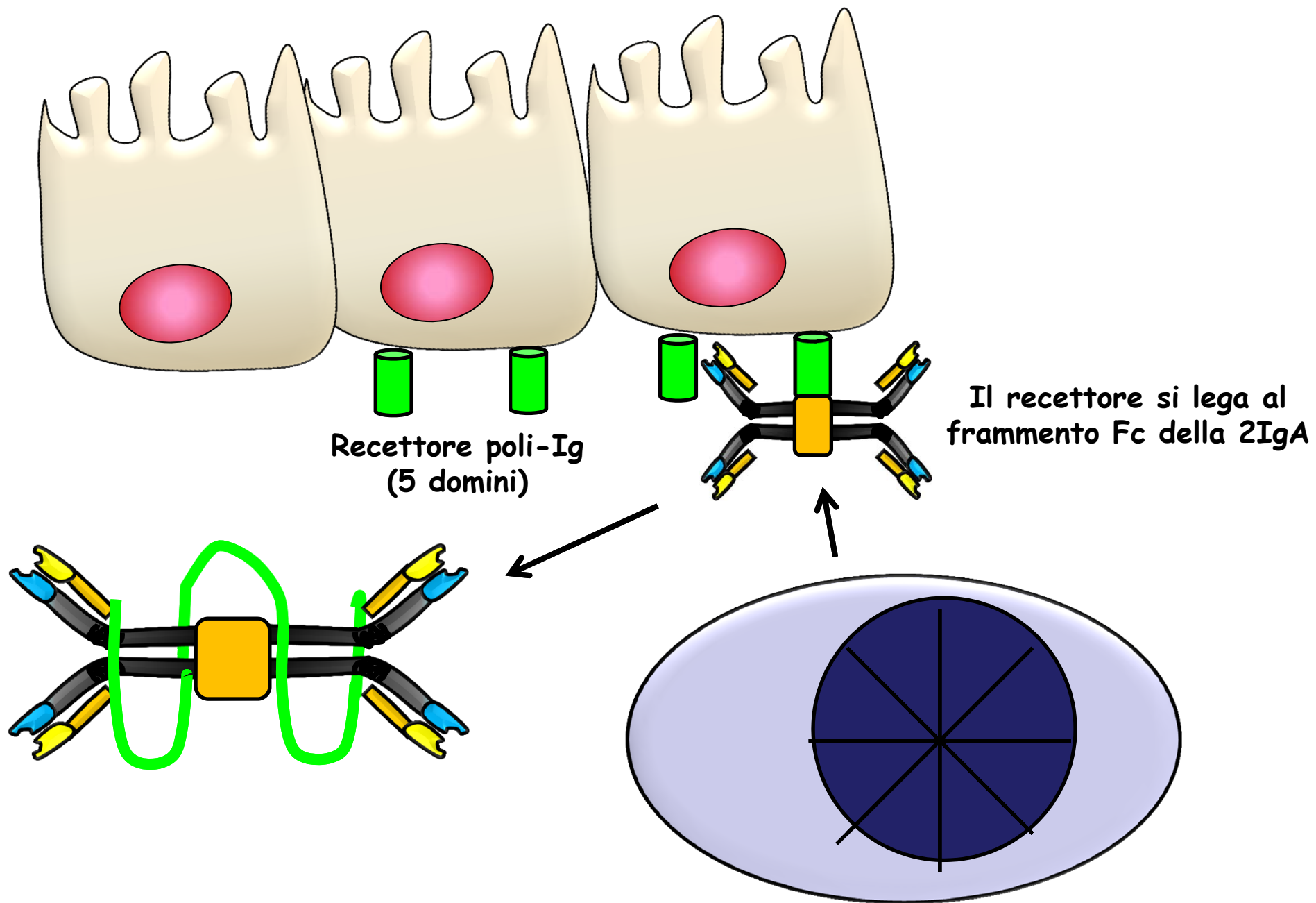
Presenti nelle secrezioni
(latte, lacrime, saliva)

sono prodotte nel tessuto linfoide associato alle mucose
(MALT-*mucosa-associated lymphoid tissue*)
Organizzato in noduli linfatici o cellule isolate

Il MALT Garantisce una risposta completa (umorale + cellulo
mediata) sistemica in base a stimoli locali

contiene diverse cellule della risposta adattativa (linfociti T e B,
cellule APC) e macrofagi.

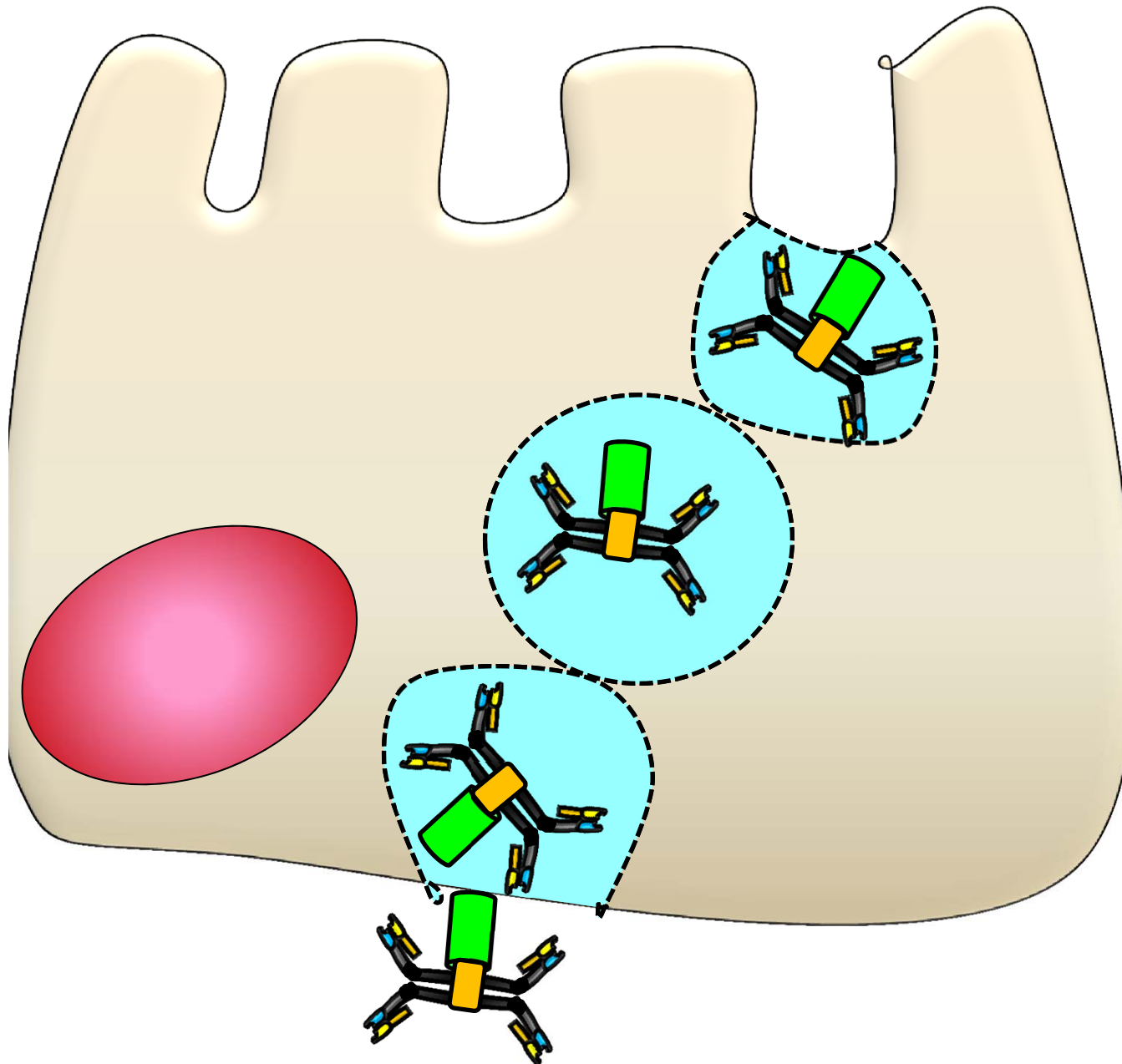
Nell'intestino si trovano le cellule M (placche di Peyer) che
campionano gli antigeni nei cibi e nei microbiomi, per metterli a
contatto con le cellule immunitarie.



Dopo il legame, il
complesso è
internalizzato

e trasferito in un
endosoma fino alla
superficie luminale

La porzione del recettore
con i 5 domini viene
tagliata e rilasciata
insieme alla IgA (Sc-
componente secretoria)



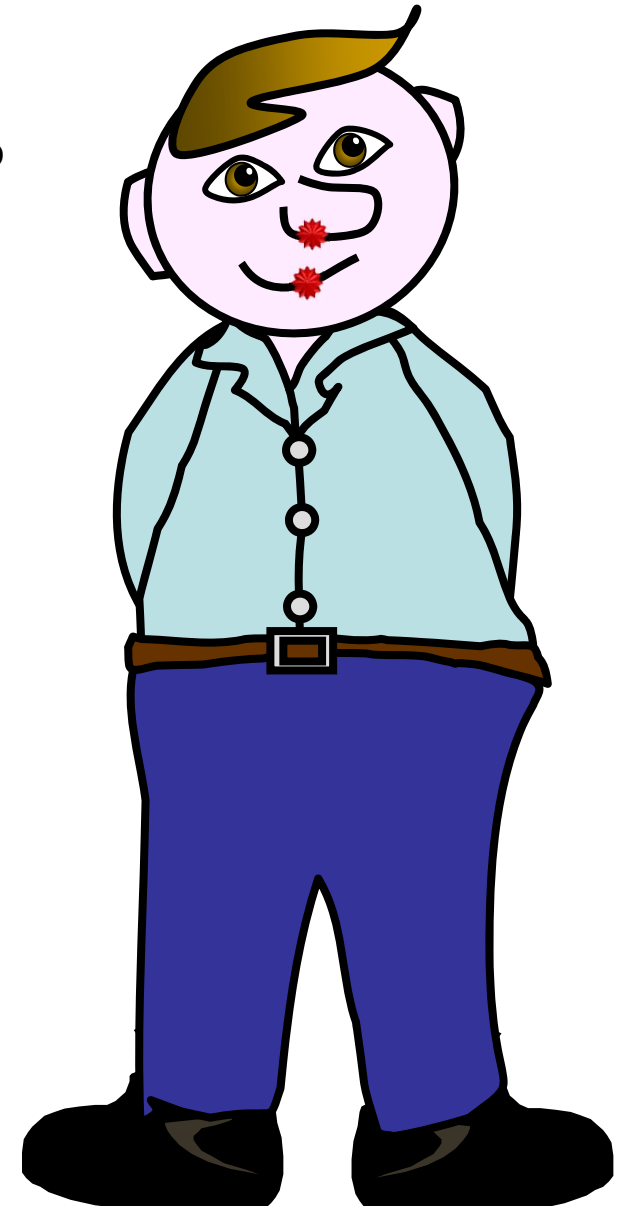
Le IgA si mescolano alle
secrezioni mucose

Barriera difensiva,
essenziale nei tratti
digerente e respiratorio

Principali porte d'ingresso
per i microrganismi

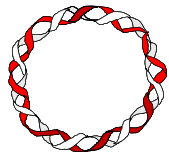
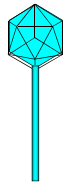
La quantità secreta è > 70%

Costituiscono la "vernice
antisettica"



EVOLVERE UNO STILE DA PATOGENO COMPORTA

Acquisire geni
(isole di patogenicità fagi, plasmidi, ICE.....)

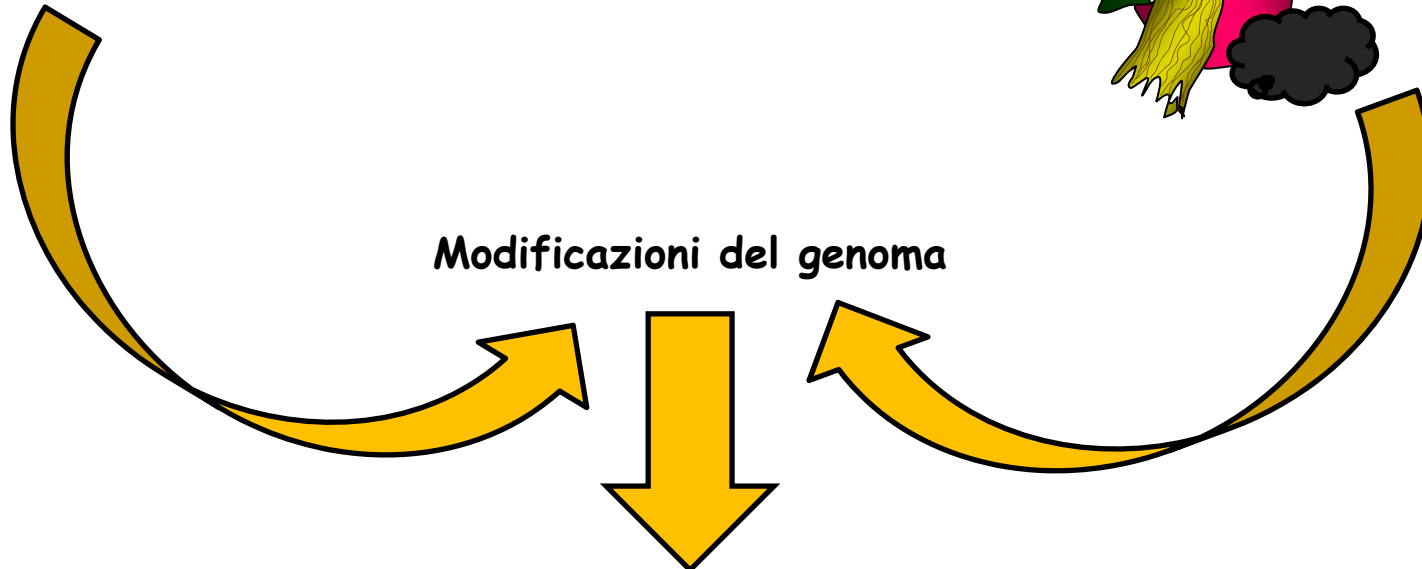


Perdita di geni



Modificazioni del genoma

Strategie di parassitismo



LA STRADA PUO' ESSERE MOLTO LUNGA

Si trova ora in questo stadio:

E. coli

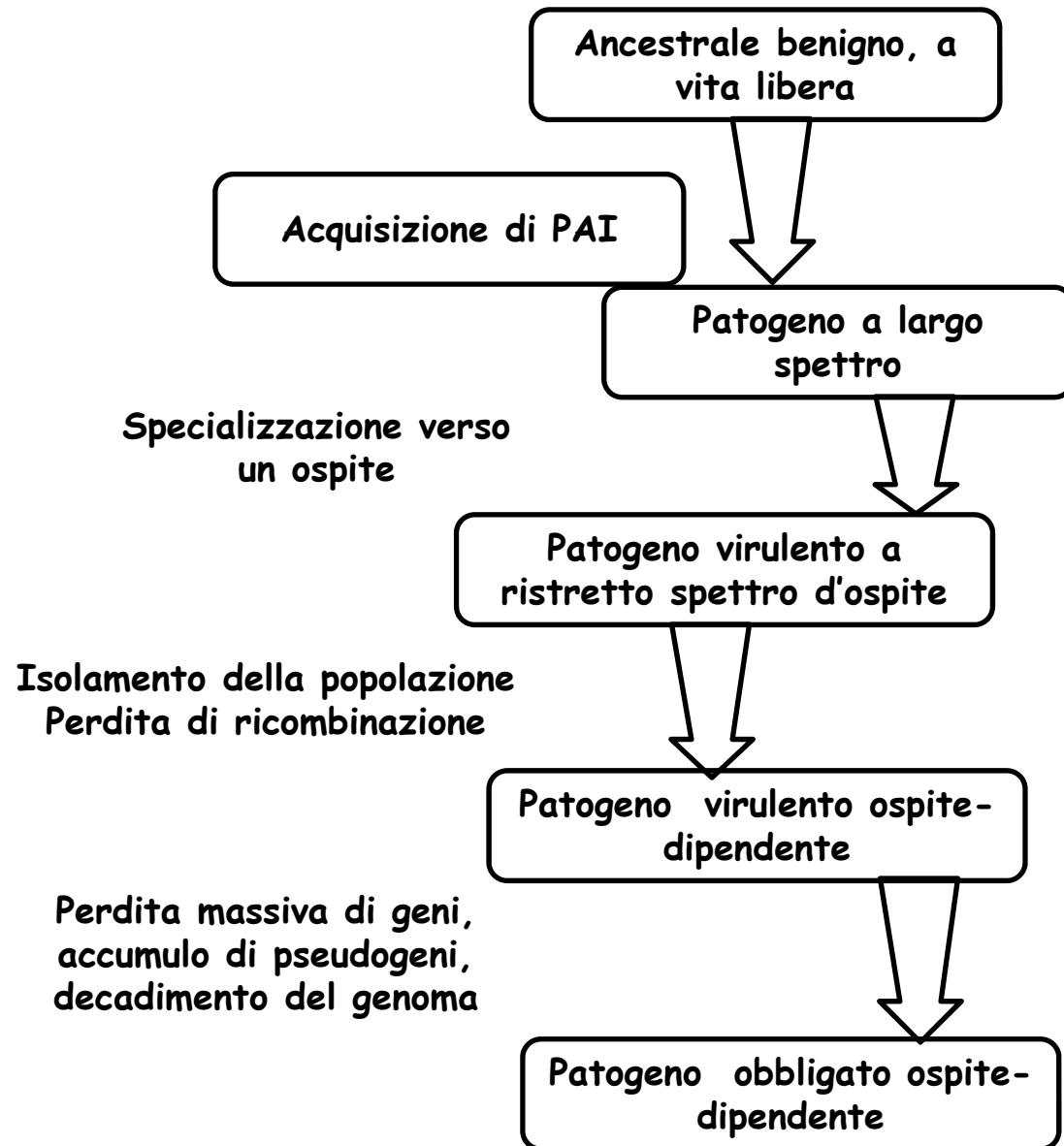
E. coli O157H7
S. Typhimurium
B. bronchiseptica

S. Typhi

M. tuberculosis
B. pertussis

M. leprae

Rickettsia
Mycoplasma



Il processo dell'infezione, in inglese, è stato riassunto così..

Steps in successful infection

Sex comes before disease
acquire virulence genes

Sense environment
and **S**witch virulence genes on
and off

Swim to site of infection

Stick to site of infection

Scavenge nutrients
especially iron

Survive stress

Stealth avoid immune system

Strike-back damage host tissues

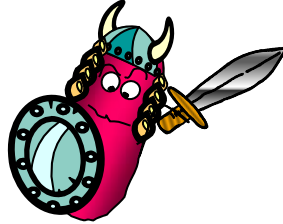
Subvert host cell cytoskeletal
and signalling pathways

Spread through cells and organs

Scatter

In italiano si potrebbe proporre..

A VANTI VERSO L'INFEZIONE



Acquisire

(geni utili per la virulenza)

Abbandonare

(geni che ostacolano la virulenza)

Avvertire

(l'ambiente intorno)

Alternare gli stili di vita

(regolare i geni di virulenza)

Arrivare al luogo dell'infezione

(superare le barriere)

Aderire

(restare in loco e moltiplicarsi)

Approvvigionarsi

(procurarsi i nutrienti necessari)

Affrontare con successo

(lo stress imposto dall'ambiente ospite)

Aggirare

(le difese dell'ospite)

Approfittare

(dei meccanismi dell'ospite)

Aggredire

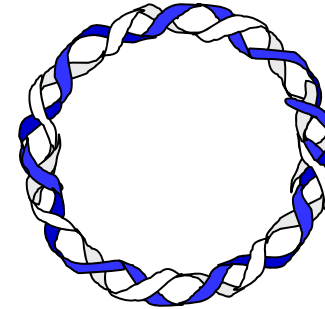
(provocare un danno)

Ampliare la propria sfera d'influenza

(diffondere l'infezione)

L'acquisizione di geni avviene spesso per
Trasferimento Genico Orizzontale

La virulenza di *Shigella* e di *E. coli* EIEC, di
B. anthracis, di *Yersinia*, dipendono da
plasmidi di virulenza



Molte fimbrie, sistemi T3SS, tossine, effettori
sono codificati da plasmidi



Molte tossine sono
di origine fagica,
es:

Colerica
Botulinica
Difterica
Shiga-like..
Eritrogenica..

Su Trasposoni, ICE (integrating-conjugative elements) e integroni si
trovano geni di di virulenza e di antibiotico resistenza

I geni acquisiti possono esser riuniti in PAI:
regioni genomiche assenti dai ceppi avirulenti e caratterizzate da:

(molti) geni di virulenza

Differente contenuto in G+C rispetto al resto del cromosoma

Dimensioni estese (10-100 Kb) (le "isolette" possono essere anche molto piccole..)

Presenza frequente di DRs, tRNAs, Insertion Sequences alle estremità

Presenza di geni di mobilità (nelle PAI stabilizzate possono essere stati persi)

Relativa instabilità

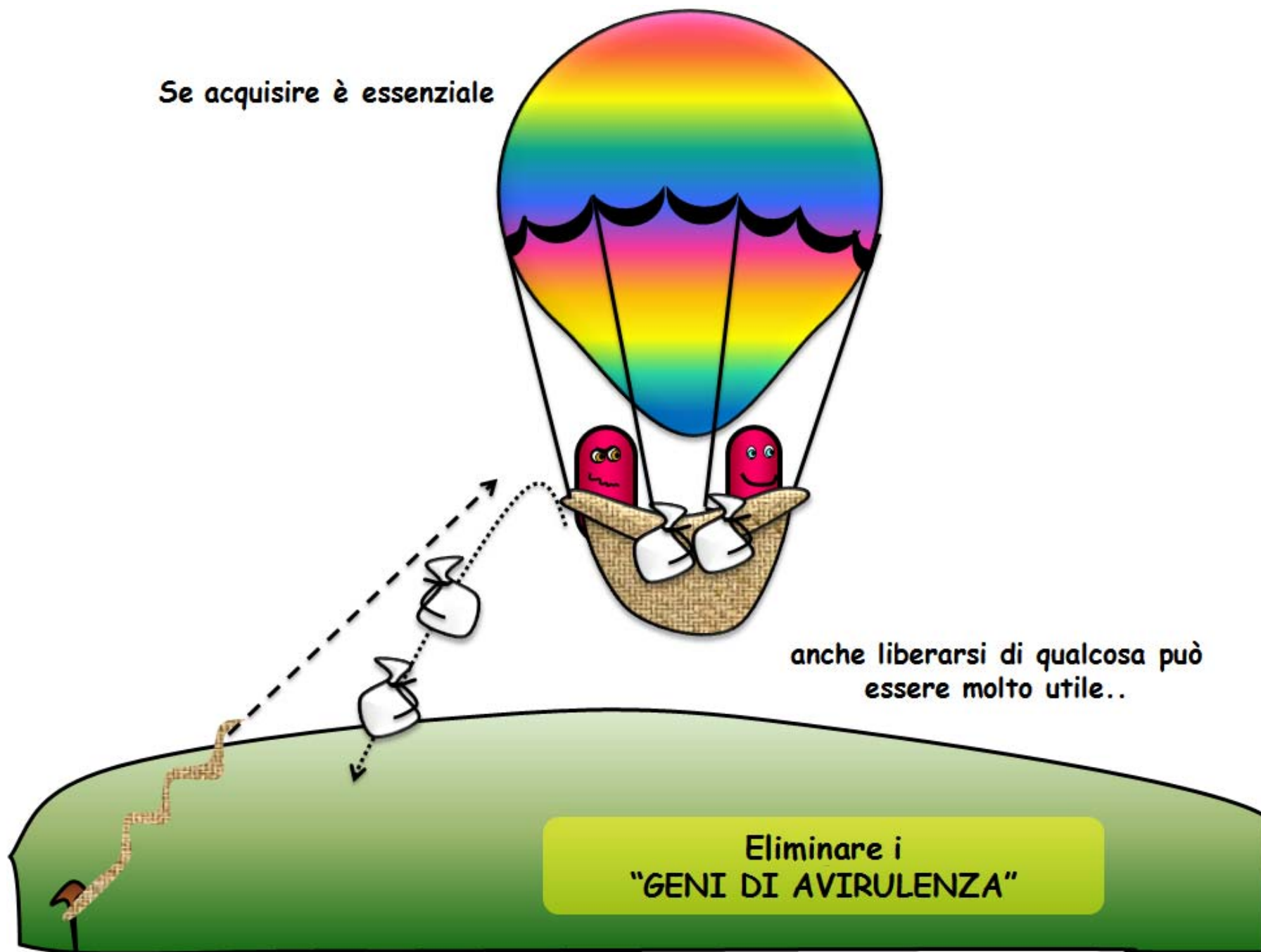
Presenza frequente di geni codificanti sistemi di secrezione

es: regioni LEE/EPEC, Spi1, Spi2/*Salmonella*, Cag/*H. Pylori*

Presenza frequente di geni codificanti adesine, siderofori, tossine

Es: EPEC (Pai I, II, IV, V), *Yersinia* spp. (HPI), *V. cholerae* (VPI o TCP-ACF element)

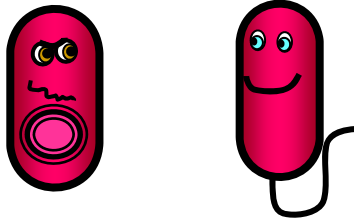
Se acquisire è essenziale



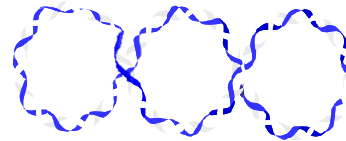
anche liberarsi di qualcosa può
essere molto utile..

Eliminare i
"GENI DI AVIRULENZA"

Acquisire è essenziale ma anche saper
perdere ha la sua importanza

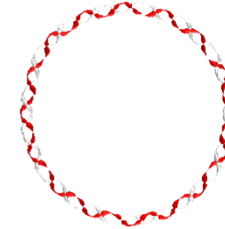


studi sui virotipi di *Escherichia coli*, e i
dati molecolari accumulati su



cromosoma

Plasmide di
virulenza
(shigella)



Hanno dimostrato che le "specie" di *Shigella* si sono
evolute all'interno della specie *E. coli*, attraverso

Acquisizione/perdita
del plasmide pINV

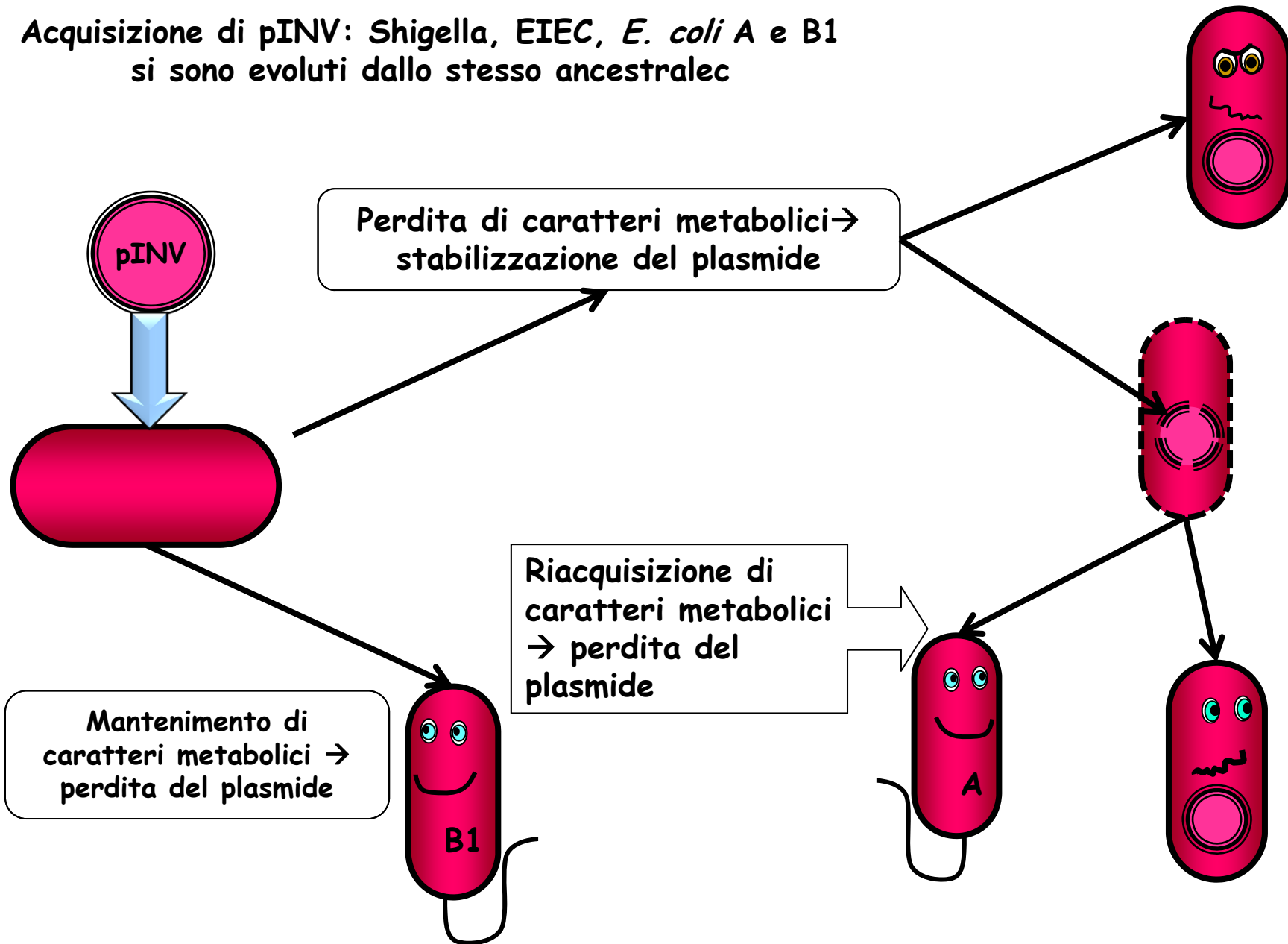
Acquisizione/perdita di
caratteri metabolici

Infezioni da
batteriofagi

Riarrangiamenti
del genoma

**GLI STESSI MECCANISMI HANNO
PORTATO AI VIROTIPI DI *E. COLI***

Acquisizione di pINV: *Shigella*, EIEC, *E. coli* A e B1
si sono evoluti dallo stesso ancestrale



GENI DI ANTIVIRULENZA

I cambiamenti ambientali che accompagnano l'adozione di uno stile di vita da patogeno, rivelano geni di antivirulenza nei patogeni emergenti

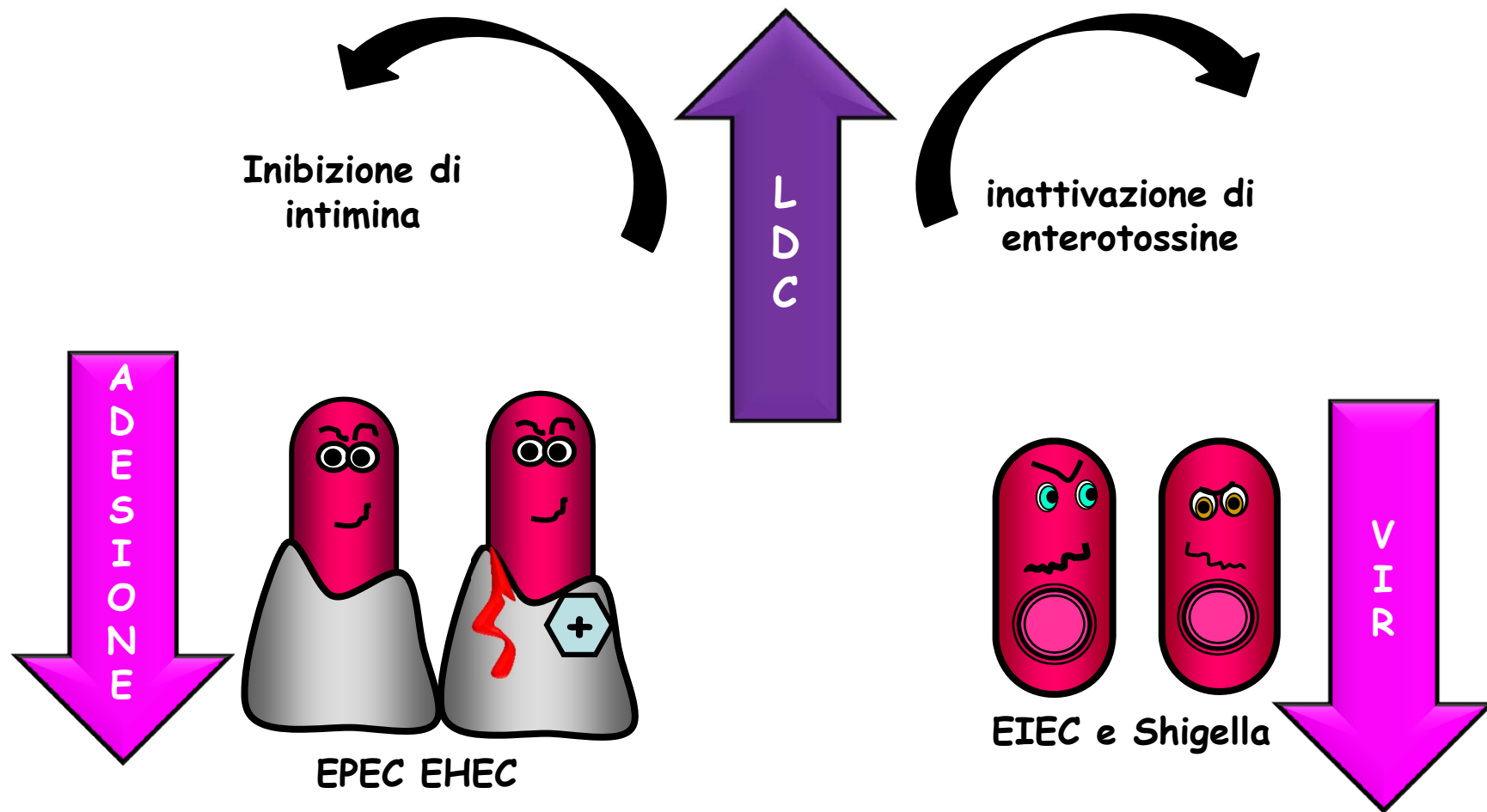
L'eliminazione patoadattativa di questi loci può migliorare la fitness nel nuovo stile di vita ma può, contemporaneamente, ridurre quella nel vecchio stile di vita

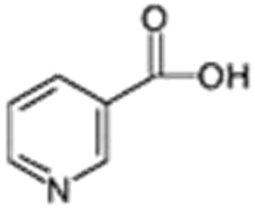
Es. UPEC espressione adesine fimbriali → ridotta fitness nella situazione non patologica

Come conseguenza, l'evoluzione verso la patogenesi risulta via via più conveniente

EVOLUZIONI PATOADATTATIVE: INATTIVAZIONE DEI LOCI DI ANTIVIRULENZA

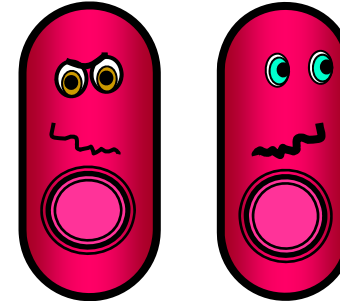
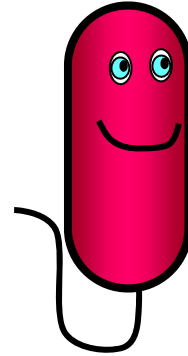
EIEC e Shigella sono Lisina Decarbossilasi-negativi





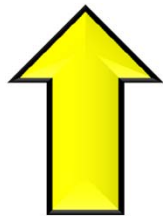
L'acido nicotinico (niacina, vit.B3) è essenziale per la sintesi dei coenzimi NAD e NADP indispensabili per tutti gli esseri viventi

La maggior parte dei batteri lo sintetizza

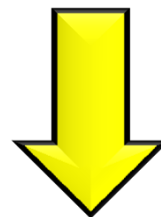


EIEC e Shigella, invece, sono auxotrofi per l'acido nicotinico

Hanno perso i geni biosintetici per l'acido chinolinico, un intermedio della via biosintetica,, che inibisce diverse funzioni correlate alla virulenza



Ac. chinolinico

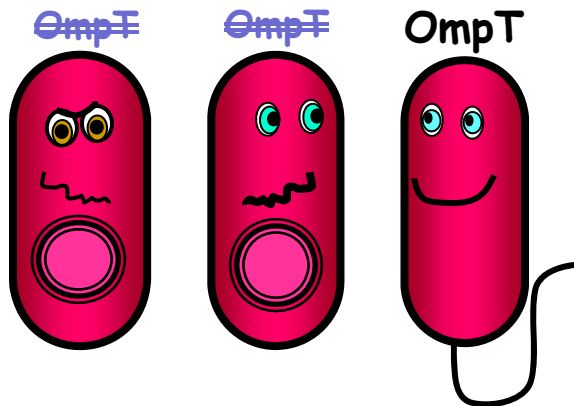
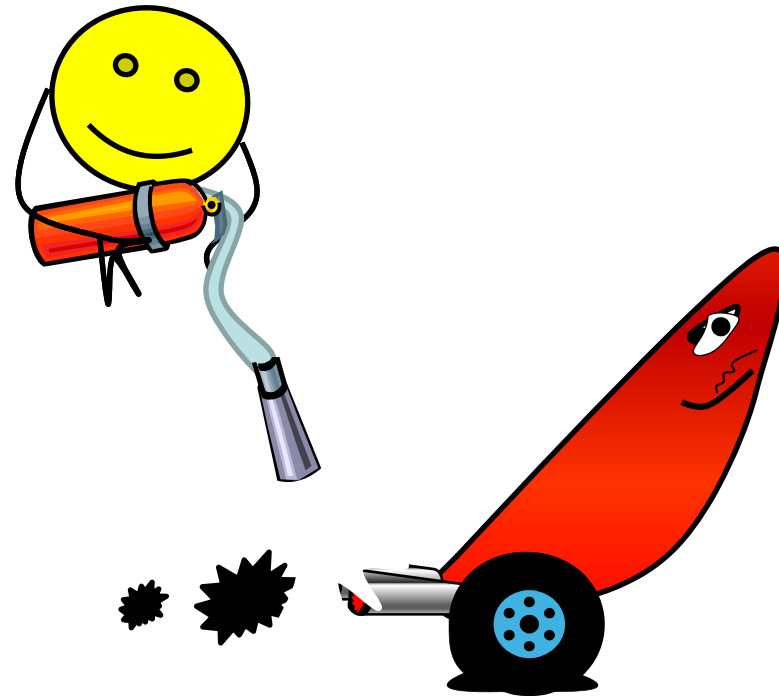


passaggio da cellula a cellula
Invasione di cellule HeLa
migrazione transepiteliale dei PMN
indotta dal patogeno

OmpT è una proteasi di membrana di origine fagica

Degrada IcsA, la proteina che polimerizza l'actina dell'ospite in *Shigella* e in EIEC

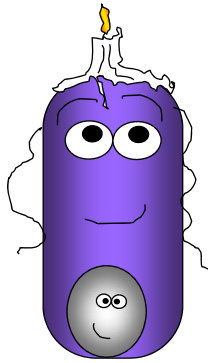
La sua espressione ostacolerebbe la mobilità intracellulare di questi patogeni



Va considerato quindi un gene di antivirulenza

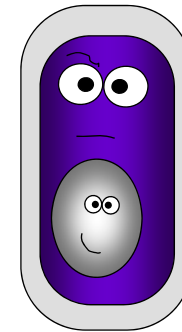
Il gene che la codifica, infatti, è assente dal cromosoma di *Shigella* e dei ceppi EIEC

I geni che codificano l'arginina deaminasi (diidrolasi),
presenti in *Bacillus cereus*



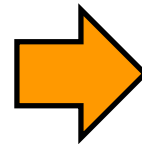
presenti in
Bacillus cereus

L-arginina + H₂O → L-citrullina + NH₃



sono deleti in
Bacillus anthracis:

pressione selettiva: produzione di ammoniaca
(risultato dell'attività enzimatica)



inibizione del legame tra tossina
carbonchiosa e recettori