

# IL SISTEMA IMMUNITARIO: l'amico invisibile

## prima parte



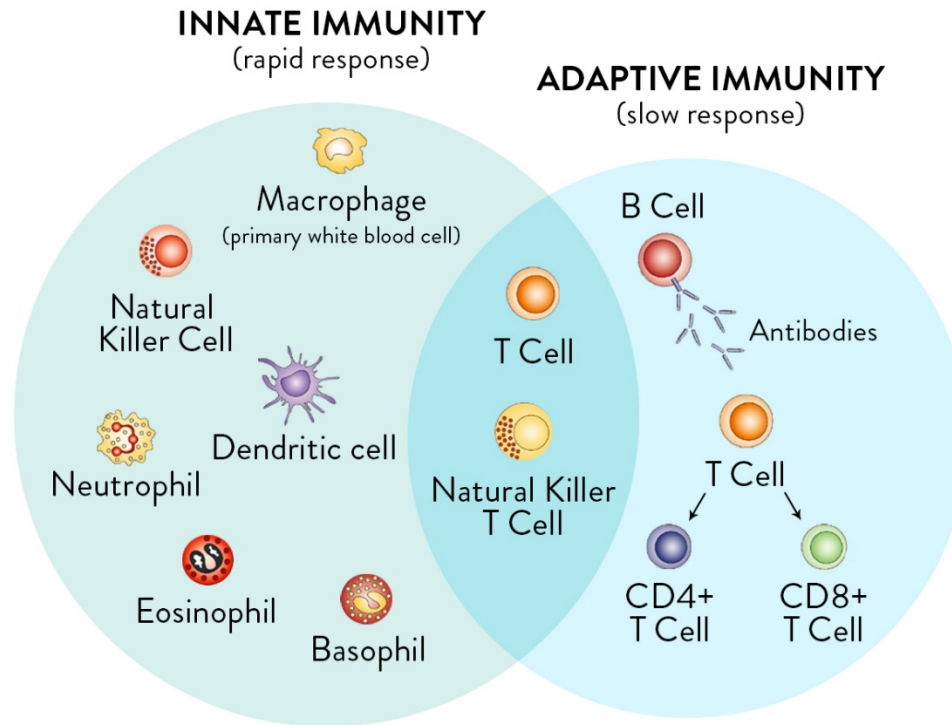
**PARTE I: 18 marzo 2021**

**Dott.ssa Valentina Salvi**

**PARTE II: 25 marzo 2021**

**Dott.ssa Laura Tiberio**

**Sezione di Oncologia e Immunologia**  
**Dipartimento di Medicina Molecolare e Traslazionale**





<https://youtu.be/HkkHfP5zfmw>



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI BRESCIA

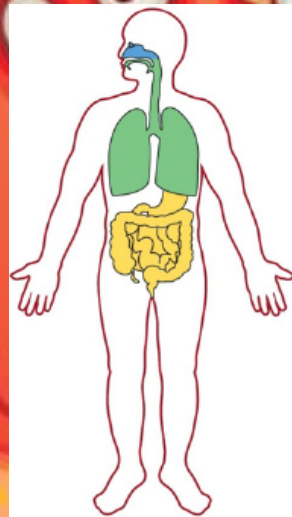
# IL SISTEMA IMMUNITARIO: il guardiano della nostra salute

---



David Vetter, born 1971  
in Texas, died at 12.  
Bubble Boy....

# IL SISTEMA IMMUNITARIO: Le difese dell'organismo contro i patogeni





**RISPOSTA IMMUNITARIA:**  
risposta dell'organismo agli agenti  
patogeni

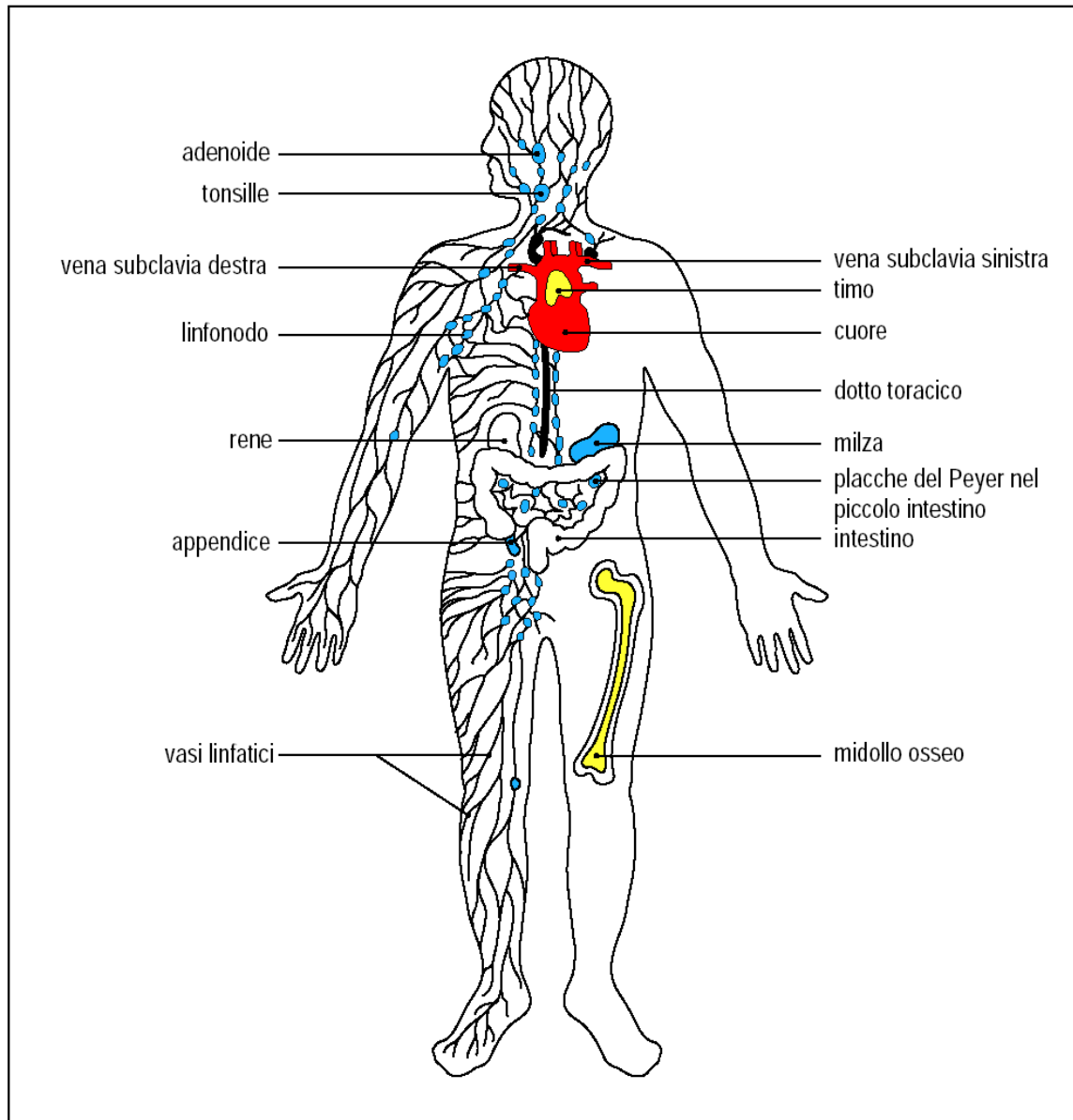
**SISTEMA IMMUNITARIO:**  
insieme delle molecole e delle cellule  
che determinano la risposta immune

**IMMUNOLOGIA:**  
studio del sistema immunitario

# A cosa serve il sistema immunitario:

- 1. Difesa contro infezioni  
(virus, batteri, parassiti)**
- 2. Riconoscimento di cellule estranee o alterate  
(cellule tumorali, trapianti d'organo)**
- 3. Possibilità di errori: risposta ai danni all'ospite  
(es.: risposta autoimmune, allergie)**

# IL SISTEMA IMMUNITARIO

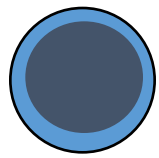


## ORGANI LINFOLDI

**PRIMARI:** timo e  
midollo osseo  
(formazione e  
maturazione dei  
linfociti)

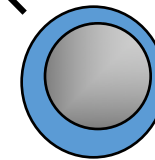
**ORGANI  
LINFOLDI  
SECONDARI:**  
linfonodi, milza,  
adenoidi, tonsille  
MALT



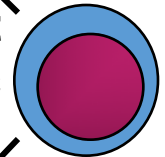


Lymphocyte

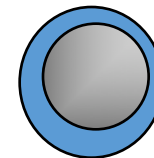
# Cells Of The Immune System



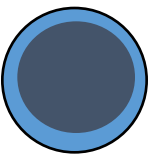
Common lymphoid progenitor



Pluripotent haemopoietic stem cell



Myeloid progenitor



Lymphocyte



Macrophage  
Monocyte



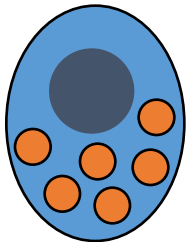
Neutrophil  
PMN



Eosinophil



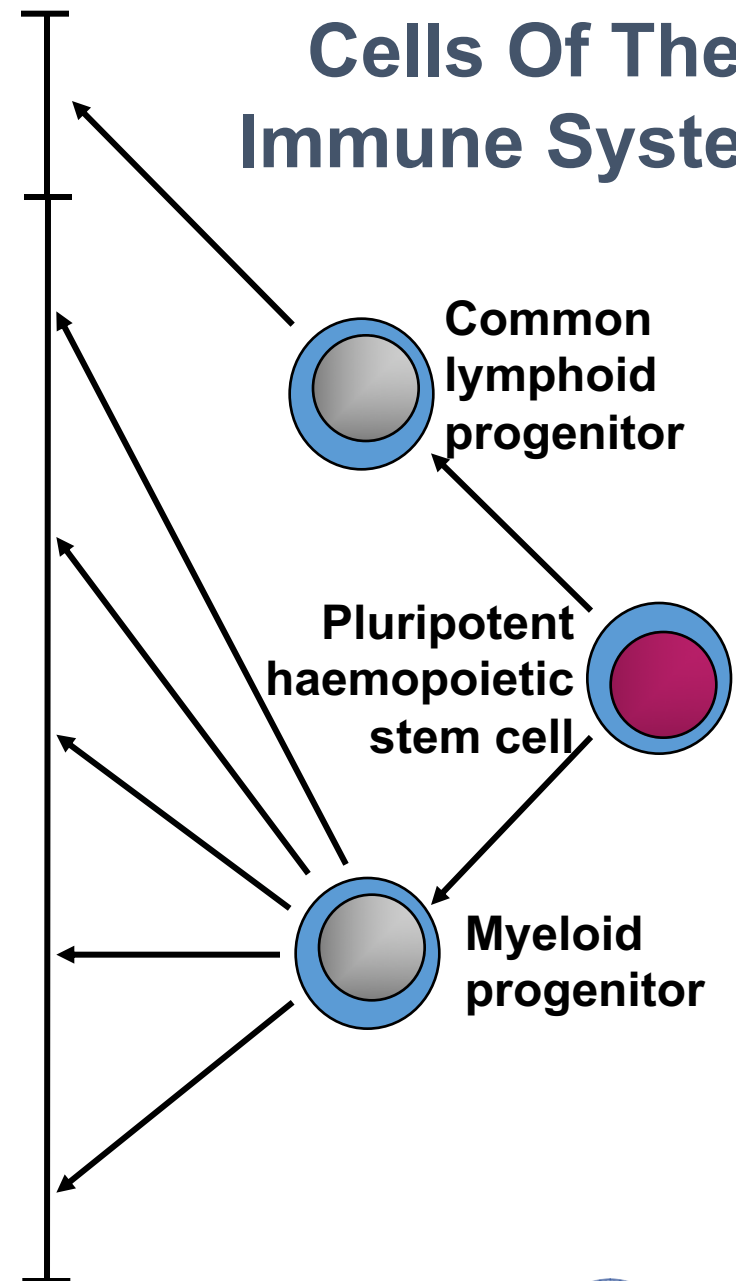
Basophil



Mast cell  
(Mastociti)

granulociti

# Cells Of The Immune System

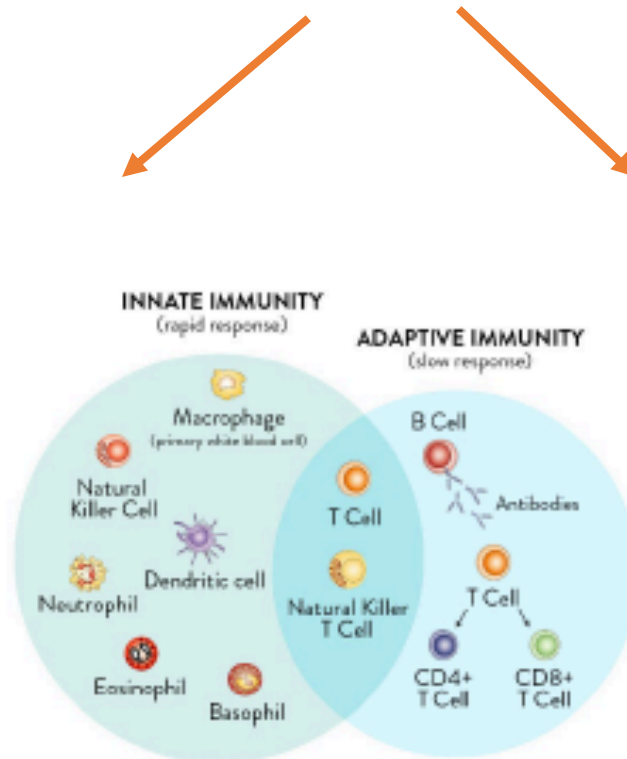


# RISPOSTA IMMUNITARIA:

risposta dell'organismo agli agenti patogeni

**Immunità  
Innata  
o naturale**

**Immunità  
Adattativa o  
specifica**



# IMMUNITÀ INNATA

**CONGENITA** presente alla nascita

**NATURALE** indipendente da precedente contatto, non si rafforza con ulteriori contatti

**ASPECIFICA** riconosce molecole comuni a gruppi di microrganismi

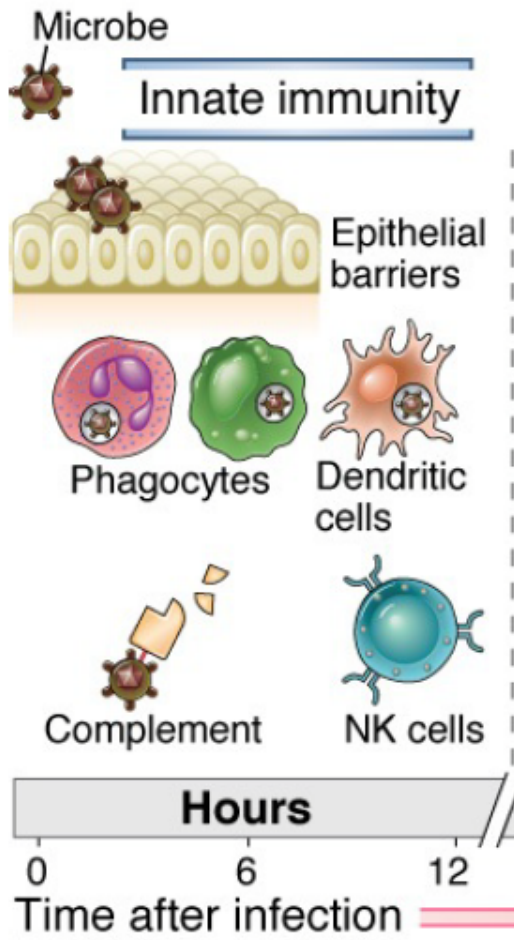
# IMMUNITÀ SPECIFICA

**ACQUISITA** NON presente alla nascita

**SPECIFICA** innescata dal riconoscimento di strutture specifiche di quel determinato patogeno

**ADATTATIVA** si acquisisce come adattamento a determinati stimoli, si rafforza

**MEMORIA!**



Abbas, Lichtman and Pillai. *Cellular and Molecular Immunology*, 7<sup>th</sup> edition, 2011 © Elsevier



# IMMUNITÀ INNATA

✓ Fattori CELLULARI

✓ Fattori UMORALI

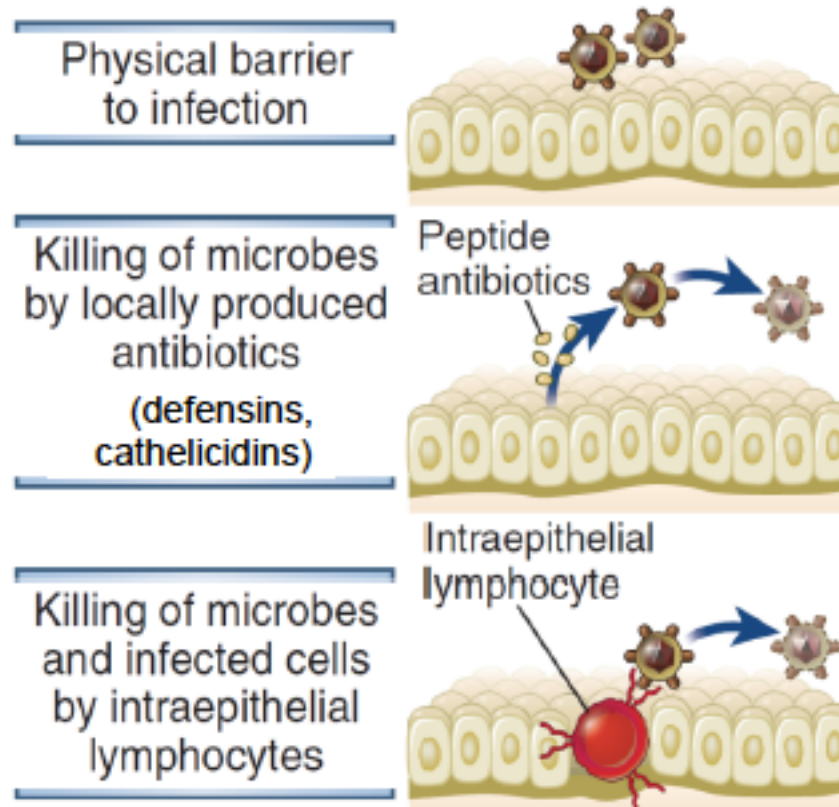


```
graph LR; A[Fattori UMORALI] --> B[citochine]; A --> C[complemento]
```

citochine  
complemento

# BARRIERE MECCANICO-CHIMICHE

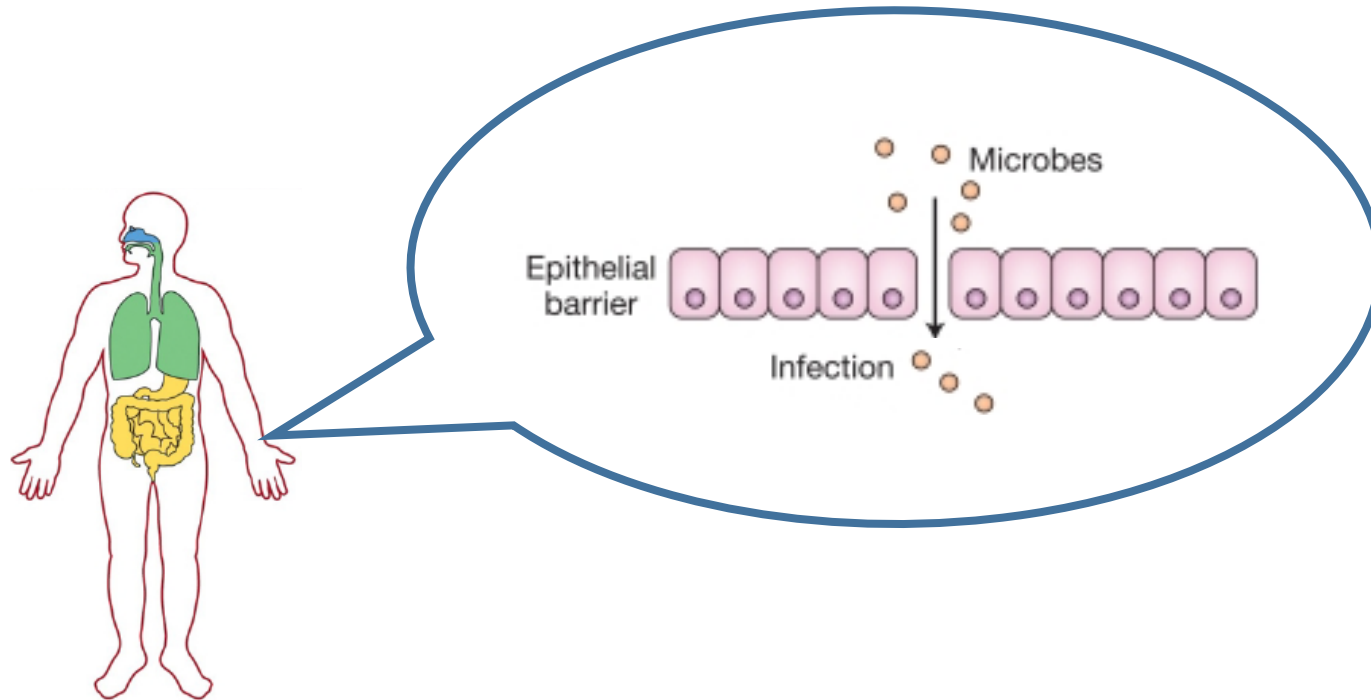
contagio  infezione



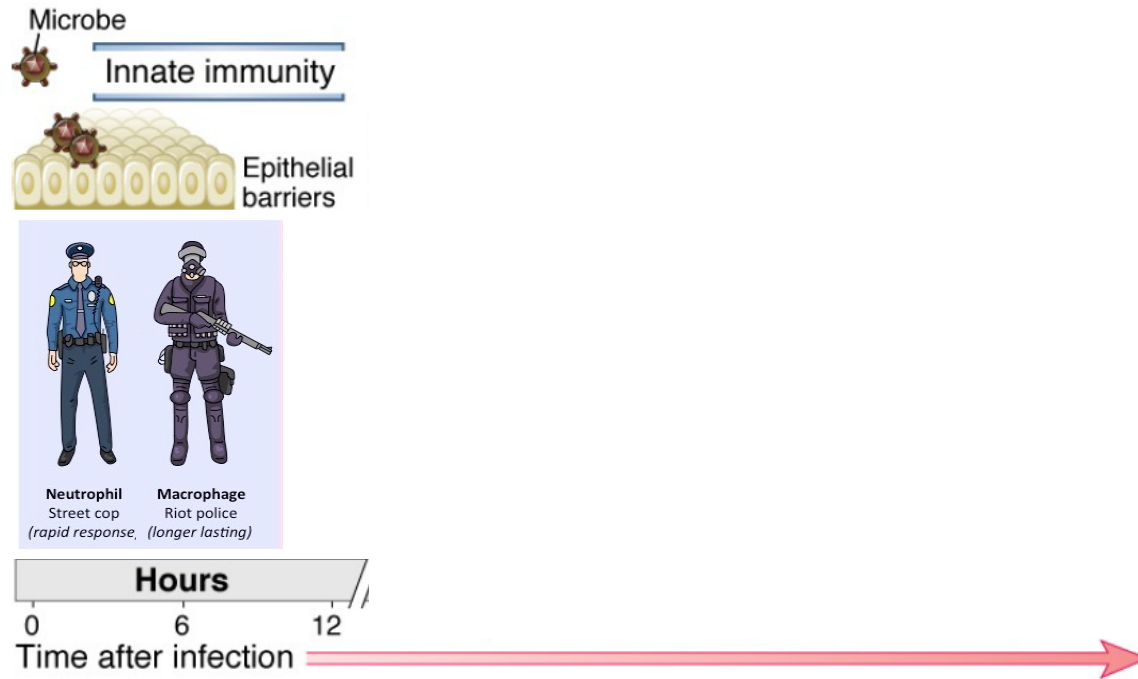
Cellular and Molecular Immunology-Abul K. Abbas 9th Ed. 2018

# «Cedimento» delle barriere = INFEZIONE

---

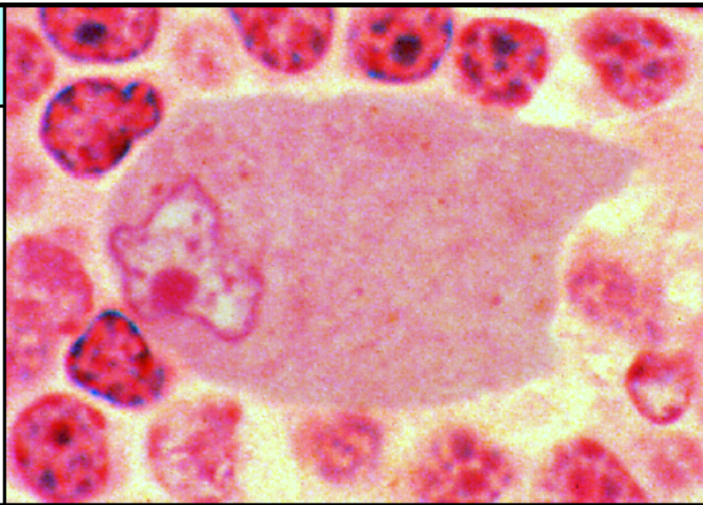
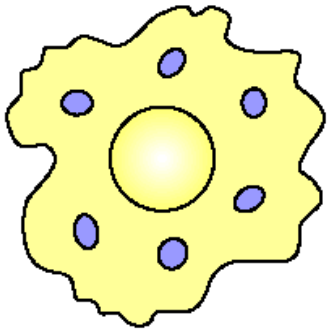
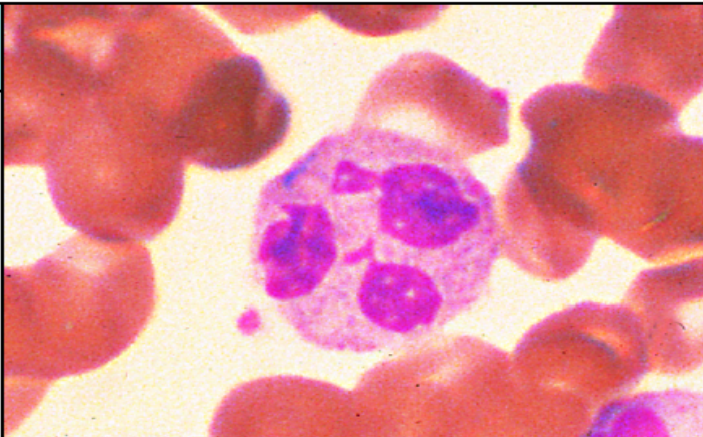
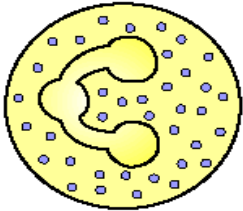


# Il sistema immunitario entra in funzione!

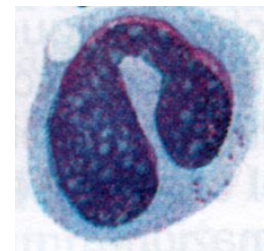


Cellular and Molecular Immunology-Abul K. Abbas 9th Ed. 2018

# CELLULE DELL'IMMUNITA' INNATA 1

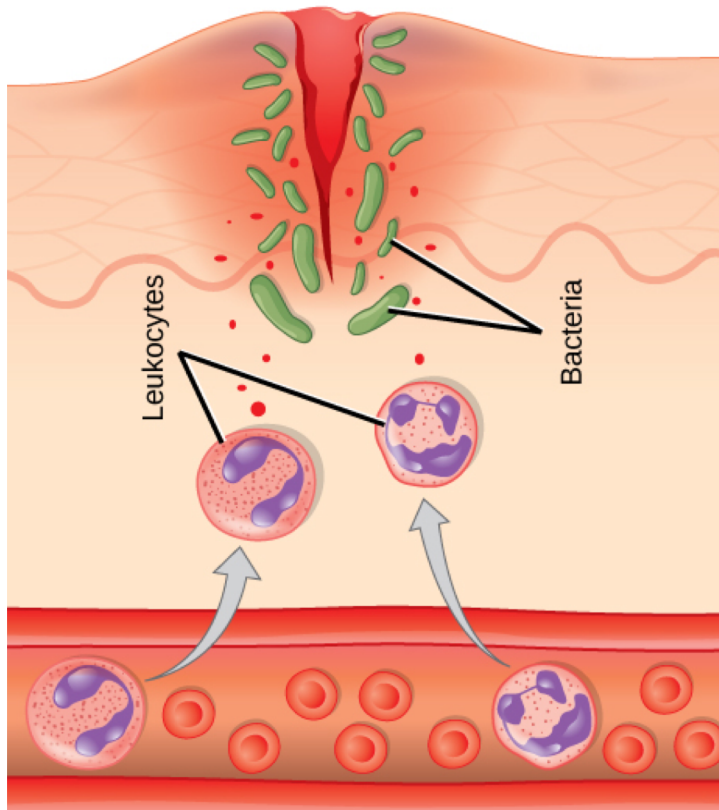
Cellula	
Macrofago (nei tessuti)	
	
Neutrofili	
	

Monocita  
(2-8% dei GB  
nel sangue)



40-60% dei GB  
nel sangue

# Controllo dell'infezione: la FAGOCITOSI



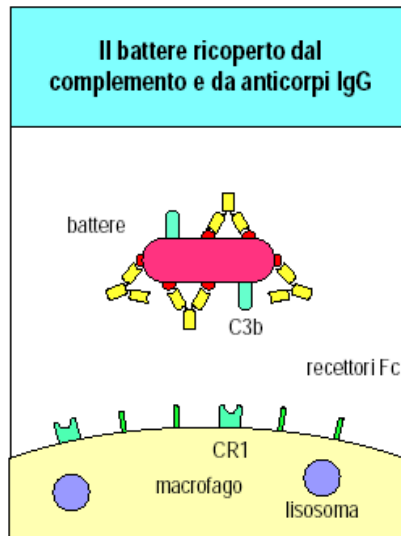
**Phagocytosis**  
Human macrophage ingesting  
the yeast, *Candida albicans*



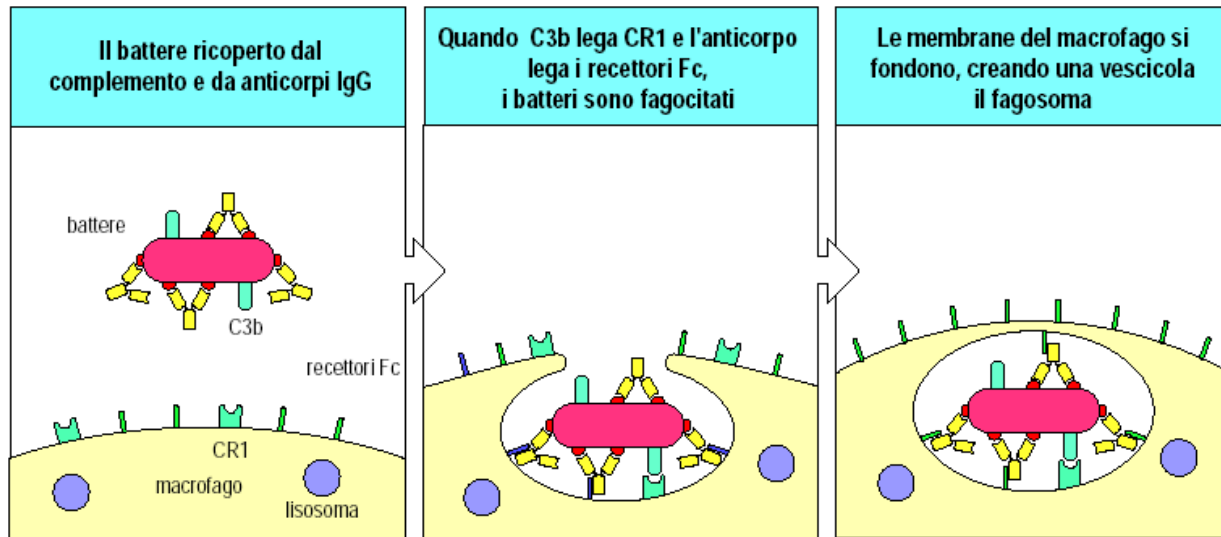
# FAGOCITOSI

- 1) Riconoscimento e adesione
- 2) Ingestione
- 3) Uccisione e degradazione

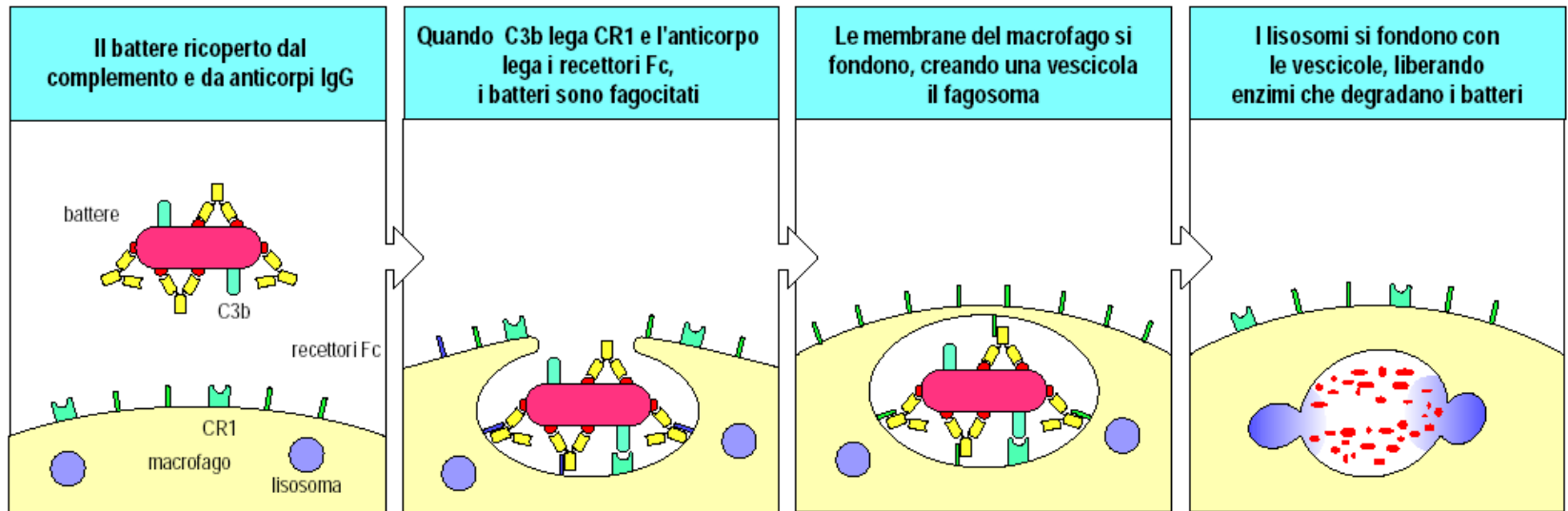
# 1) Riconoscimento e adesione



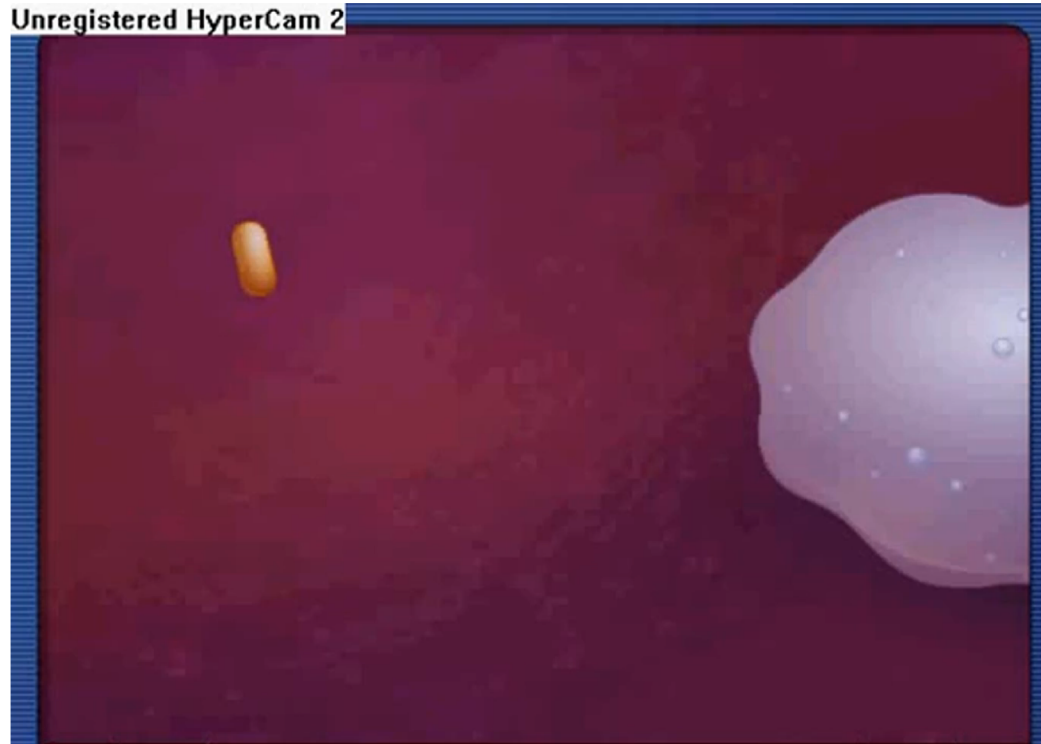
## 2) Ingestione



### 3) Uccisione e degradazione

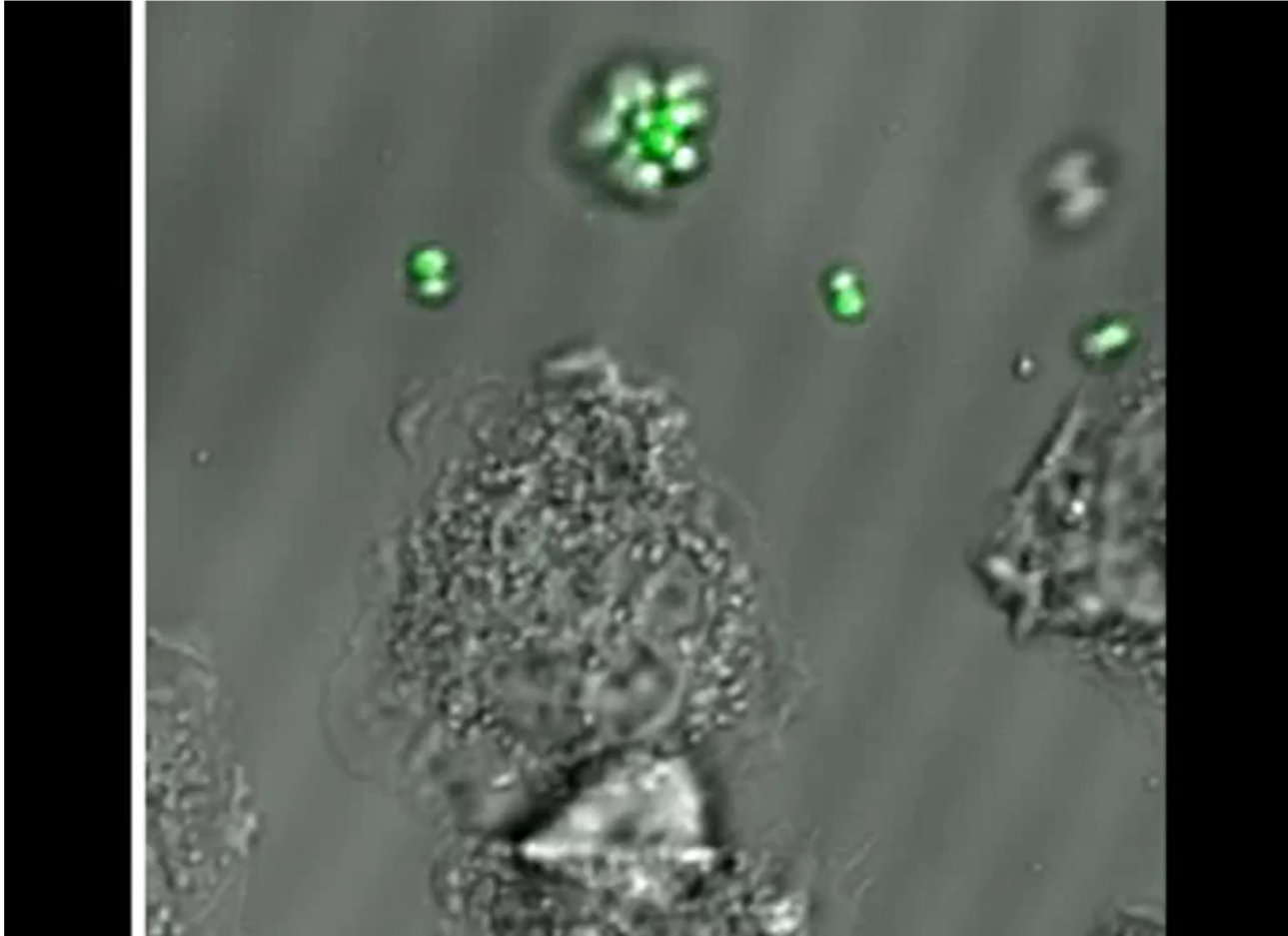


# The Process of Phagocytosis



<https://www.youtube.com/watch?v=7VQU28itVVw>

# Phagocytosis of MRSA by a human neutrophil



<https://www.youtube.com/watch?v=438EovW4tzs>



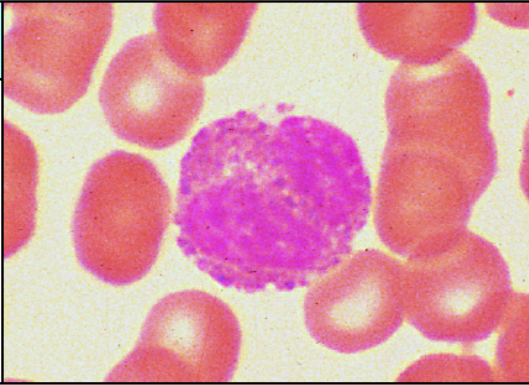
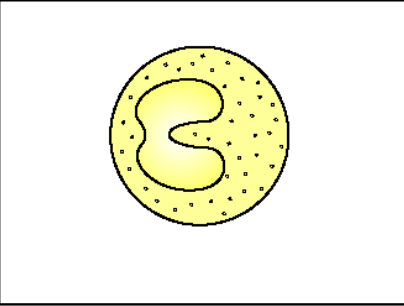
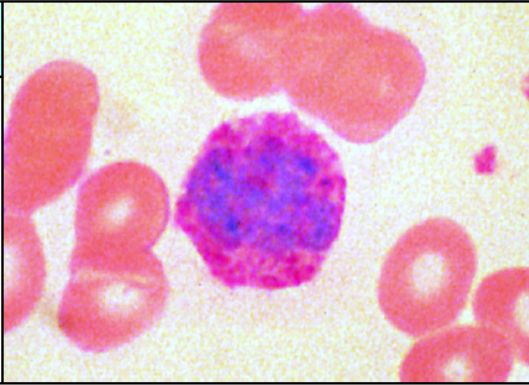
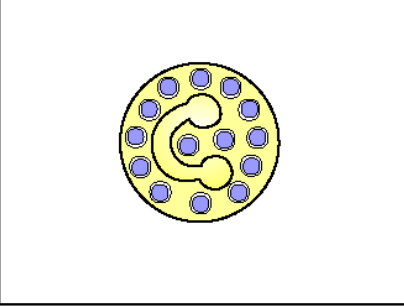
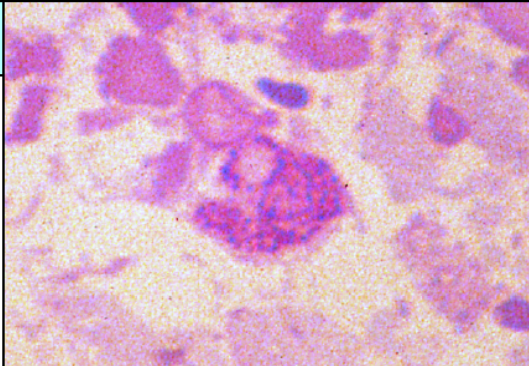
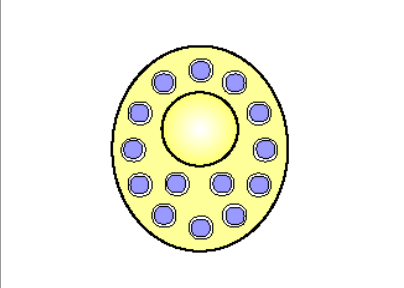
# FUNZIONI dei FAGOCITI

1) Fagocitosi

2) Produzione citochine

3) Innesco immunita' acquisita

# CELLULE DELL'IMMUNITA' INNATA 2

<b>Eosinofili</b>	
	
<b>Basofili</b>	
	
<b>Mastociti</b>	
	

1-4% dei GB  
nel sangue

<1% dei GB  
nel sangue

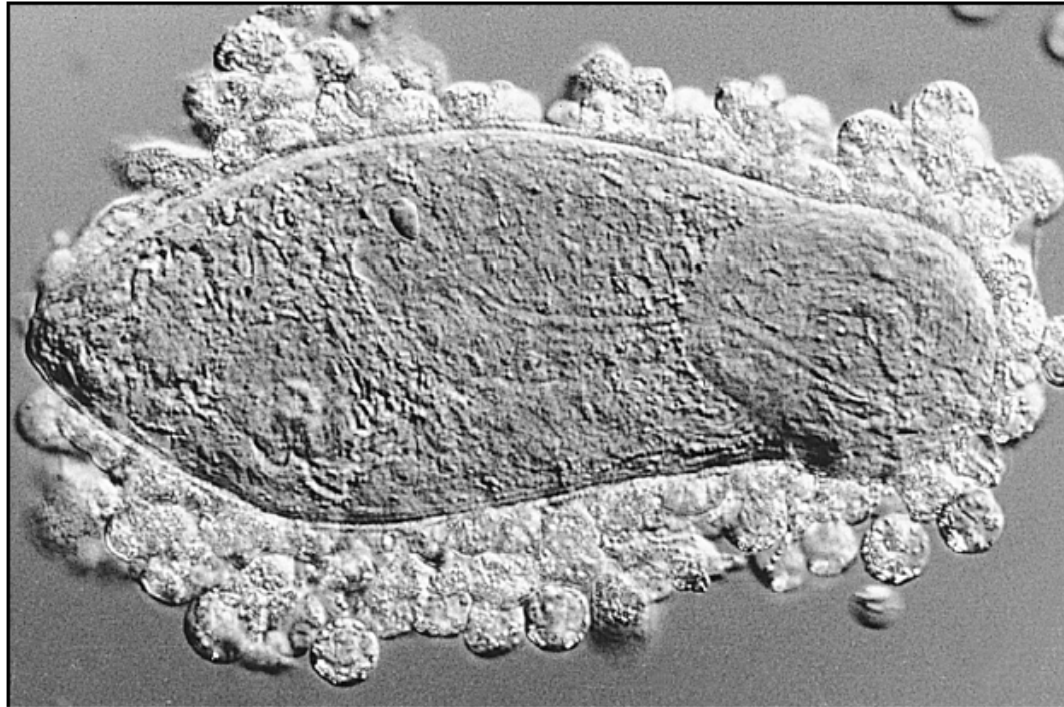
nei tessuti

# FUNZIONE: SECREZIONE

DIFESA CELLULARE CONTRO I PARASSITI  
(ELMINTI E PROTOZOI)

Rilascio del contenuto dei granuli in seguito ad attivazione anticorpale (+++IgE) durante la risposta immunitaria acquisita

# EOSINOFILI

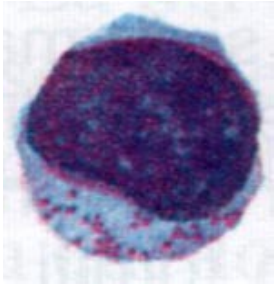


= distruzione diretta del parassita





# CELLULE DELL'IMMUNITA' INNATA 3

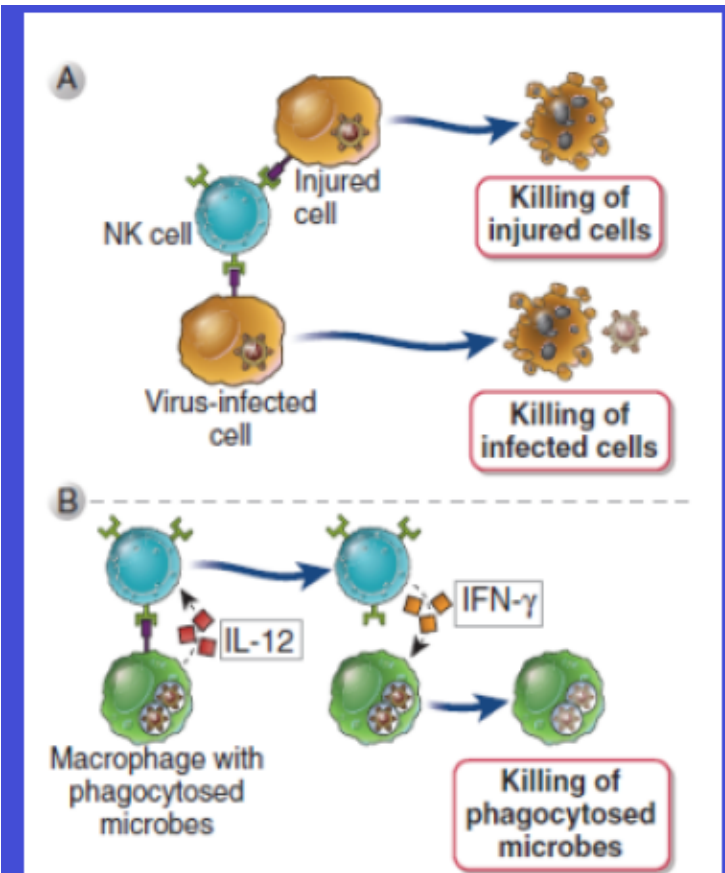


## NATURAL KILLER (NK)

linfociti con granuli azzurrofili

### FUNZIONE:

- uccidono cellule infettate da virus e cellule neoplastiche
- Secernono IFN- $\gamma$  che attiva le funzioni microbicide dei macrofagi



# IMMUNITÀ INNATA

✓ Fattori CELLULARI

✓ Fattori UMORALI



```
graph LR; A[Fattori UMORALI] --> B[citochine]; A --> C[complemento]
```

# Fattori umorali 1: CITOCHINE

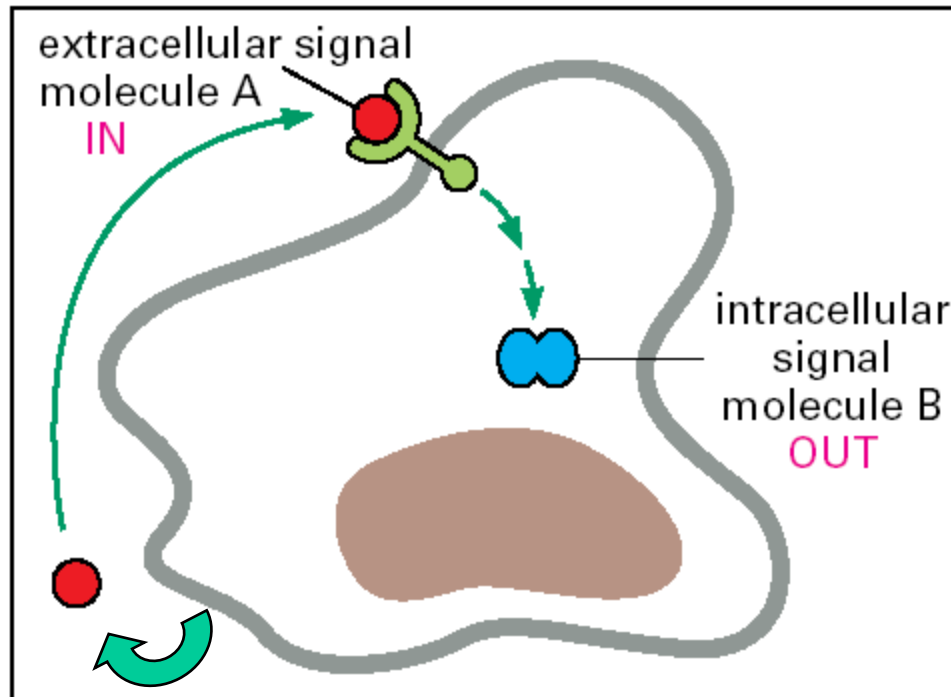
mediatori polipeptidici che fungono da  
segnali di comunicazione  
fra cellule immunitarie  
e fra queste e i tessuti



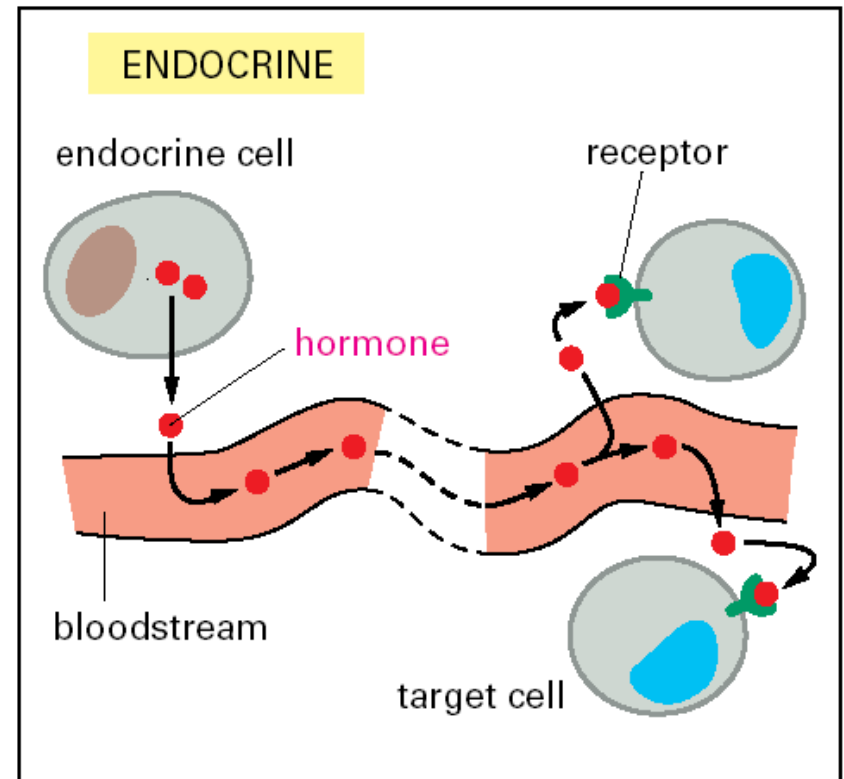
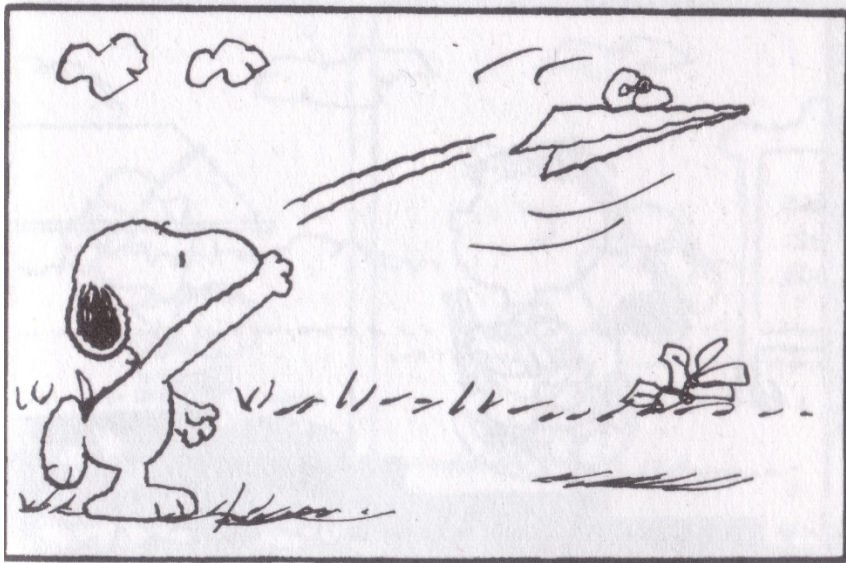
# Caratteristiche delle citochine:

- 1) Secrezione di breve durata e autolimitante (mai accumulate!)
- 2) Pleiotropiche (possono indurre risposte diverse in cellule diverse, in molti casi la DOSE decide l'effetto biologico)
- 3) Hanno bisogno di recettori sulla cellula bersaglio
- 4) Azione autocrina, paracrina, endocrina

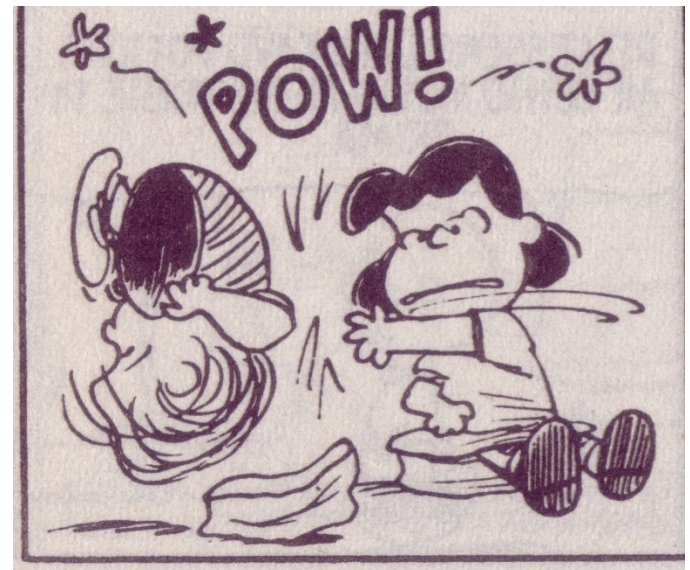
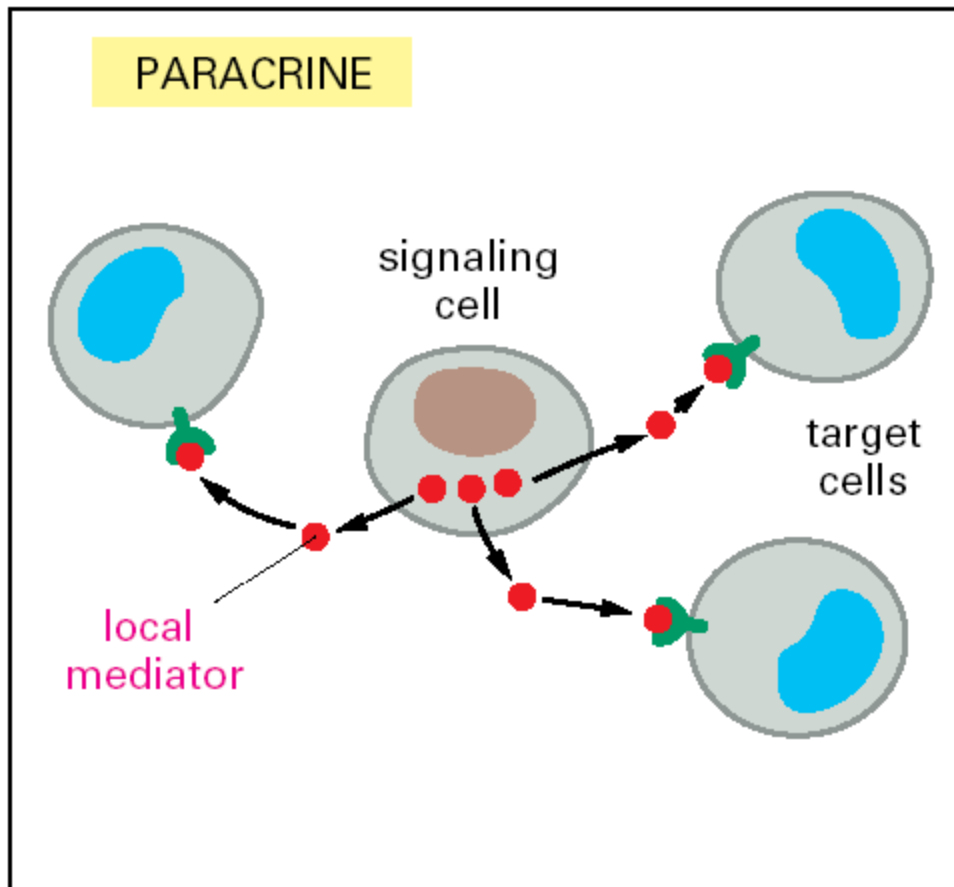
# Citochine: azione autocrina



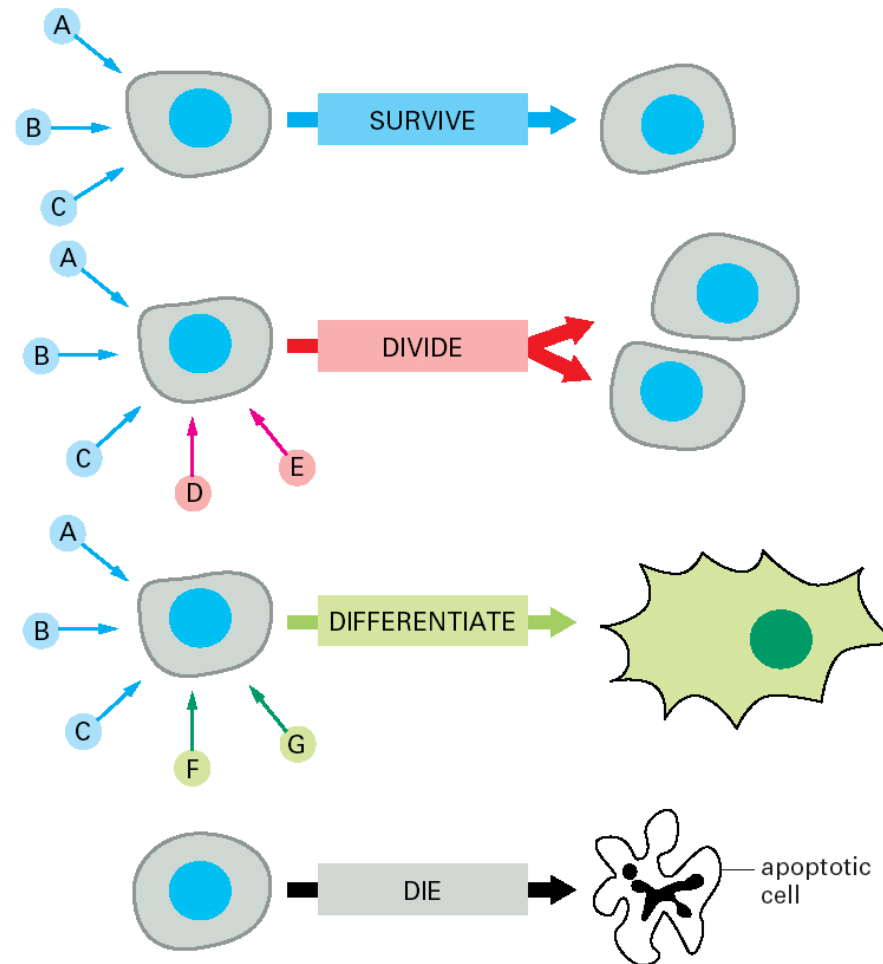
# Citochine: azione endocrina



# Citochine: azione paracrina



# Attività biologica delle citochine

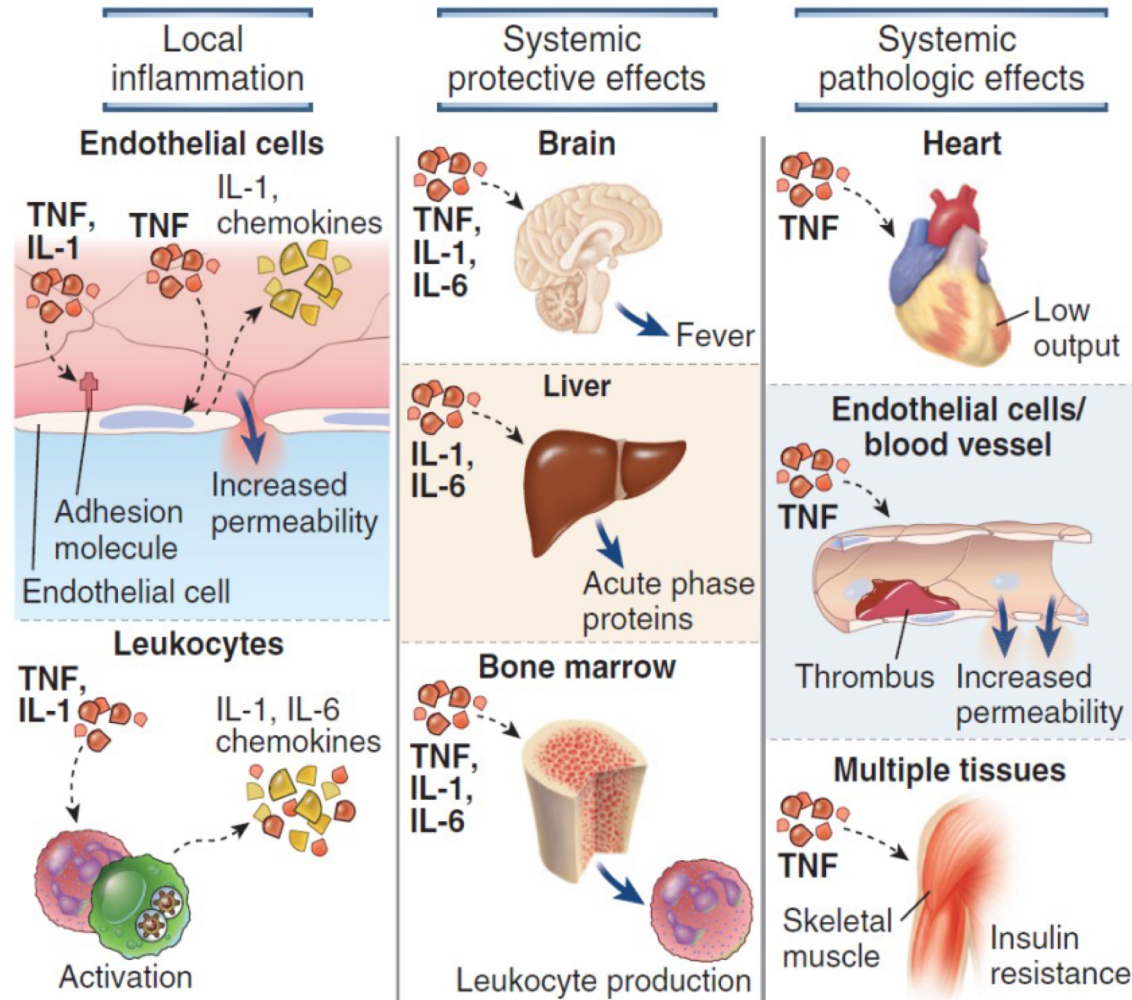


# Classificazione FUNZIONALE delle citochine

- **Infiammatorie**
- **Anti-infiammatorie**
- **Chemiotattiche**
- **“Regolatorie”**

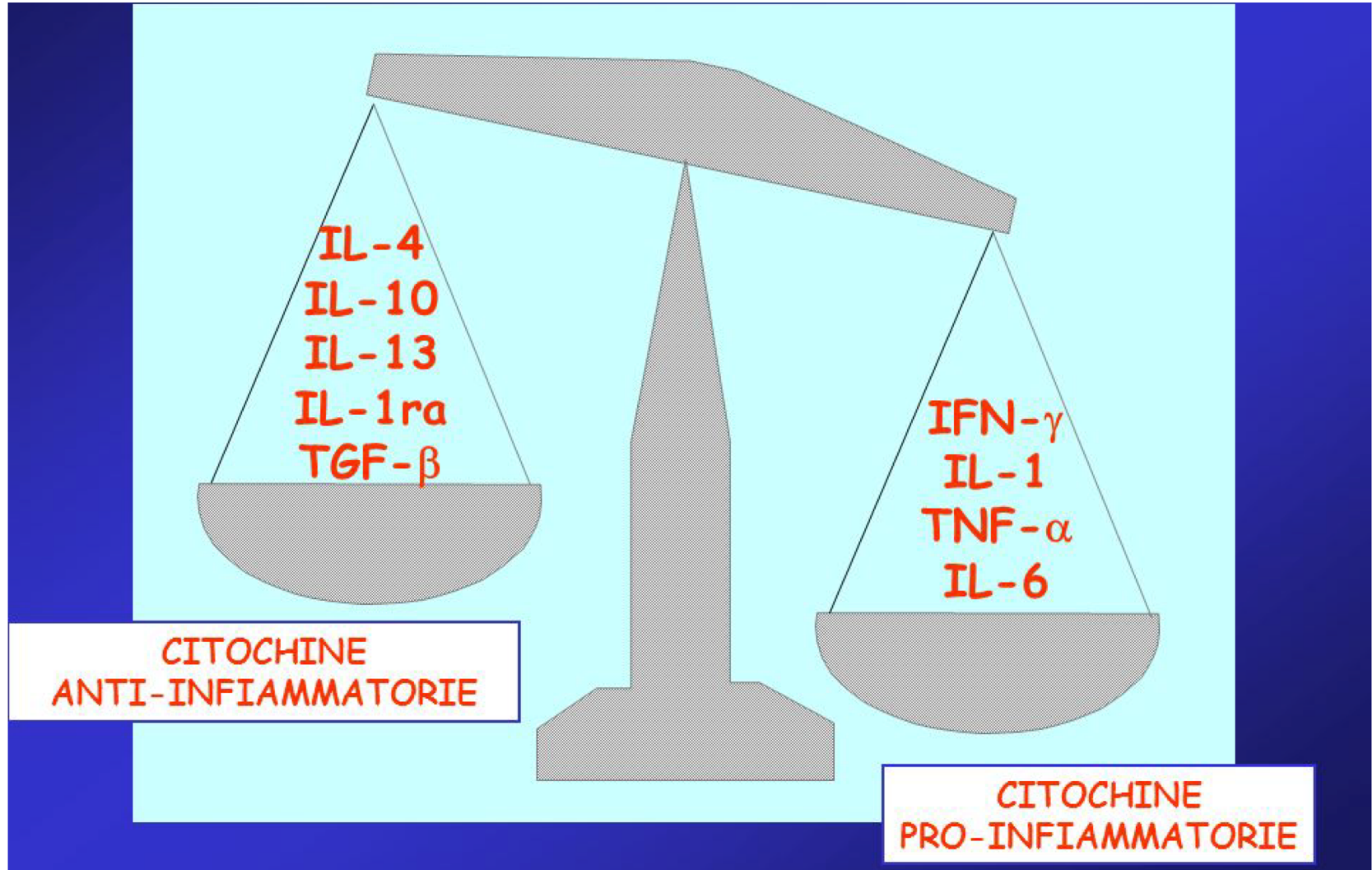
# Citochine infiammatorie:

## TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6



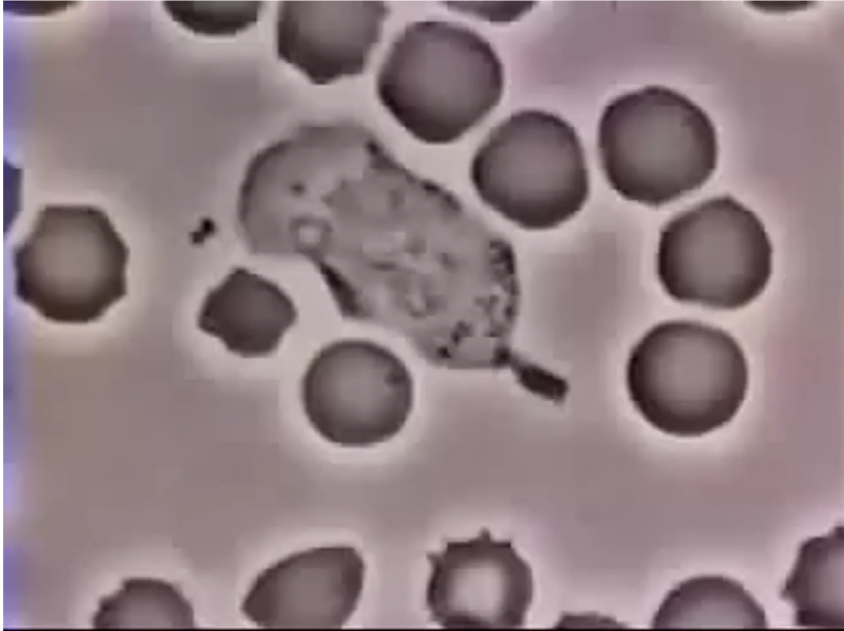


# Citochine anti-infiammatorie: IL-10



# Citochine chemiotattiche:

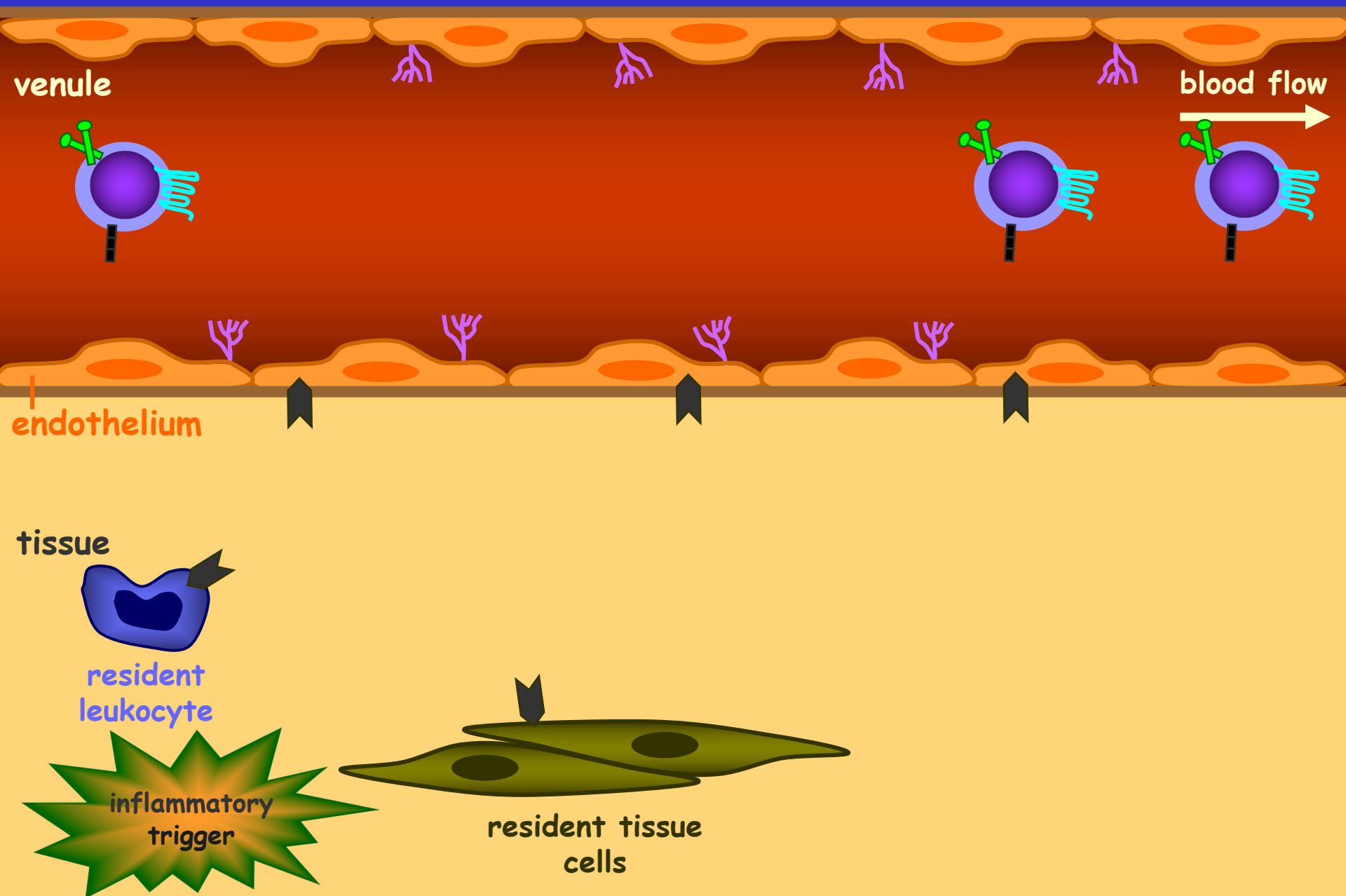
## CHEMOCHINE



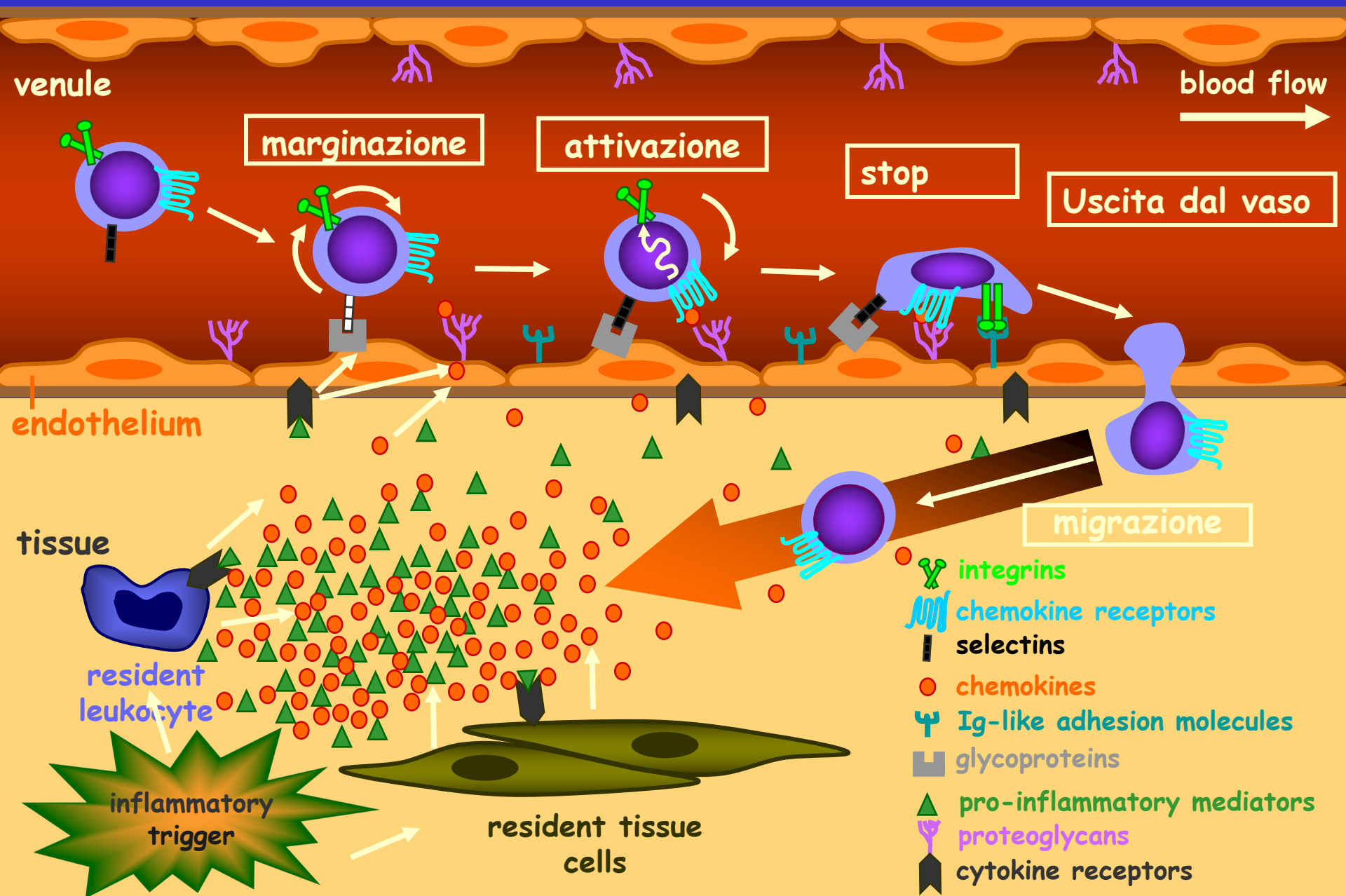
<https://www.youtube.com/watch?v=D5sjHG4xZd4>

<https://www.youtube.com/watch?v=ZUUfdP87Ssg>

# Processo di reclutamento leucocitario

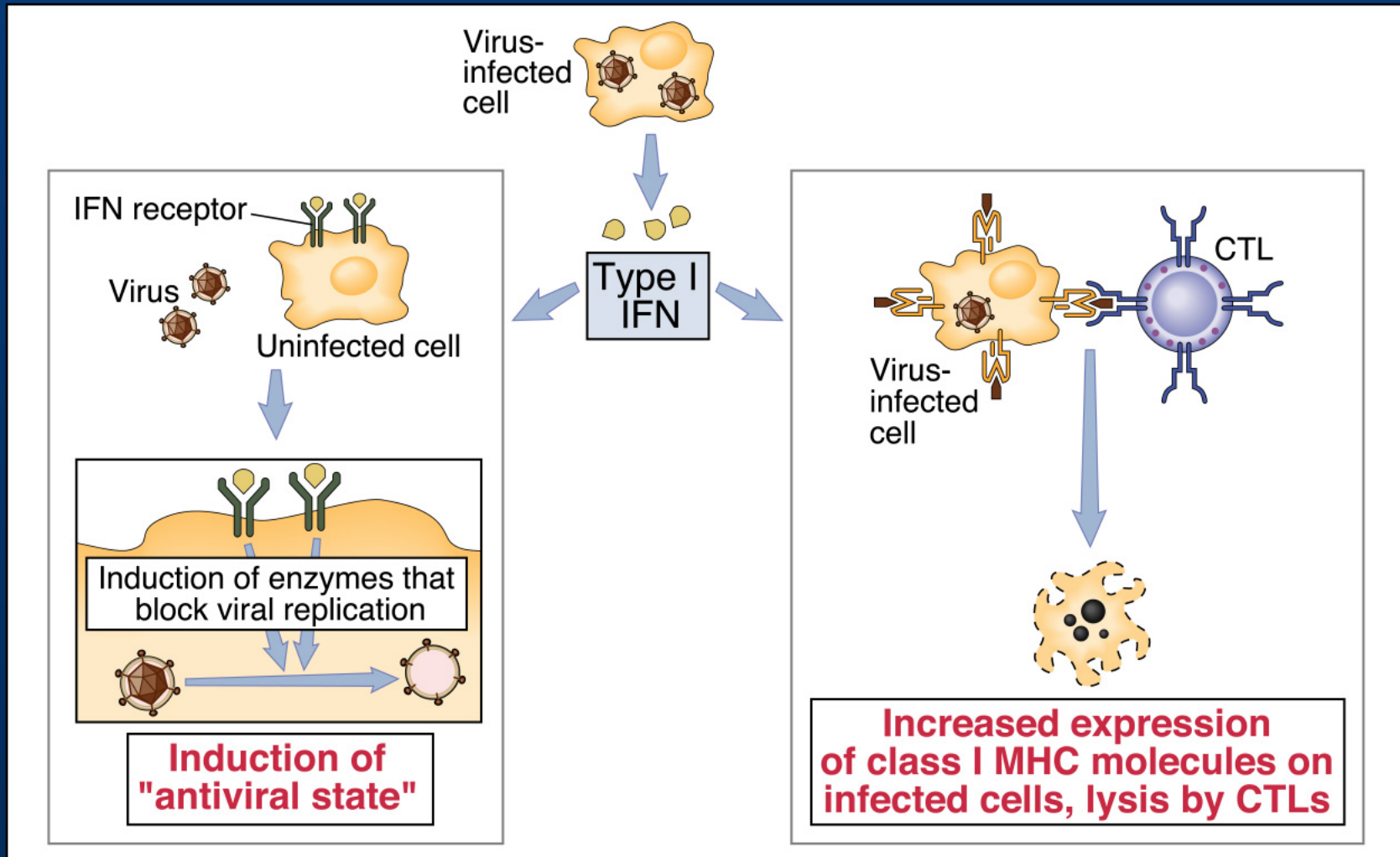


# Processo di reclutamento leucocitario



# Citochine "regolatorie"

## INTERFERONI (tipo I)



# Citochine "regolatorie"

## INTERFERONI tipo II: IFN- $\gamma$

Attivano tutte le risposte immunitarie,  
sia innate che acquisite



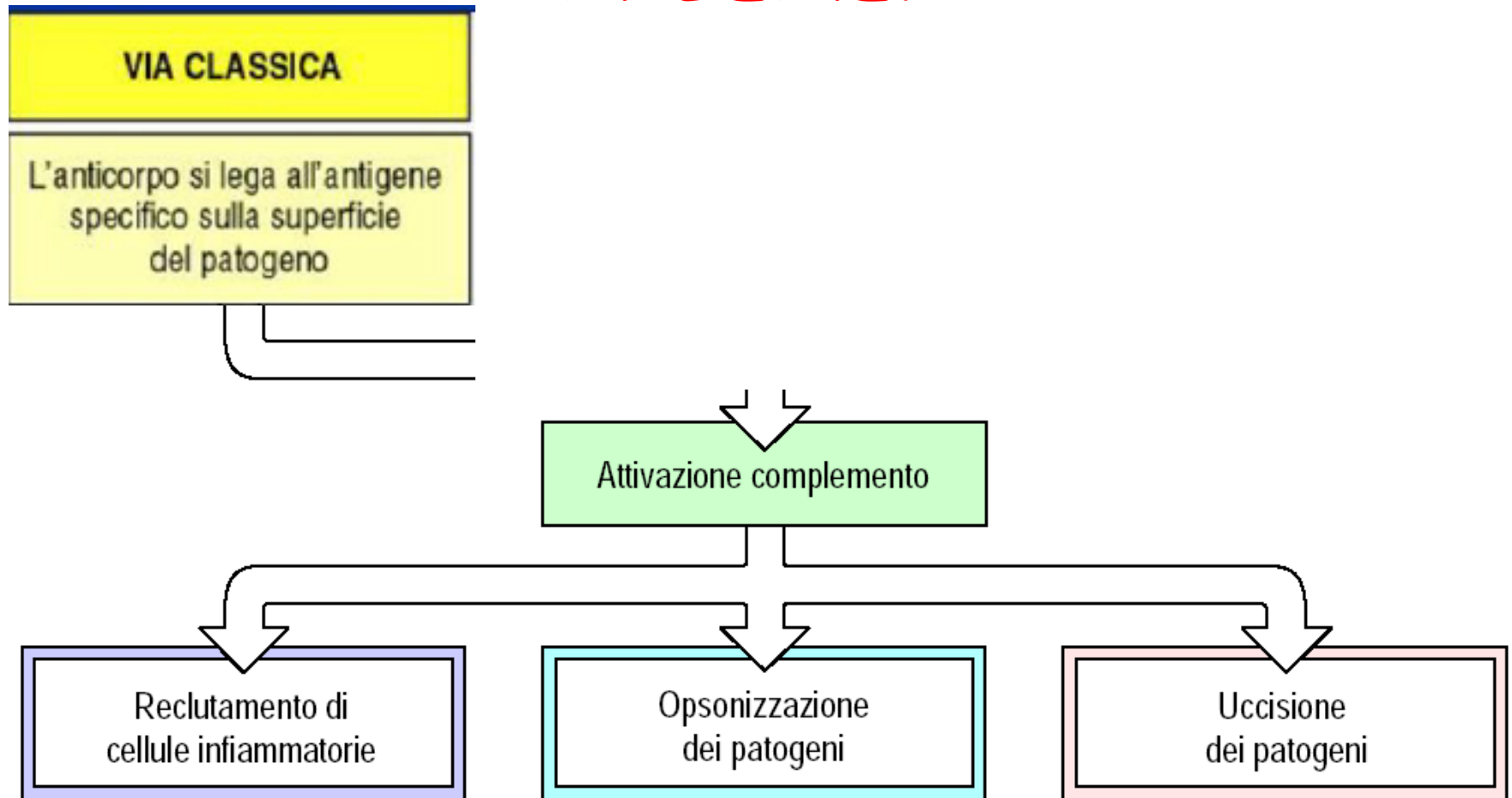
# Fattori umorali 2: IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

Proteine presenti nel plasma in forma  
inattiva

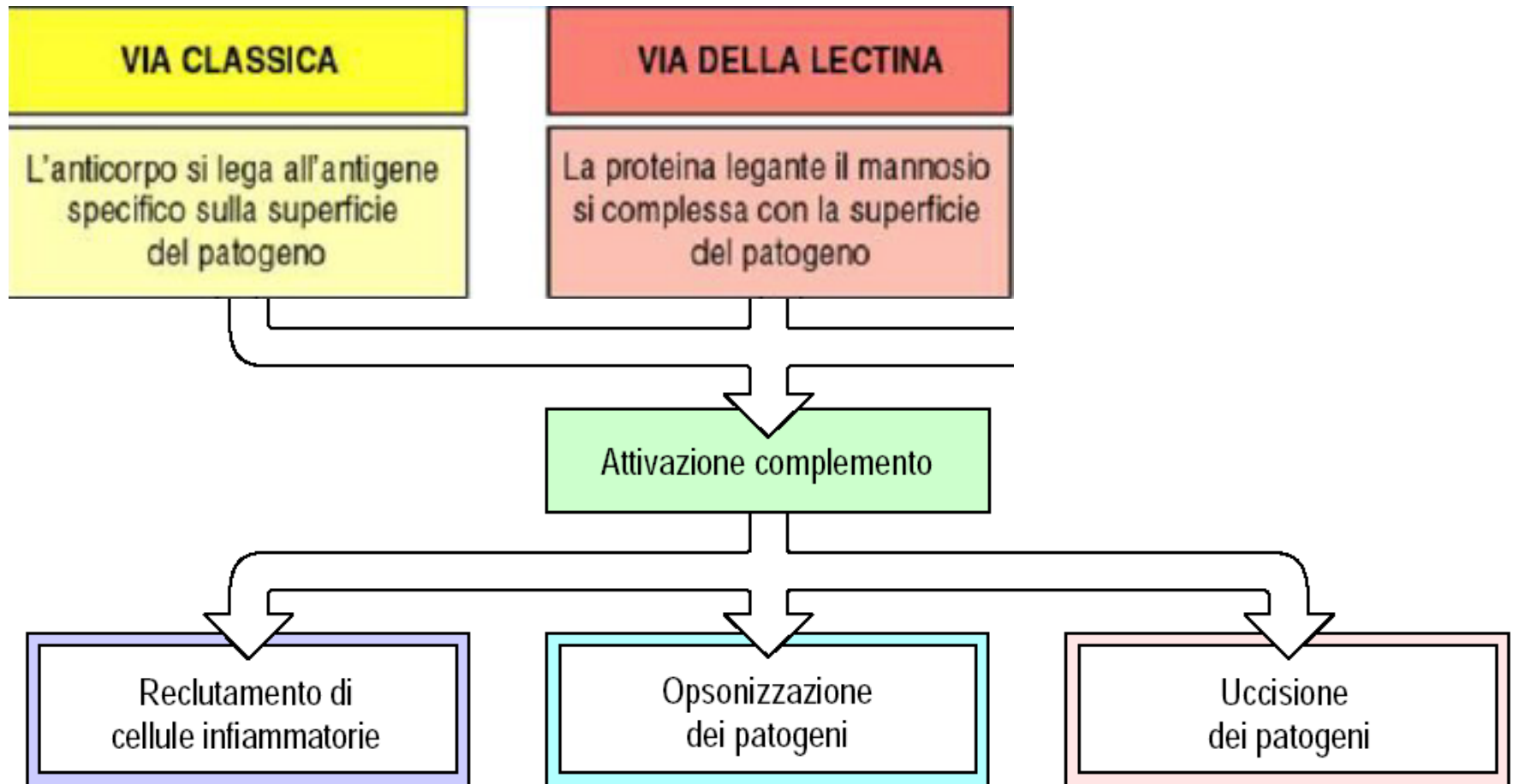
che, in seguito ad attivazione, danno  
origine ad una cascata enzimatica



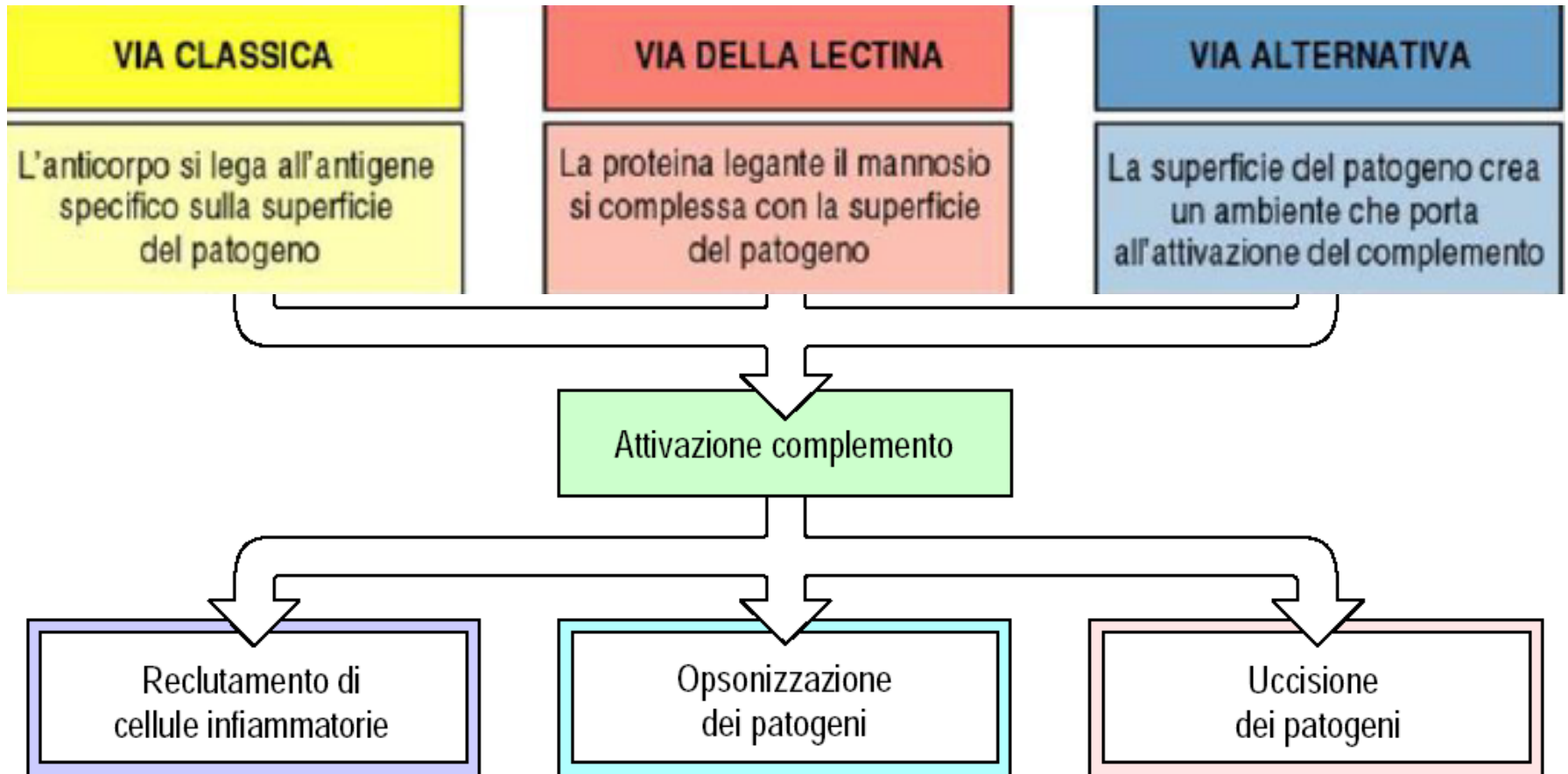
# LE TRE VIE DI ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO



# LE TRE VIE DI ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO

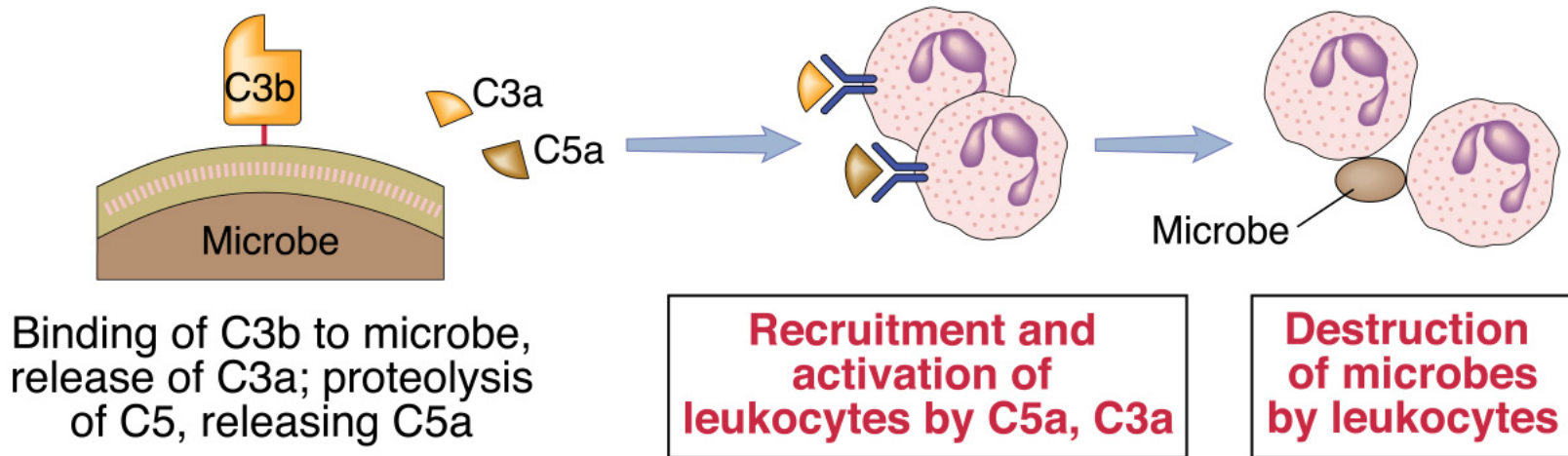


# LE TRE VIE DI ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO



# 1) RICHIAMO DI CELLULE INFIAMMATORIE

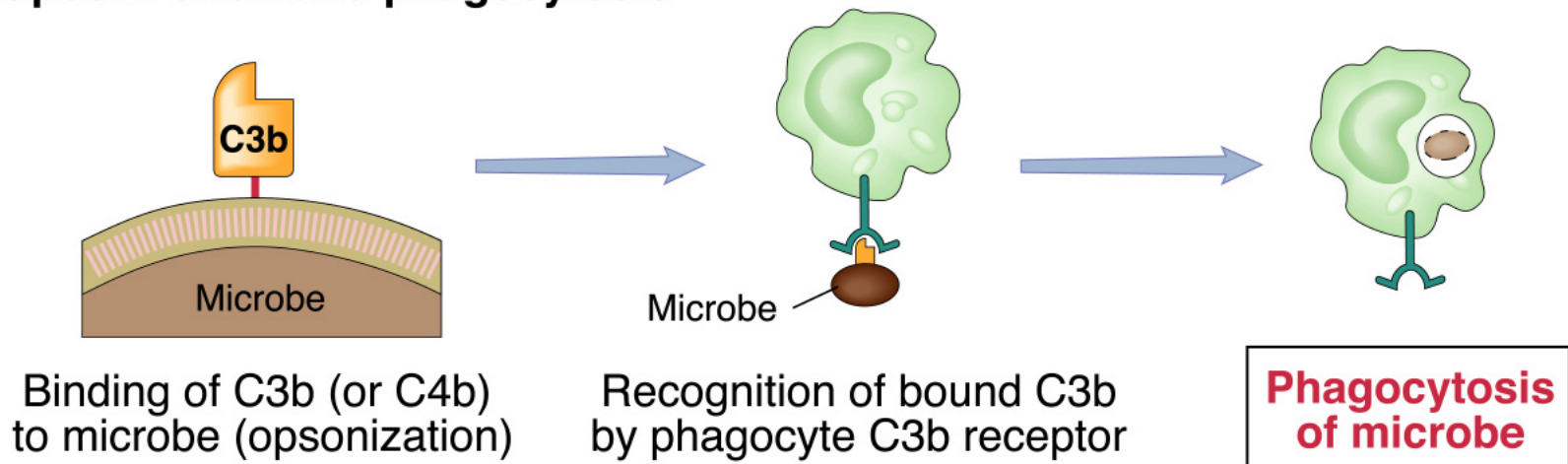
## Stimulation of inflammatory reactions



From Abbas, Lichtman, & Pober: Cellular and Molecular Immunology. W.B. Saunders, 1999, Fig. 14-17b

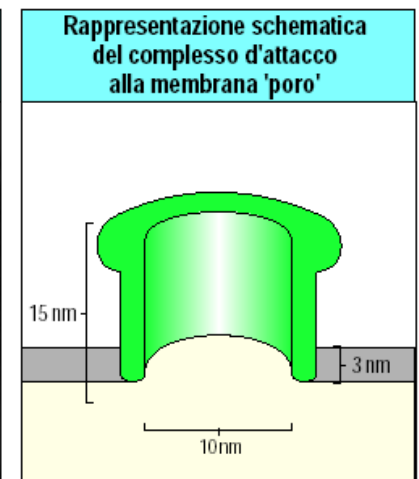
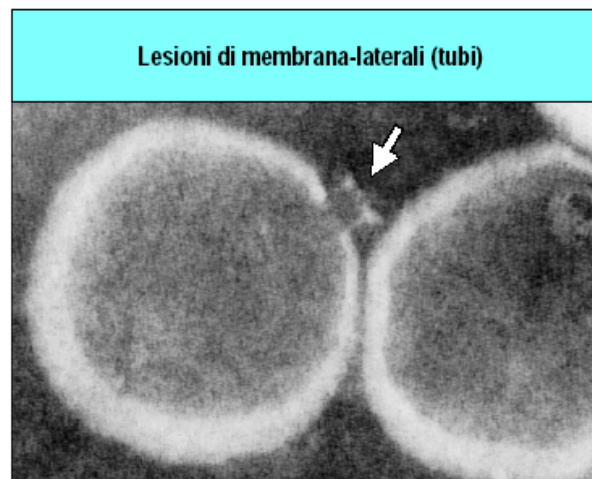
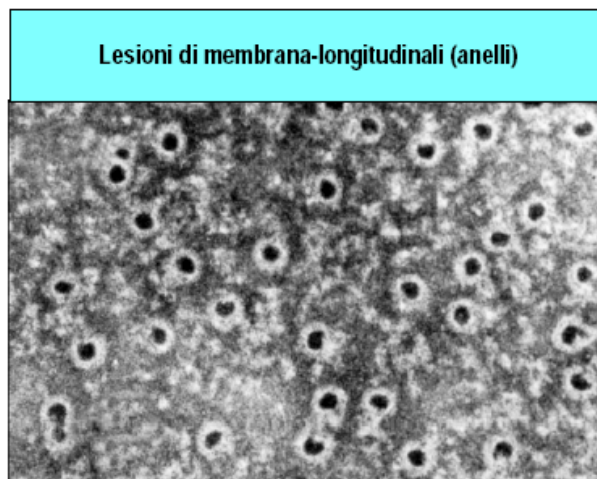
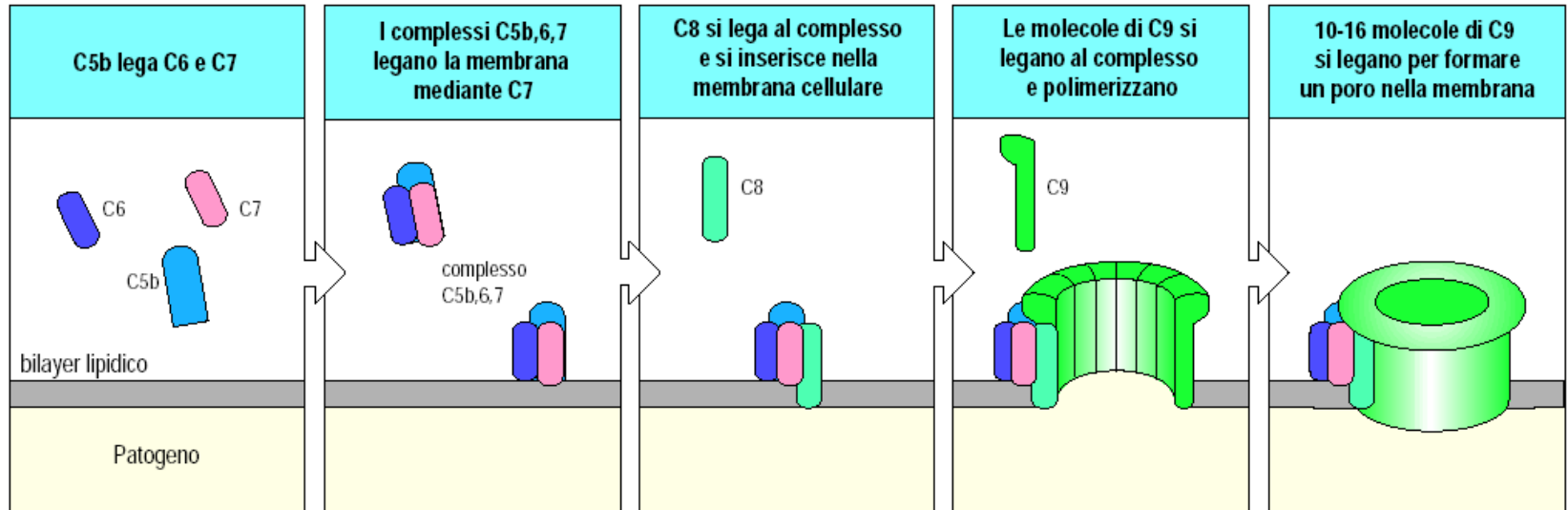
## 2) FAVORIRE DISTRUZIONE PATOGENI (OPSONIZZAZIONE)

### Opsonization and phagocytosis



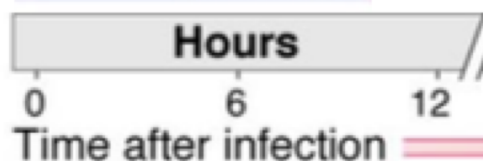
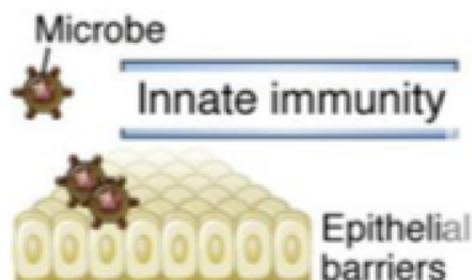
From Abbas, Lichtman, & Pober: Cellular and Molecular Immunology. W.B. Saunders, 1999, Fig. 14-17a

# 3) UCCISIONE DIRETTA DEI PATOGENI





# Il sistema immunitario entra in funzione!



IMMUNITA' INNATA:

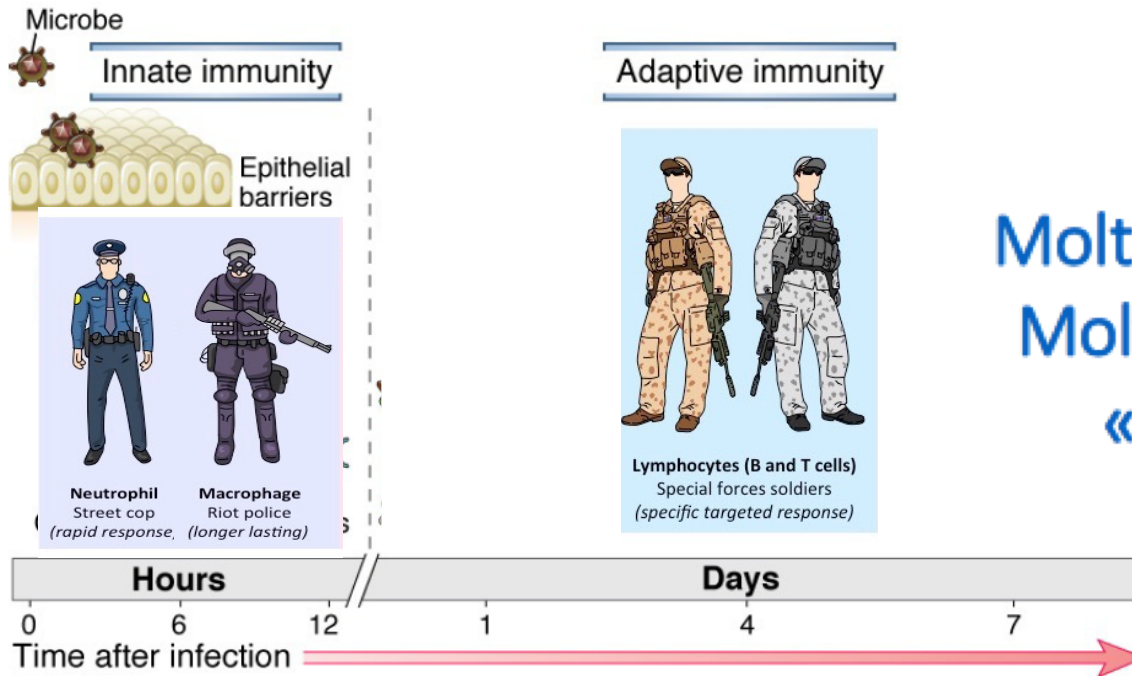
Pronta all'intervento (rapida)  
Controlla l'infezione

Attiva una seconda linea di difesa:  
L'IMMUNITA' ADATTATIVA

Abbas, Lichtman and Pillai. *Cellular and Molecular Immunology*, 7<sup>th</sup> edition, 2011 © Elsevier



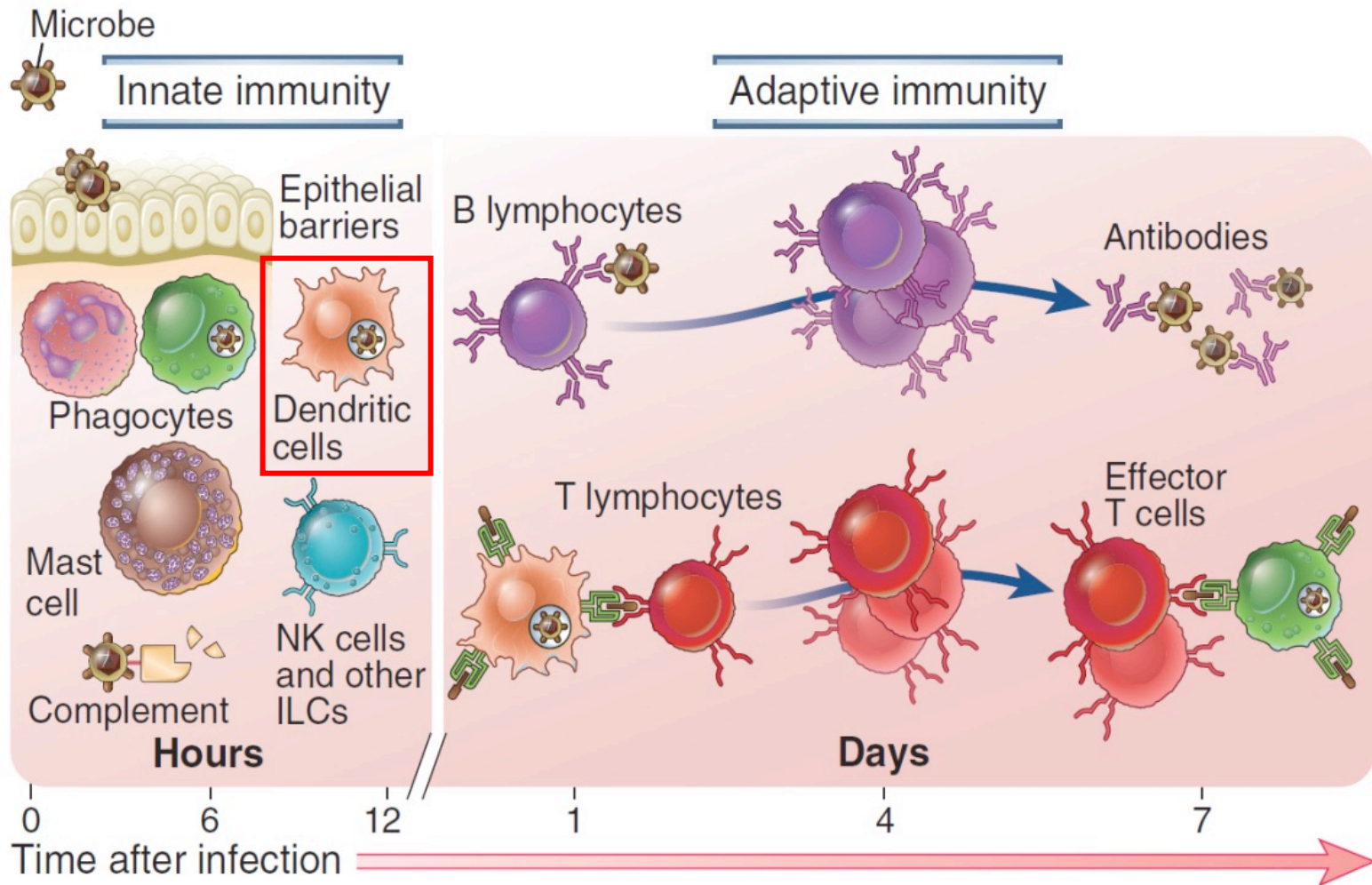
# Verso la risposta immunitaria ADATTATIVA



Cellular and Molecular Immunology-Abul K. Abbas 9th Ed. 2018

## Memoria immunitaria





Cellular and Molecular Immunology-Abul K. Abbas 9th Ed. 2018

# Verso la risposta immunitaria ADATTATIVA

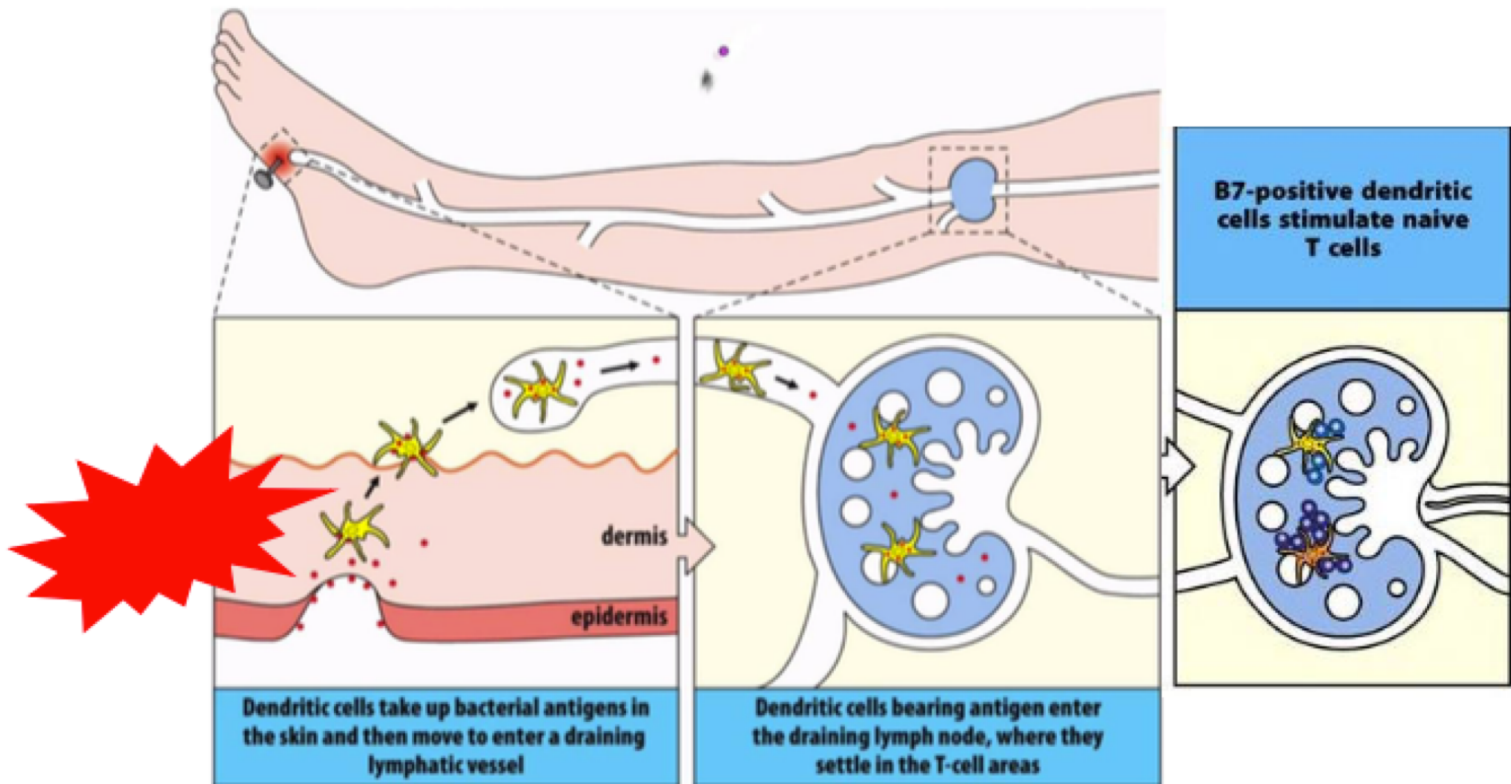


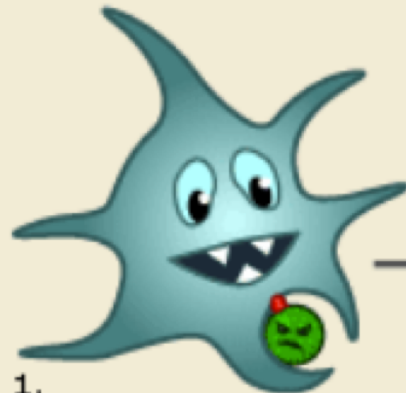
Figure 8.1 The Immune System, 4th ed. (© Garland Science 2015)

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

# Verso la risposta immunitaria ADATTATIVA

## Antigen Presentation

dendritic cell



1.  
A phagocyte "eats"  
a bacteria.



2.  
Parts of the bacteria  
(antigen) goes to the  
surface of the phagocyte



3.  
The phagocyte  
presents the antigen  
to a helper T cell



activated  
helper T cell

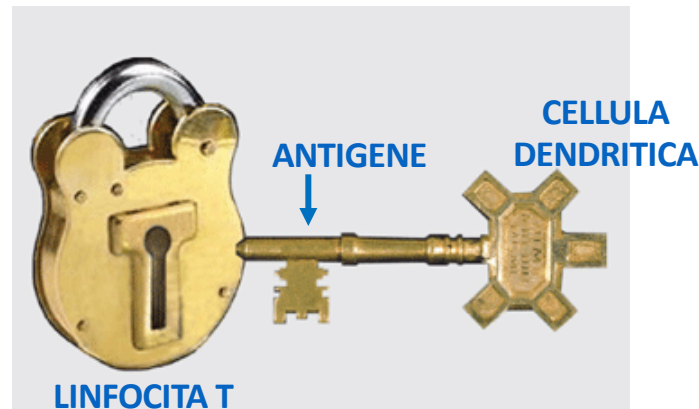
4.  
The helper T cell  
is activated.

helper T cell

# Verso la risposta immunitaria ADATTATIVA

---

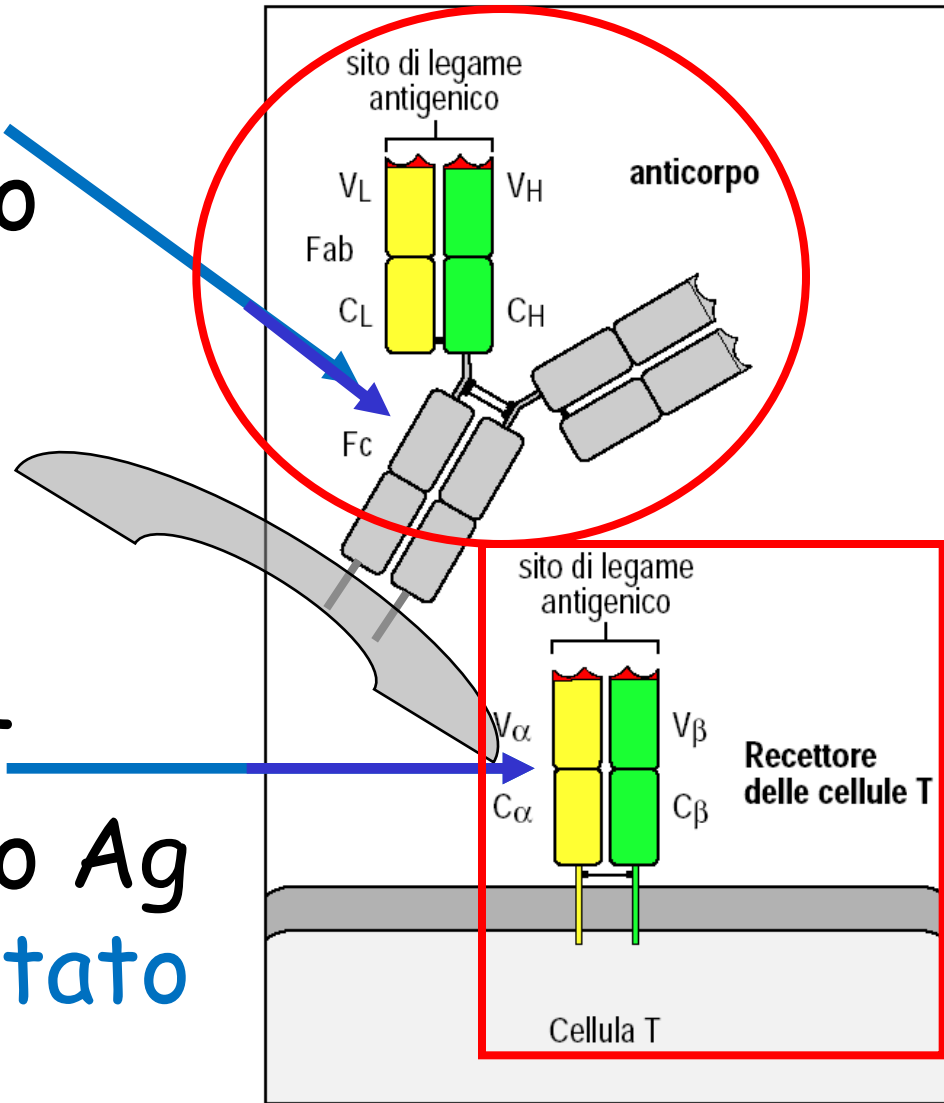
Le cellule dell'immunità adattativa (linfociti T e B) riconoscono gli ANTIGENI  
=  
«porzioni» di microorganismo  
(in media, un microorganismo contiene circa 2000 antigeni)



# I recettori per gli antigeni

LINFOCITI B  
riconoscimento  
diretto

LINFOCITI T  
riconoscimento Ag  
solo se presentato





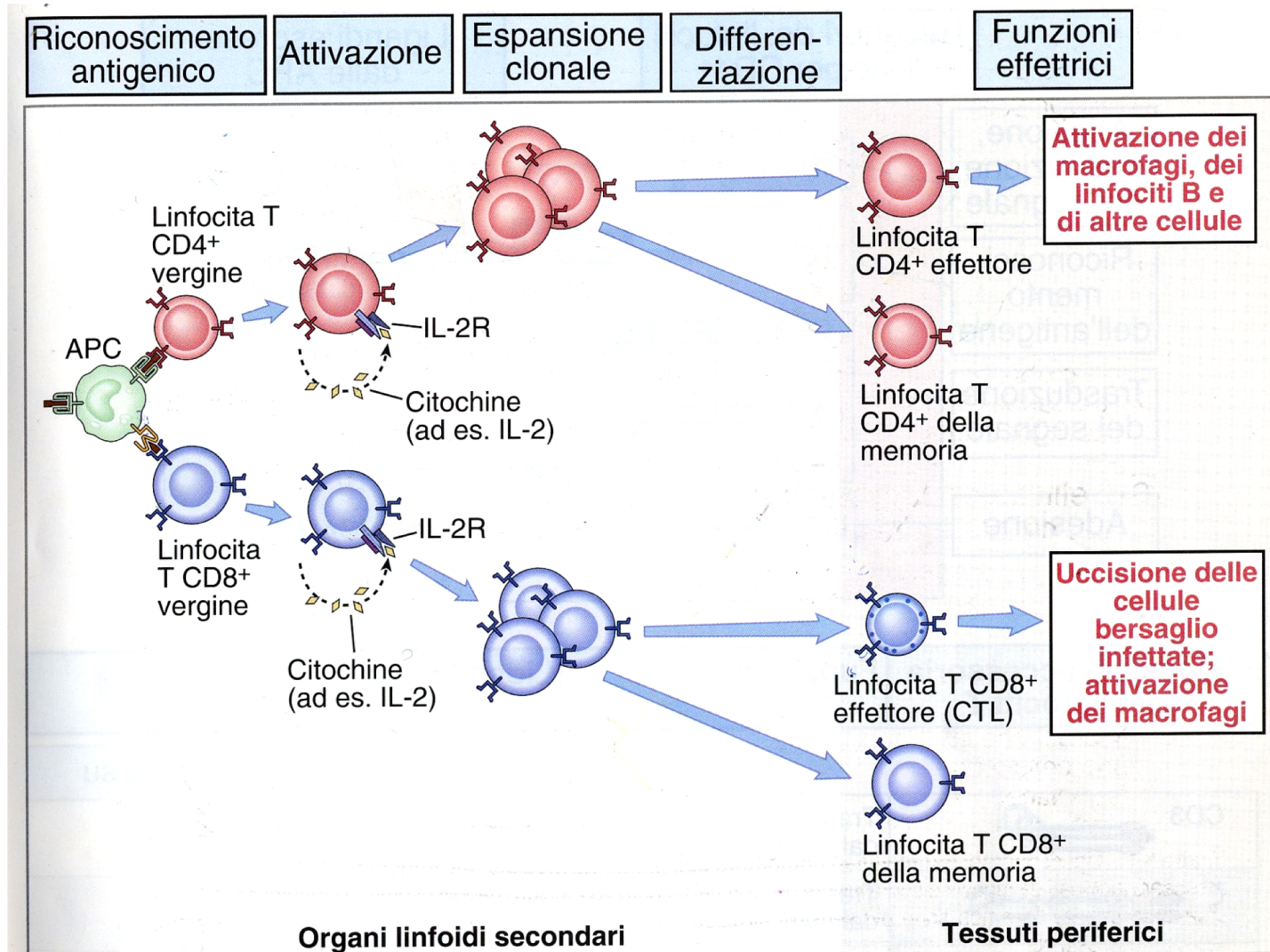
# IMMUNITÀ ACQUISITA

CELLULARE (Linfociti T)

UMORALE (Linfociti B, Ac)

# Attivazione dei linfociti T

+++ attiva vs virus e microorganismi intracellulari

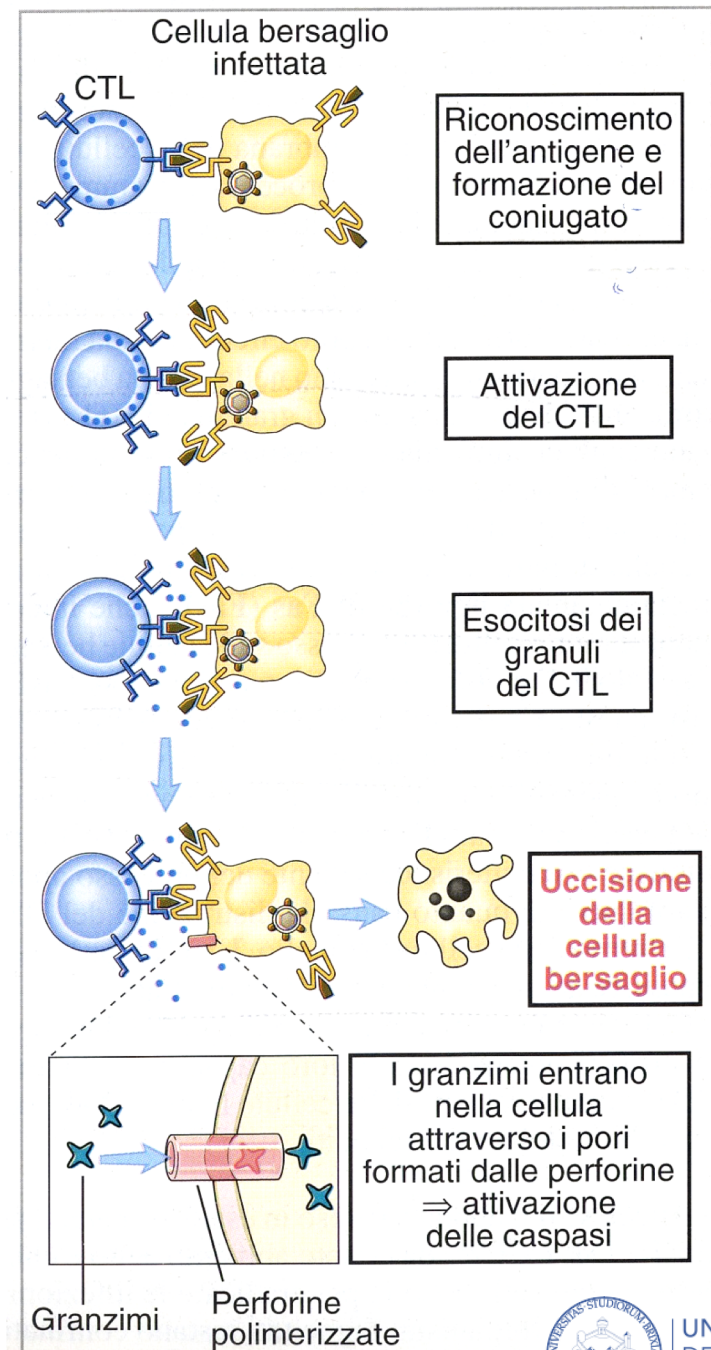


# Meccanismi di uccisione delle cellule infettate da parte dei CTL CD8+

La funzione dei T citotossici è quella di uccidere le cellule bersaglio

[https://www.youtube.com/watch?v=Jg\\_21iSYwBc](https://www.youtube.com/watch?v=Jg_21iSYwBc)

<https://www.cellsalive.com/ctl.htm>



# IMMUNITÀ ACQUISITA

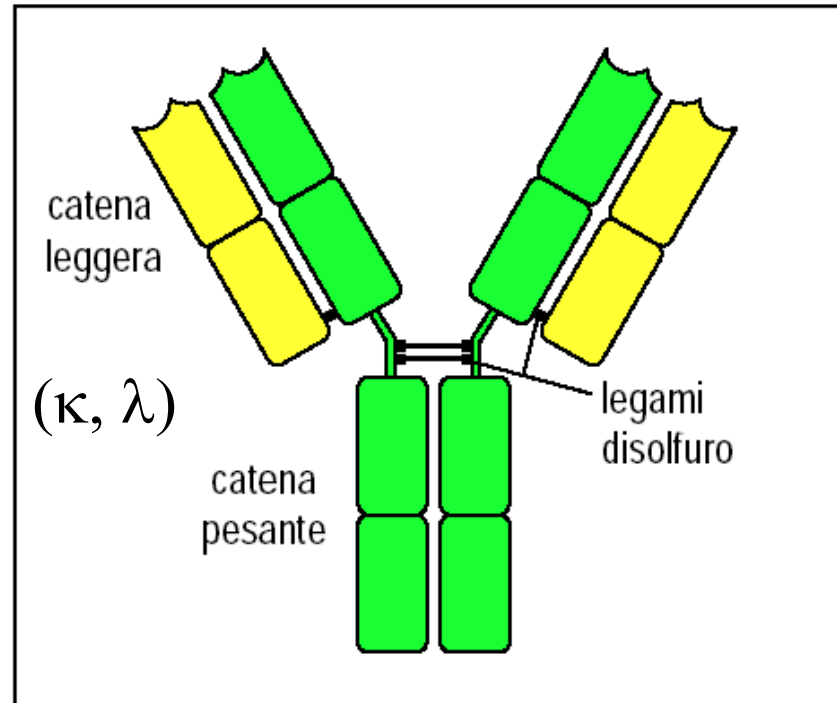
CELLULARE (Linfociti T)

UMORALE (Linfociti B, Ac)

# IMMUNITÀ ACQUISITA UMORALE

+++ attiva vs microorganismi extracellulari e tossine

Molecole effettrici: ANTICORPI

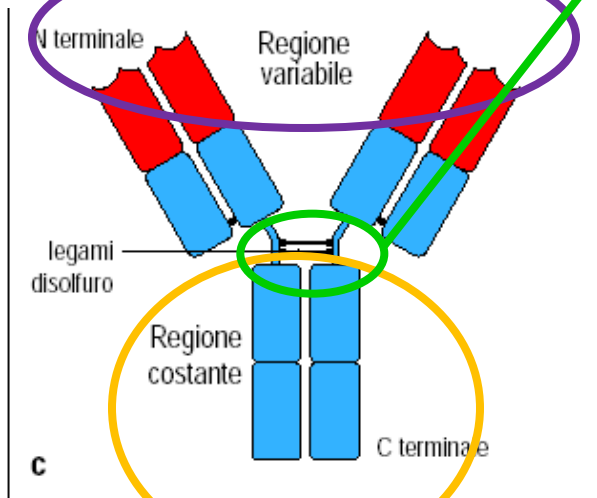


anticorpi = immunoglobuline

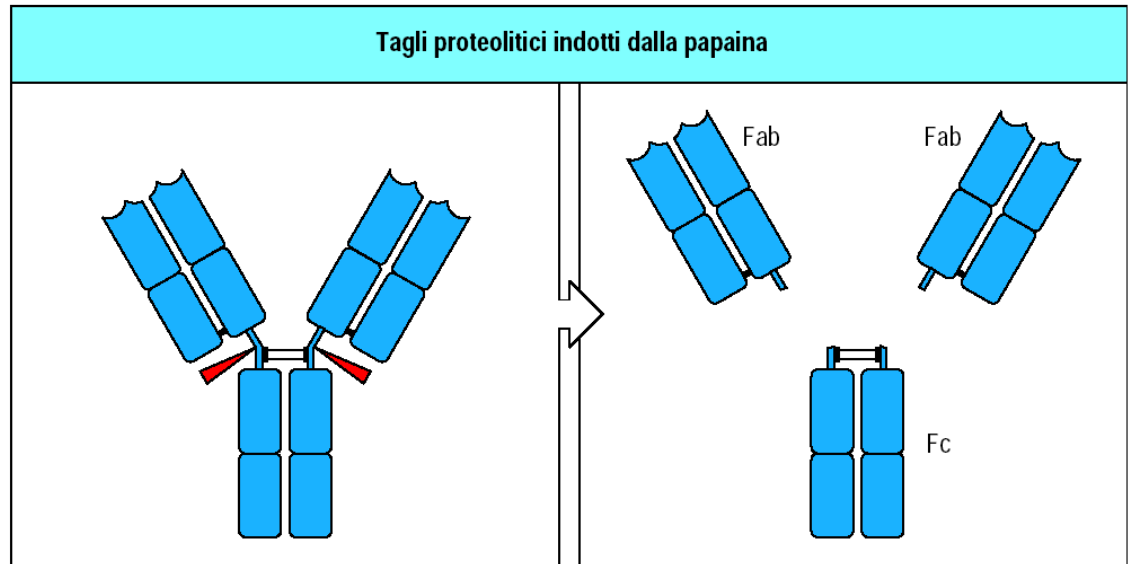
# Regioni FUNZIONALI degli anticorpi

Riconoscimento  
antigene

Regione **cerniera**:  
*flessibilità*



Interazione con  
recettori e  
complemento



Fab = Fragment antigen binding  
Fc = Frammento cristallizzabile

# ISOTIPI anticorpali:

dipendono dalla catena pesante che può essere di tipo

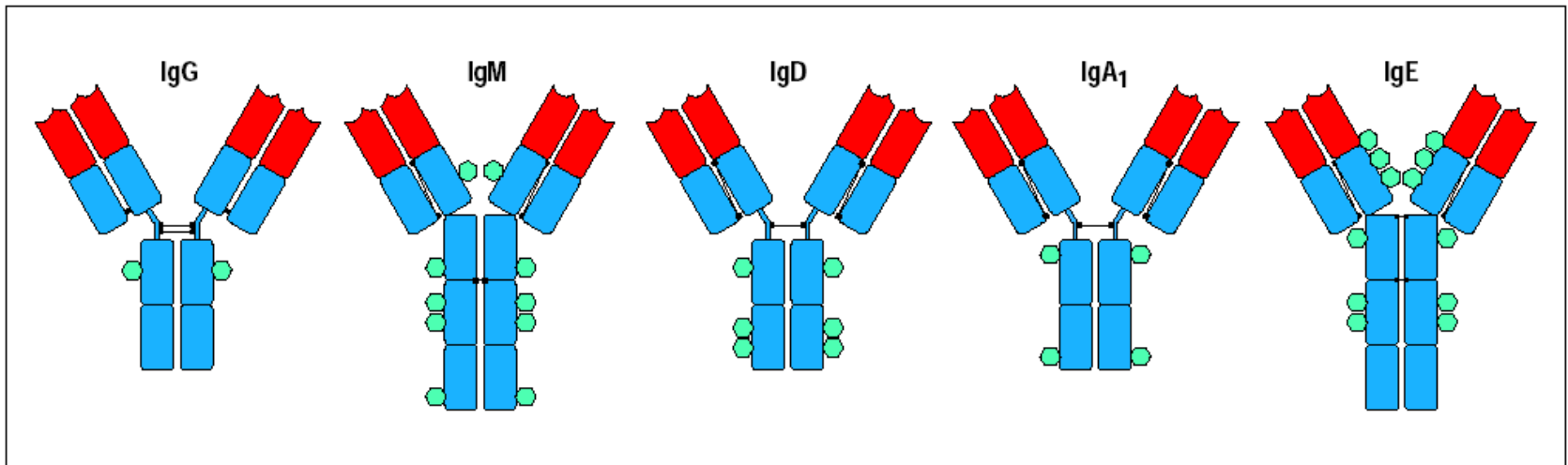
$\gamma$

$\mu$

$\delta$

$\alpha$

$\epsilon$



85%

5%  
precoci

1%

10-15%  
mucosali

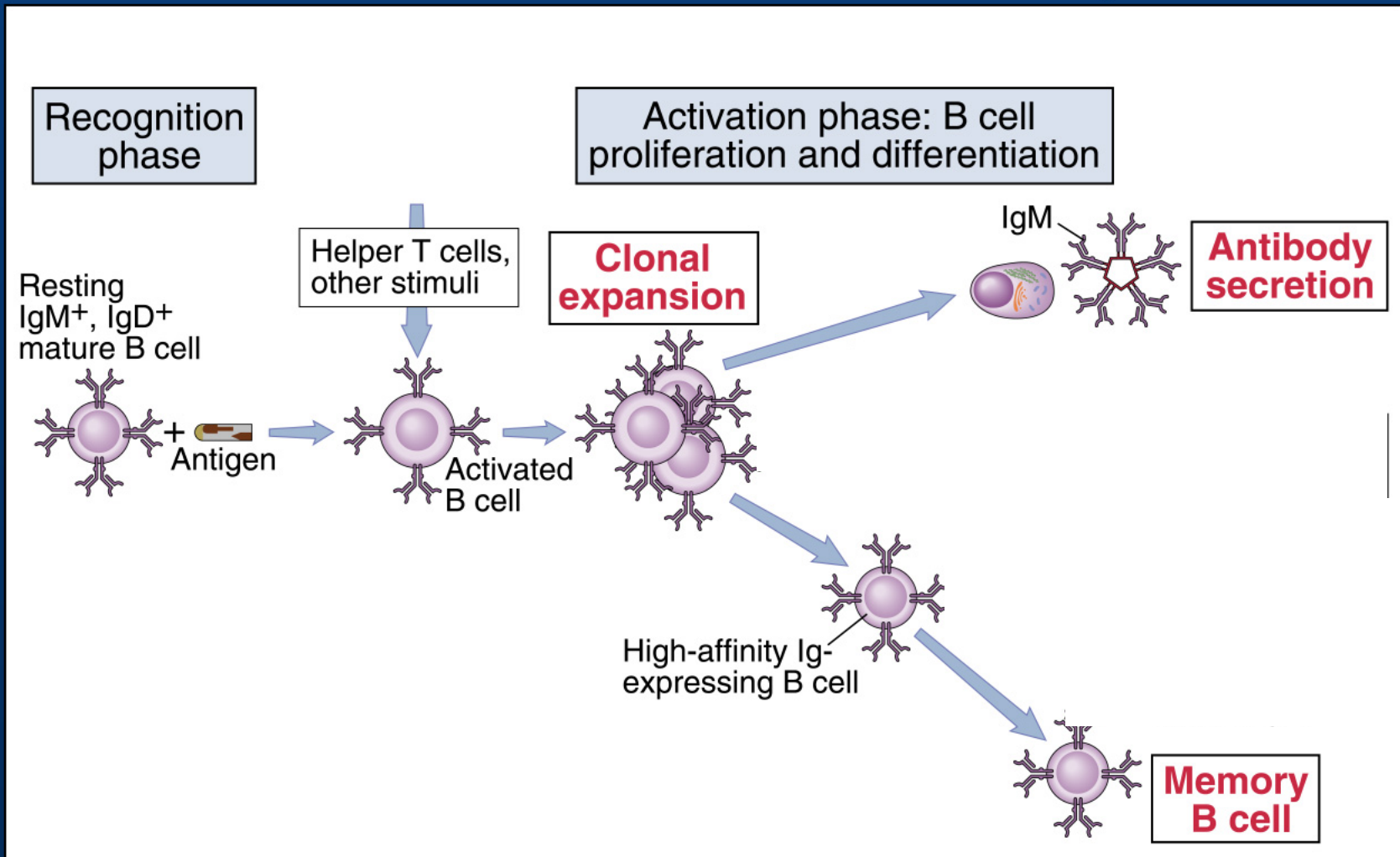
allergie,  
parassiti



# ISOTIPI anticorpali

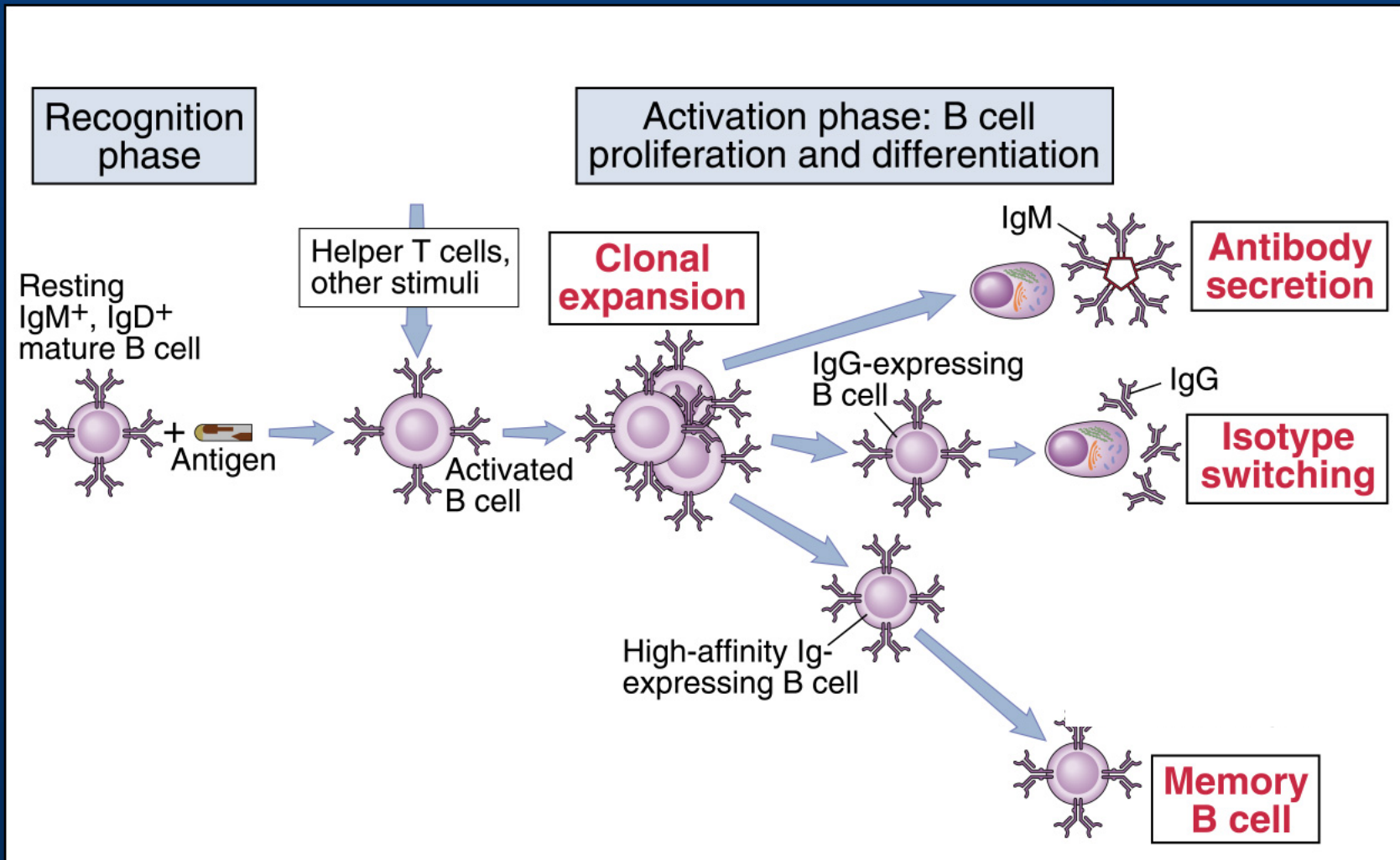
Isotipo dell' anticorpo	Sottotipo	Catena H	Concentr. nel siero (mg/ml)	Emivita Plasmatica (giorni)	Funzioni
IgA	IgA1, 2	$\alpha$ (1 o 2)	3.5	6	Immunità delle mucose
IgD	Nessuno	$\delta$	Tracce	3	Recettore per l'ag dei linfociti B naive
IgE	Nessuno	$\epsilon$	0.05	2	Ipersensibilità immediata, difesa contro gli elminti
IgG	IgG1-4	$\gamma$ (1,2,3 o 4)	13.5	23	Opsonizzazione, attivazione del complemento, citotossicità Ab-dipendente e cellulare, immunità neonatale, feedback inibitorio delle cellule B
IgM	Nessuno	$\mu$	1.5	5	Recettore per l'Ag dei linfociti B naive, attivazione del complemento

# Phases of the humoral immune response



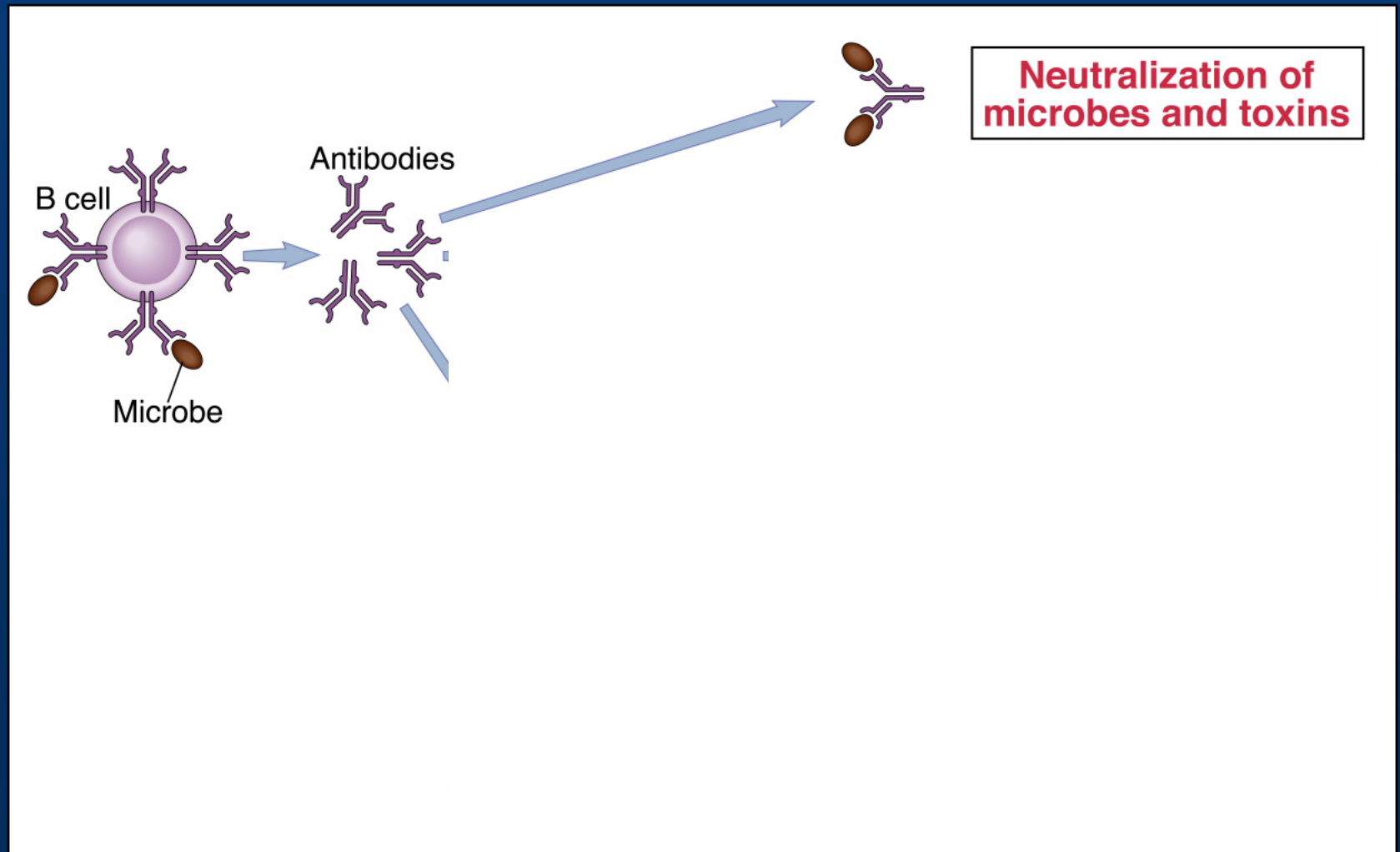
Cellular and Molecular Immunology-Abul K. Abbas 9th Ed. 2018

# Phases of the humoral immune response



From Abbas, Lichtman, & Pober: Cellular and Molecular Immunology. W.B. Saunders, 1999, Fig. 9-2

# Effector functions of antibodies

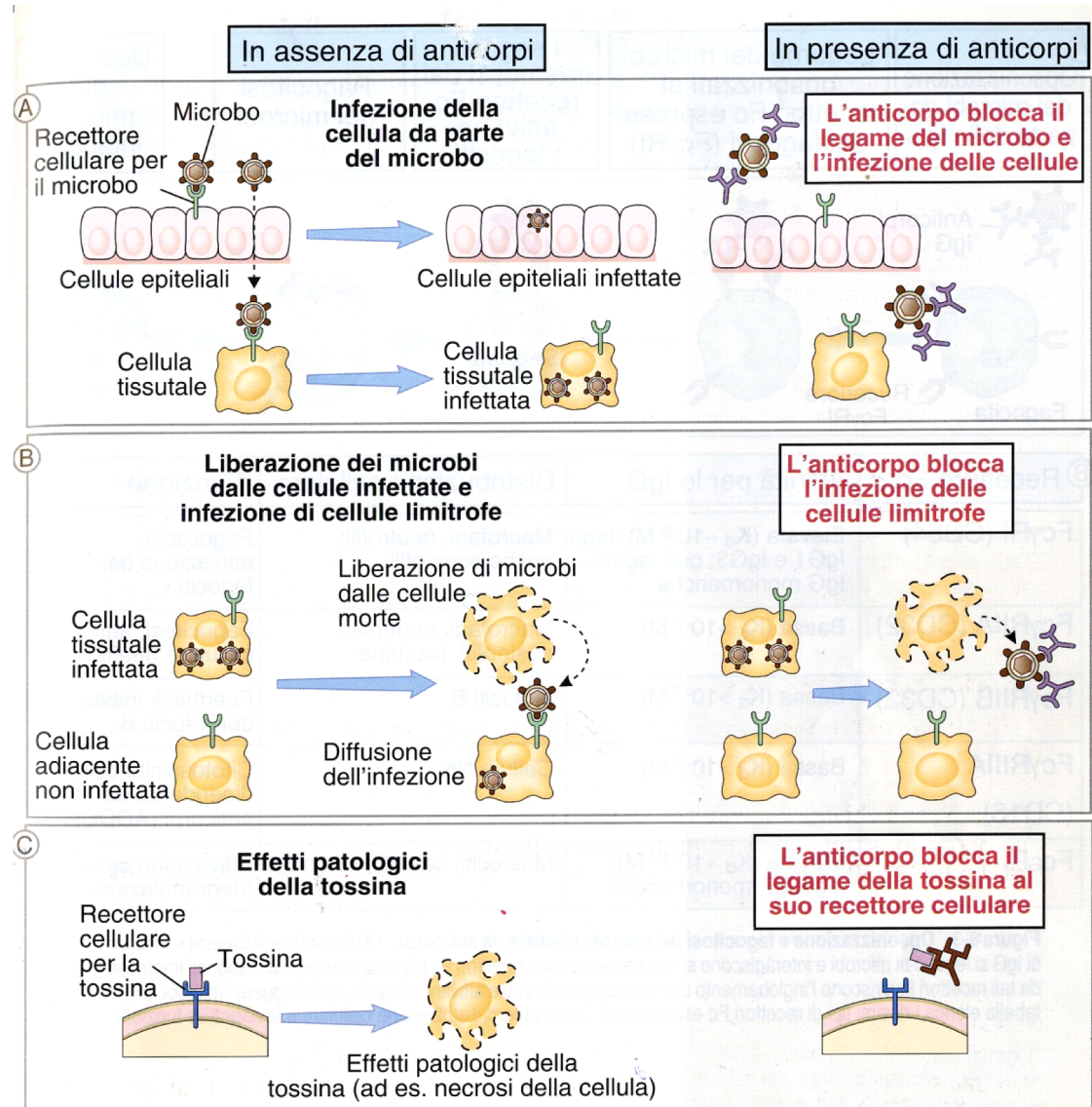


Cellular and Molecular Immunology-Abul K. Abbas 9th Ed. 2018

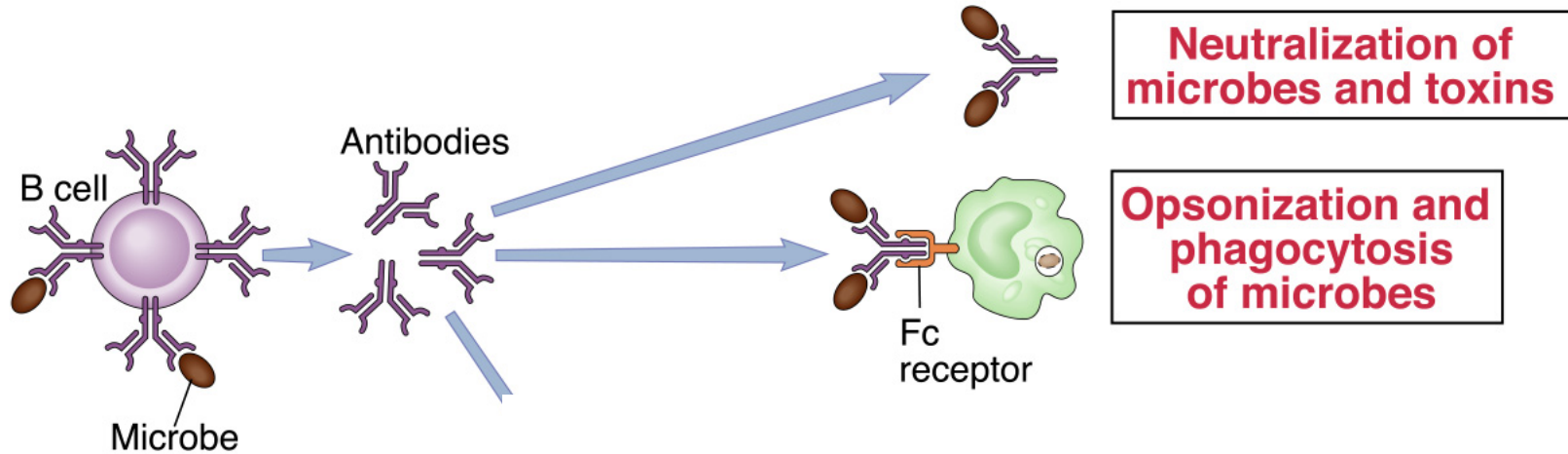


# Funzioni effettrici degli anticorpi

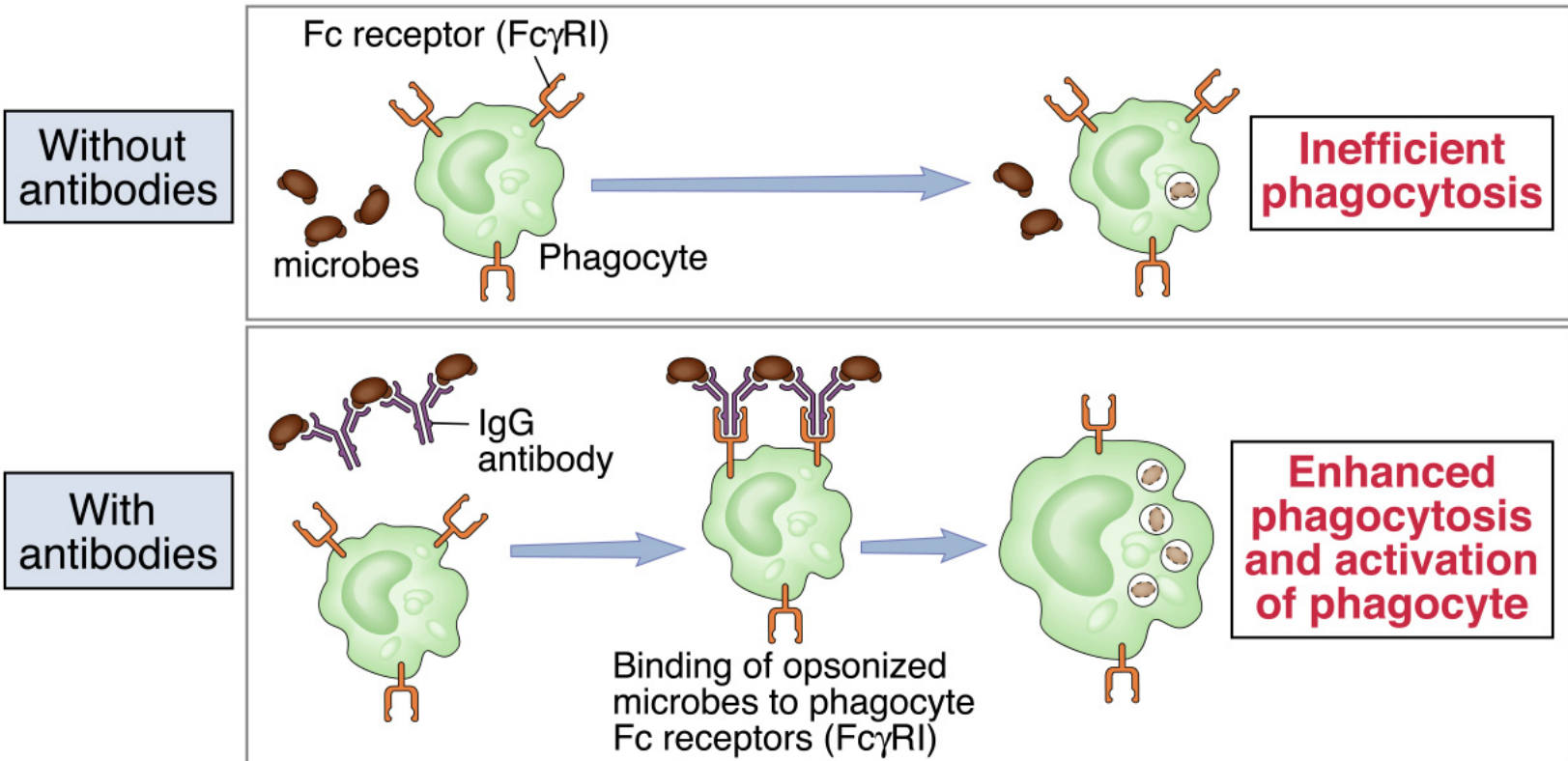
Neutralizzazione  
di microbi e  
tossine



# Effector functions of antibodies

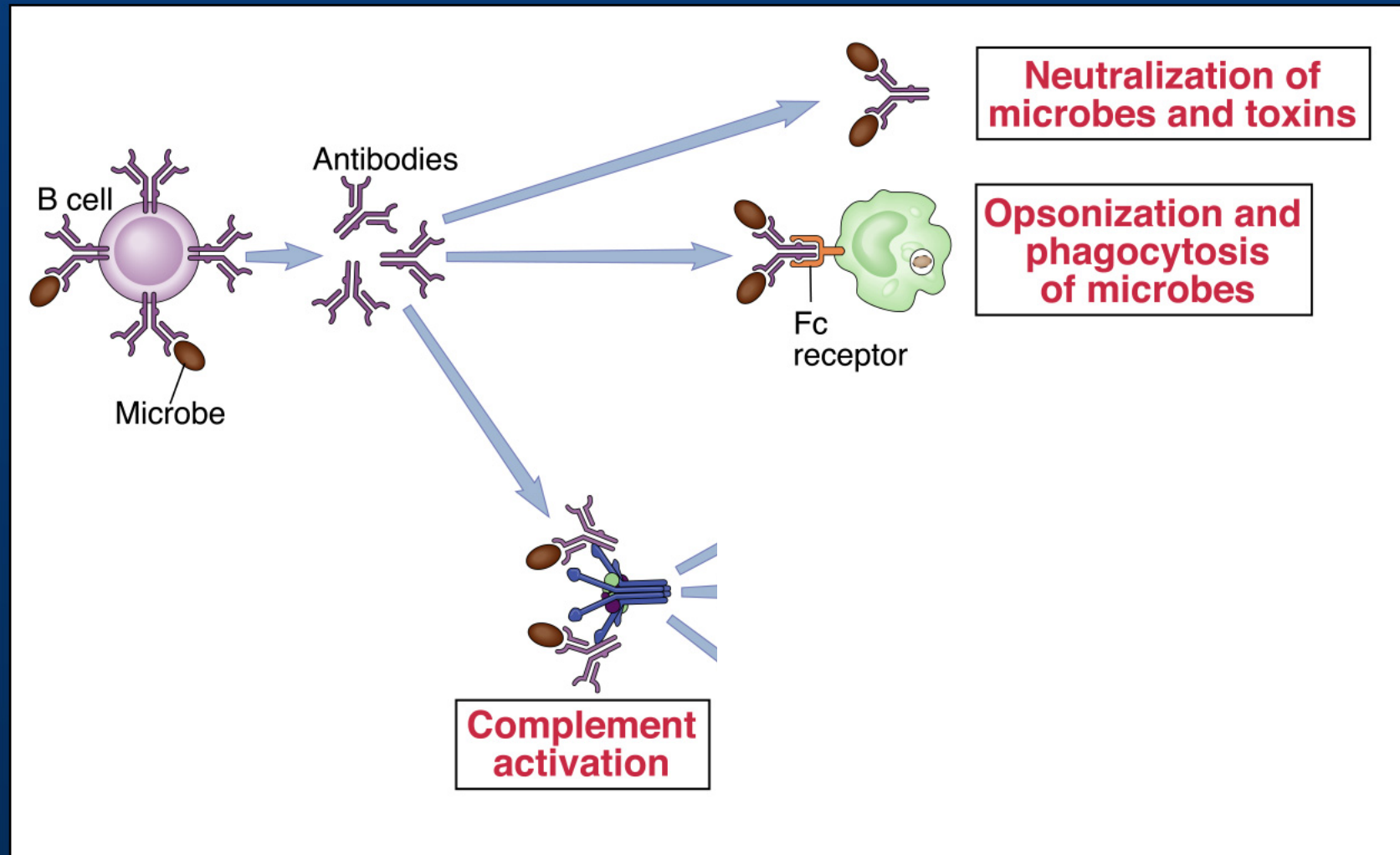


# Effector functions of antibodies: opsonization and phagocytosis



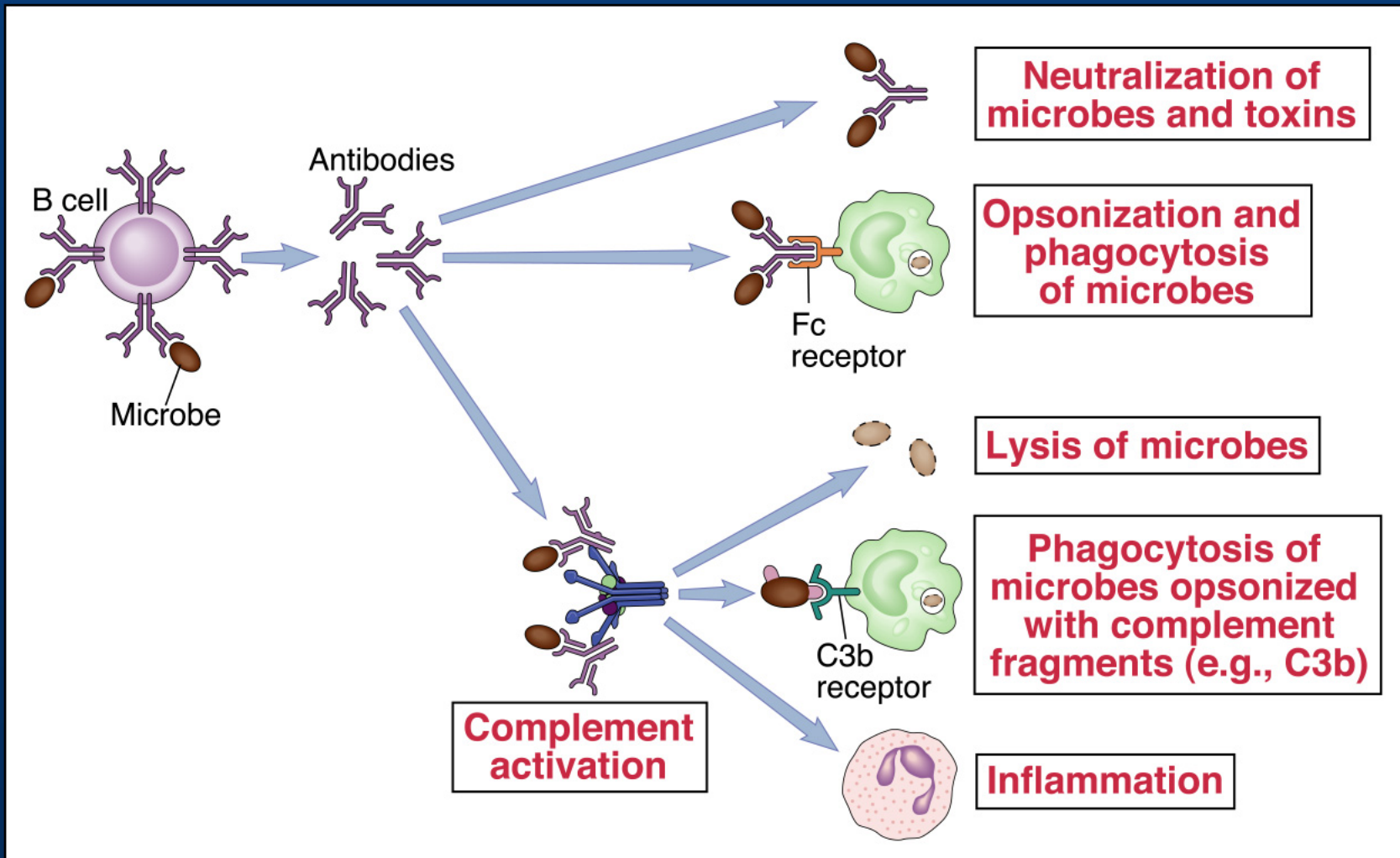


# Effector functions of antibodies



Cellular and Molecular Immunology-Abul K. Abbas 9th Ed. 2018

# Effector functions of antibodies



PAUSA  
CRUCIVERBA!!!!



# ANTICORPI IN TERAPIA E DIAGNOSTICA





# GLI ANTICORPI COME REAGENTI

---

Gli anticorpi o immunoglobuline sono **proteine solubili** capaci di legare macromolecole quali proteine, carboidrati, acidi nucleici e piccole molecole di diversa natura chimica denominate apteni.

Il legame è caratterizzato da:

Altissima specificità: capacità dell'anticorpo di distinguere l'antigene da altre molecole (un anticorpo riesce a distinguere una molecola fra più di  $10^8$  molecole simili)

# GLI ANTICORPI COME REAGENTI

---

Gli anticorpi o immunoglobuline sono **proteine solubili** capaci di legare macromolecole quali proteine, carboidrati, acidi nucleici e piccole molecole di diversa natura chimica.

Il legame è caratterizzato da:

- ✓ Altissima specificità: capacità dell'anticorpo di distinguere l'antigene da altre molecole (un anticorpo riesce a distinguere una molecola fra più di  $10^8$  molecole simili)

# GLI ANTICORPI COME REAGENTI

---

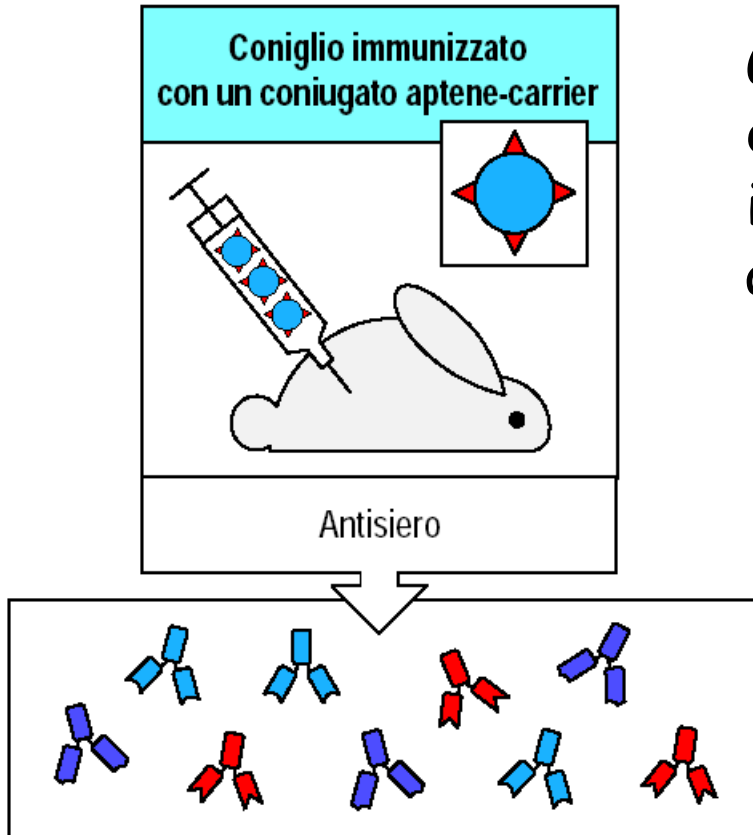
- ✓ Altissima affinità: forza con cui l'anticorpo lega l'antigene (più l'affinità è alta meno molecole di Ab saranno necessarie per riconoscere piccole quantità di Ag ed il legame sarà più stabile).

Queste caratteristiche sono fondamentali nel riconoscimento e nella eliminazione dei patogeni nel corso delle risposte immunitarie specifiche.

Per queste stesse caratteristiche gli anticorpi sono reagenti insostituibili in innumerevoli applicazioni, dalle analisi di laboratorio alla terapia.



# PRODUZIONE DI ANTICORPI



Gli anticorpi possono essere ottenuti dal siero di animali dopo immunizzazione con un determinato antigene (più adiuvante).

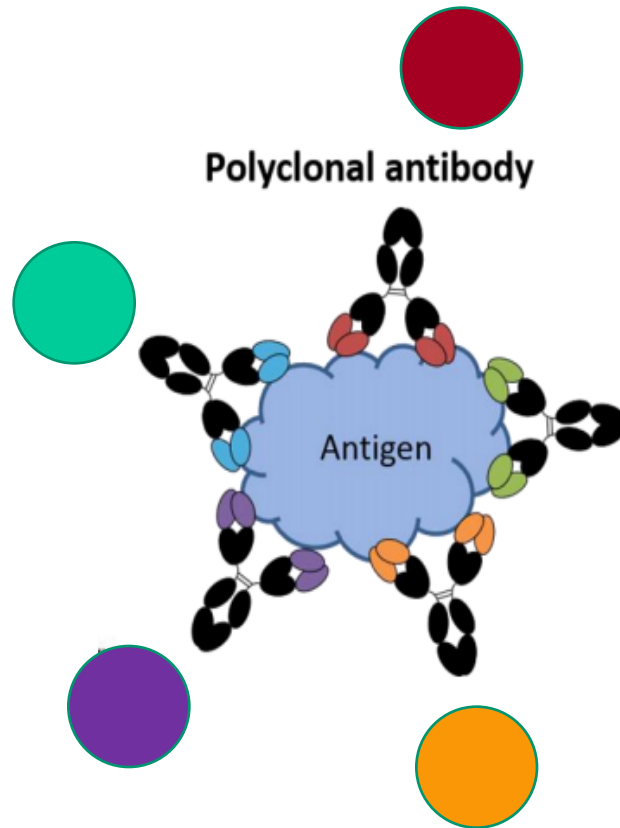
Un singolo antigene darà origine alla produzione di una miscela di anticorpi, ciascuno prodotto da un diverso clone di linfociti B.



Risposta immunitaria **policlonale**

# ANTICORPI POLICLONALI

---



## LIMITI

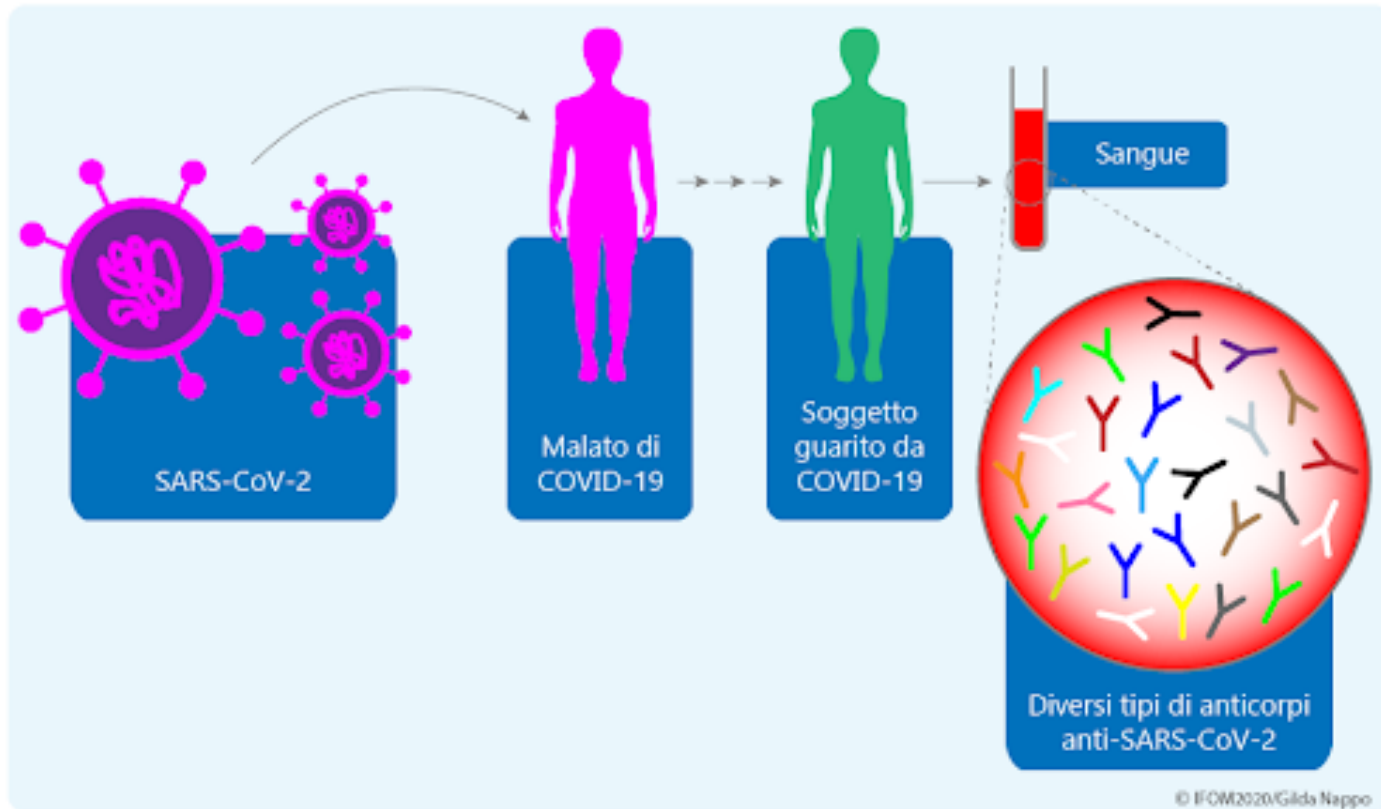
È difficile eliminare dal siero altri tipi di anticorpi, non specifici per l'antigene che ci interessa.

L'affollamento di anticorpi diversi, ha l'inconveniente che a volte il siero riconosce anche sostanze simili, ma diverse, da quella cercata.

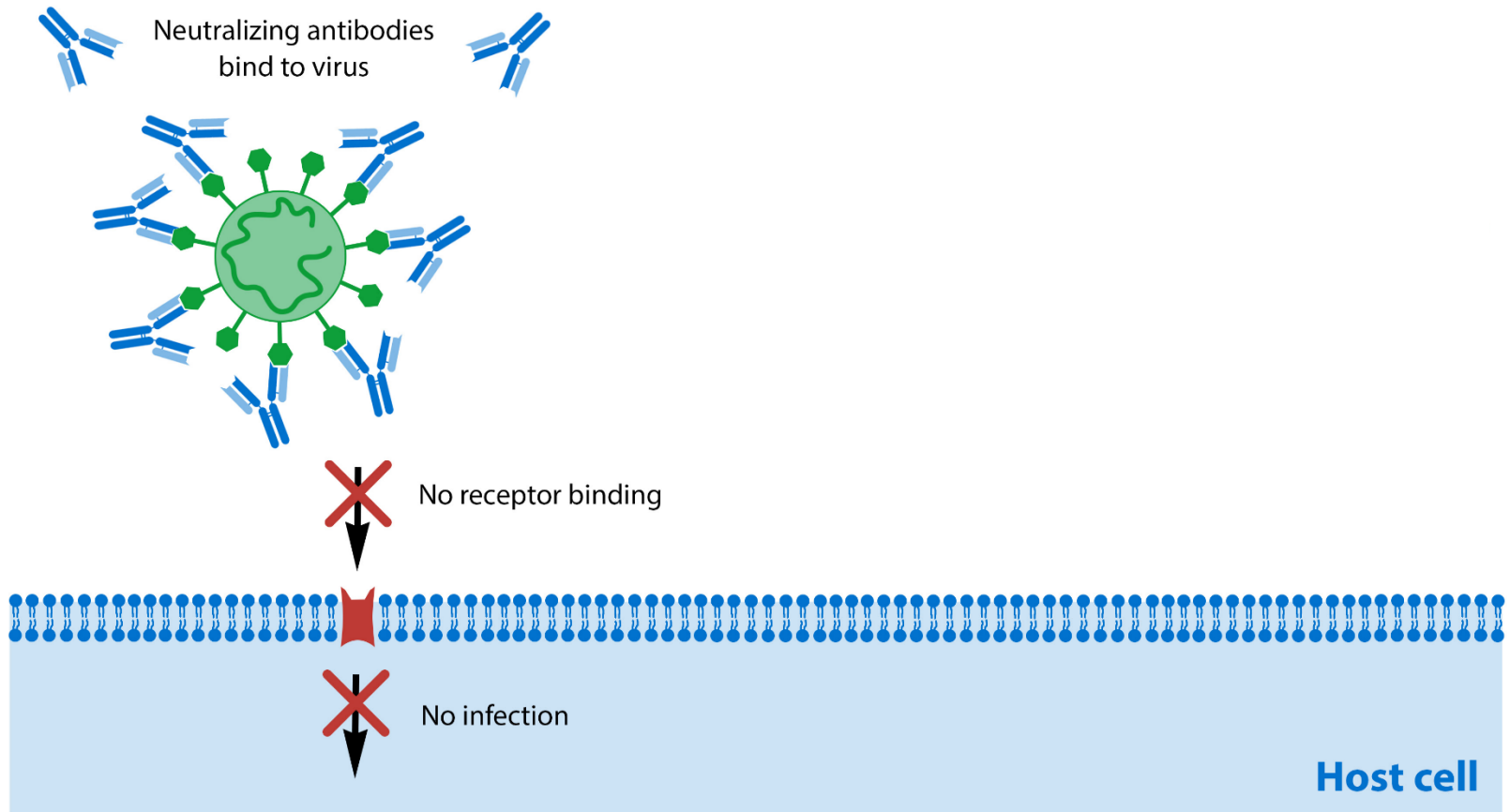
Inoltre la risposta anticorpale non è mai costante.

La quantità di anticorpi prodotti è in genere limitata.

# ANTICORPI POLICLONALI

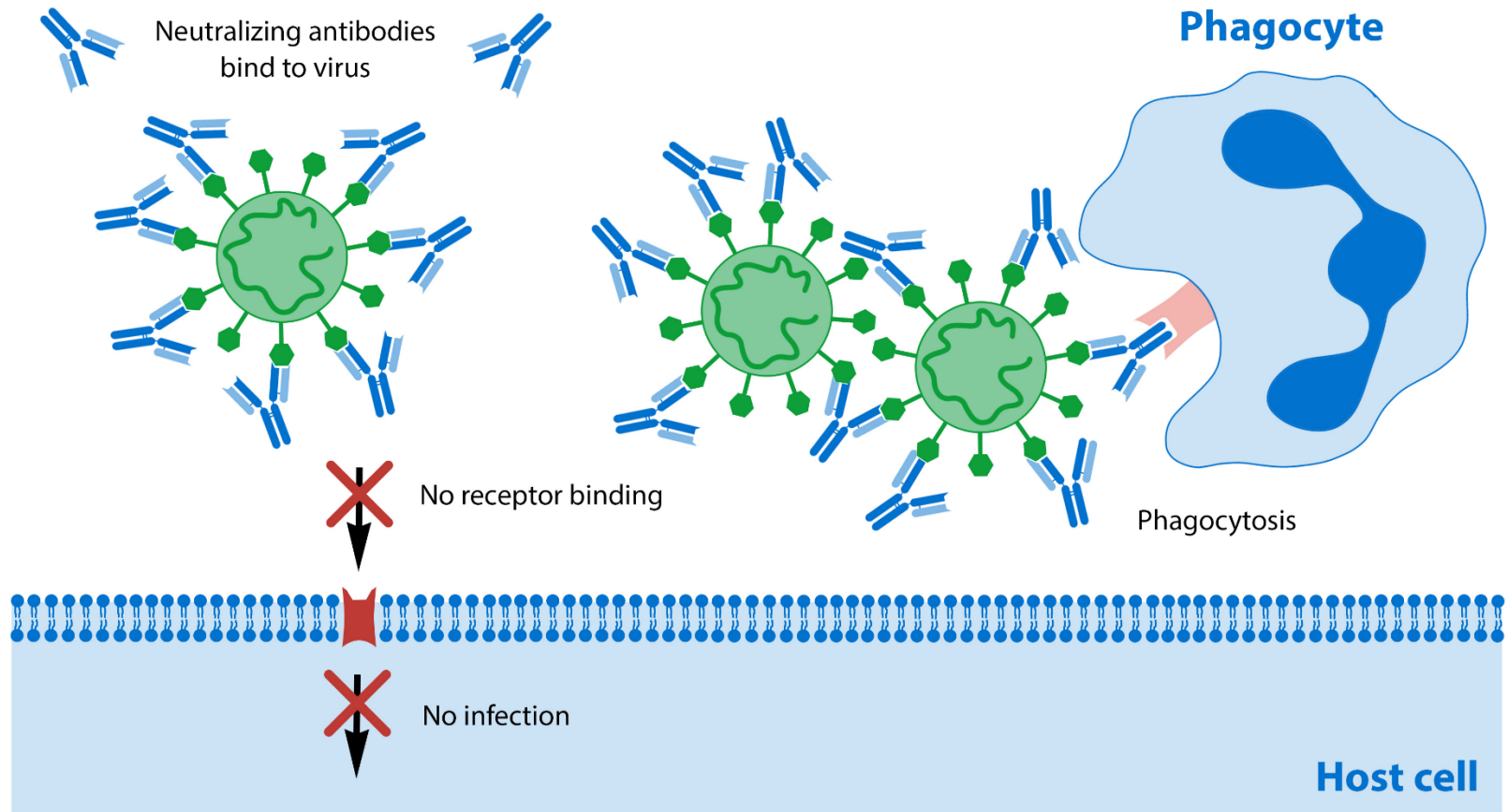


# A COSA SERVONO GLI ANTICORPI?



Source: <https://www.fluidic.com/resources/What-are-neutralizing-antibodies/>

# A COSA SERVONO GLI ANTICORPI?



Source: <https://www.fluidic.com/resources/What-are-neutralizing-antibodies/>

# ANTICORPI MONOCLONALI

---

Nel 1975 è stata inventata una tecnica che permette di produrre in modo illimitato un determinato anticorpo, derivante da un solo clone di linfociti B.

**George Kohler**

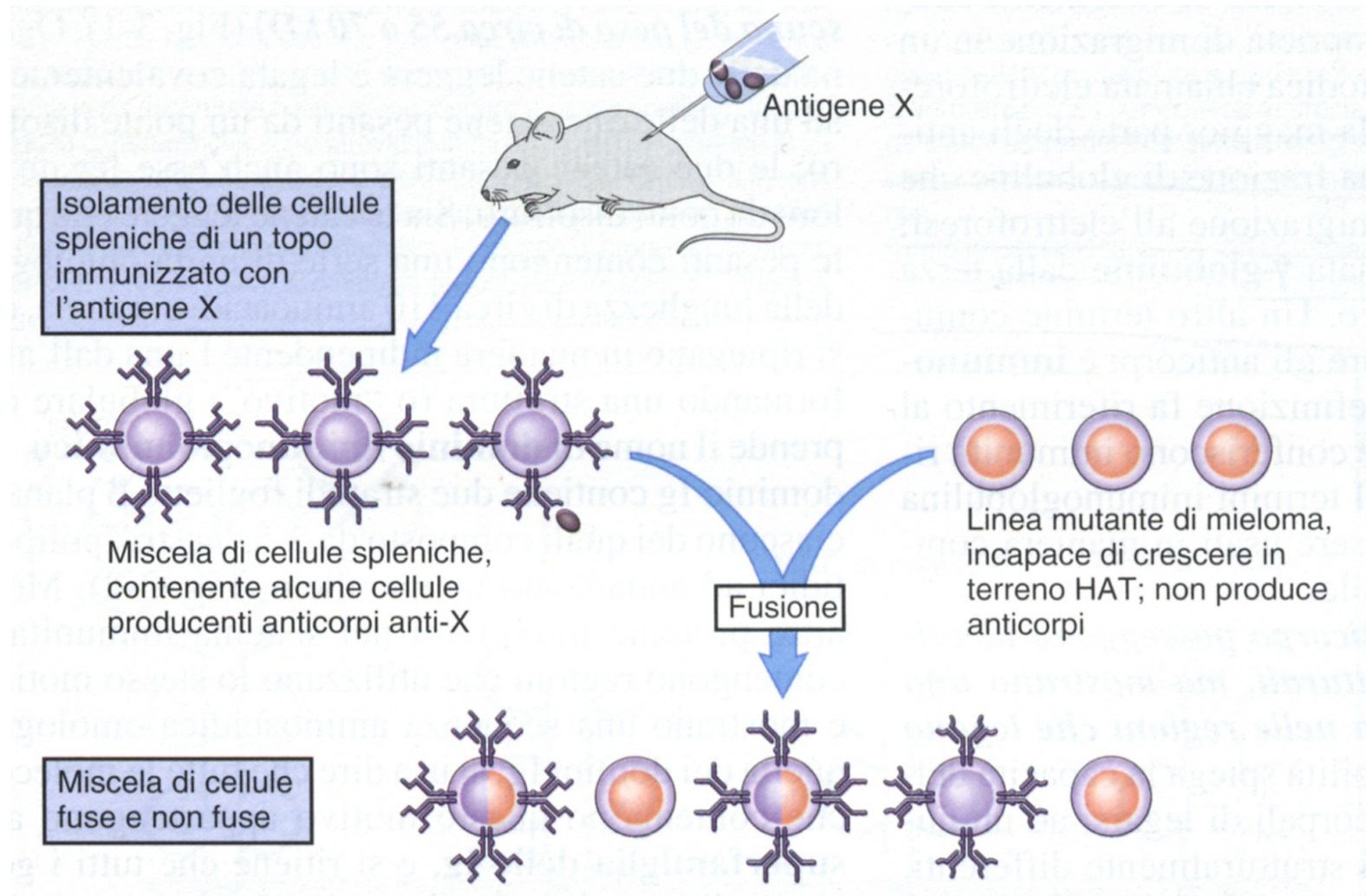
**Cesar Milstein**

Premio Nobel  
per la Medicina  
nel 1984



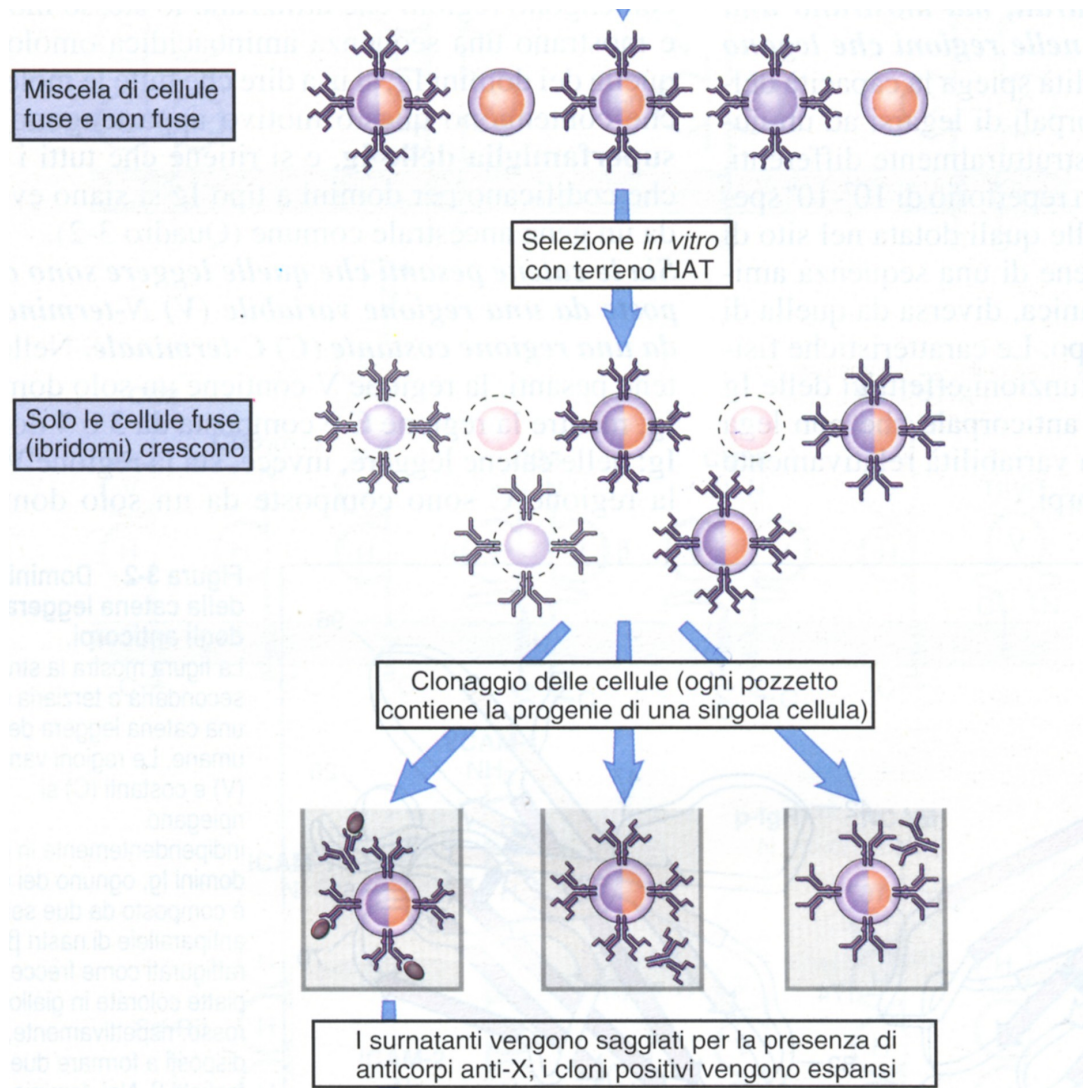


# PRODUZIONE DI ANTICORPI ATTRAVERSO LA TECNOLOGIA DELL'IBRIDOMA-I parte



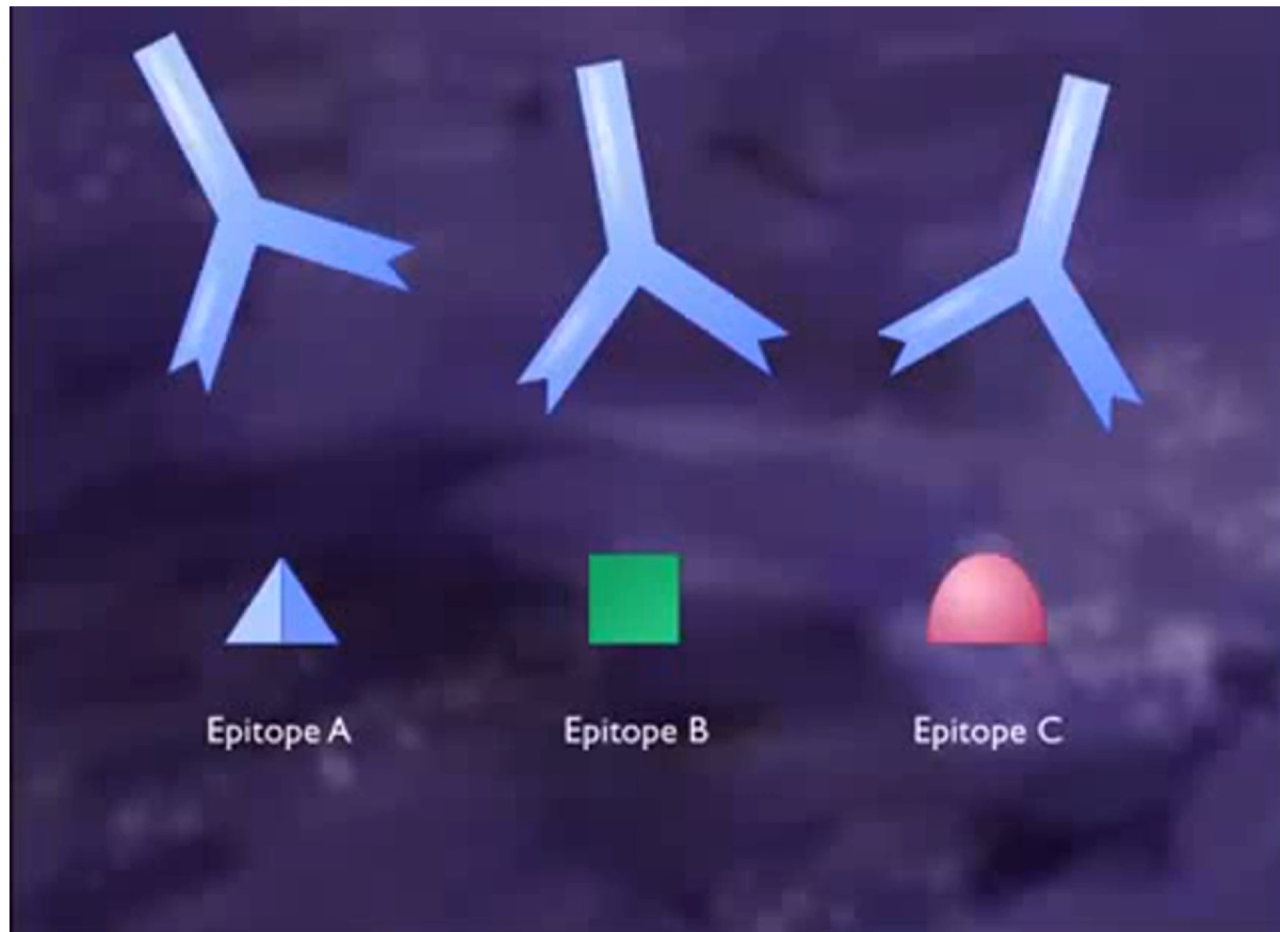


# PRODUZIONE DI ANTICORPI ATTRAVERSO LA TECNOLOGIA DELL'IBRIDOMA (II parte)



# ANTICORPI MONOCLONALI

---



<https://www.youtube.com/watch?v=uuT08OT3wTc>

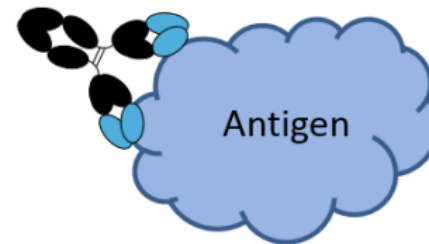
# ANTICORPI MONOCLONALI

---

**Polyclonal antibody**



**Monoclonal antibody**



Principali vantaggi degli anticorpi monoclonali rispetto ai policlonali:

- Produzione illimitata
- Omogeneità
- Produzione in vitro
- Purezza

# ANTICORPI MONOCLONALI IN TERAPIA

---

- Malattie autoimmuni e infiammatorie croniche
- Tumori
- Trapianto di organi
- Malattie cardiovascolari
- Malattie infettive
- Malattie oftalmologiche

alcune DECINE approvati in clinica  
alcune CENTINAIA in clinical trial

# ANTICORPI MONOCLONALI IN DIAGNOSI

---

- misurazione dei livelli di proteine e farmaci nel sangue  
(sieropositività per AIDS, COVID-19.....)
- tipizzazione di tessuti e sangue (trapianti, gruppi sanguigni)
- identificazione e classificazione agenti infettivi
- identificazione e quantificazione di ormoni (hCG per test di gravidanza)
- diagnostica per immagini
- identificazione di antigeni tumorali e autoanticorpi

# ANTICORPI MONOCLONALI IN DIAGNOSI

---

## TEST RAPIDI PER COVID-19

1) ANTIGENICO = ricerca del **virus**

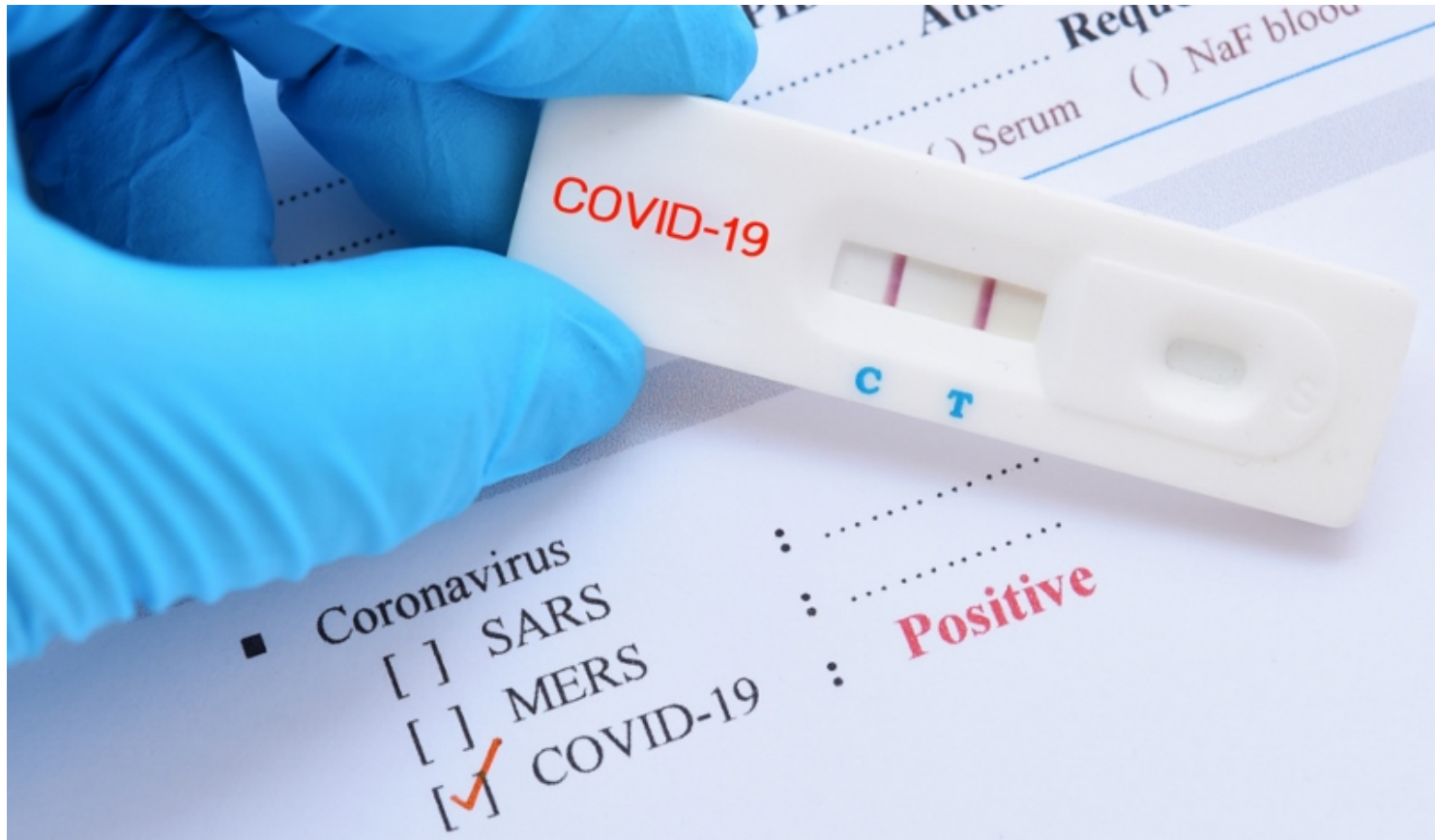
2) SIEROLOGICO = ricerca degli **anticorpi** prodotti dall'organismo in risposta al **virus**





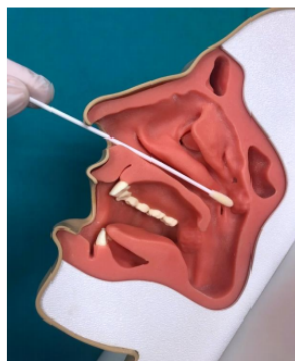
# ANTICORPI MONOCLONALI IN DIAGNOSI

## TEST RAPIDI PER COVID-19

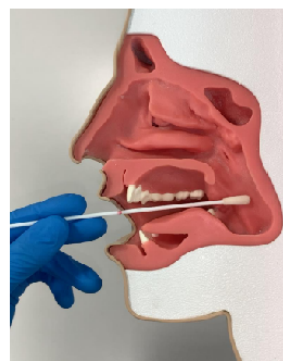




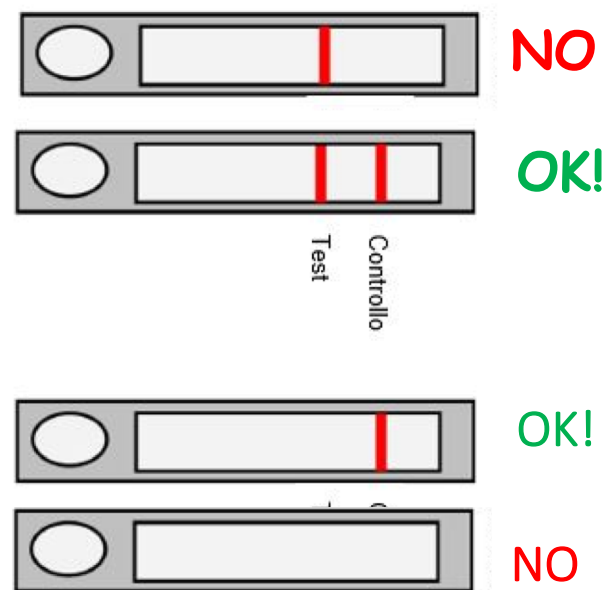
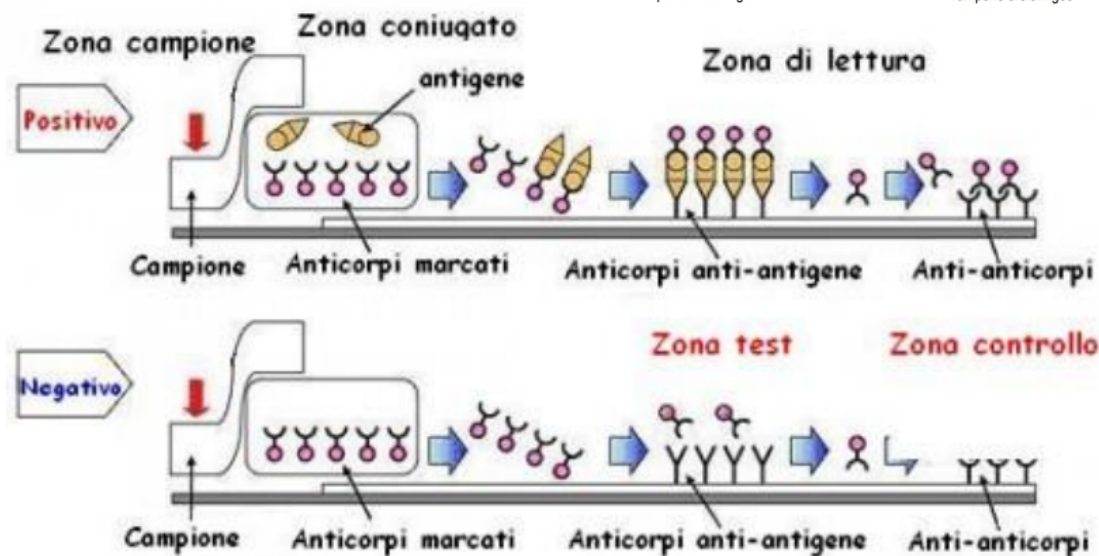
# TEST RAPIDO ANTIGENICO



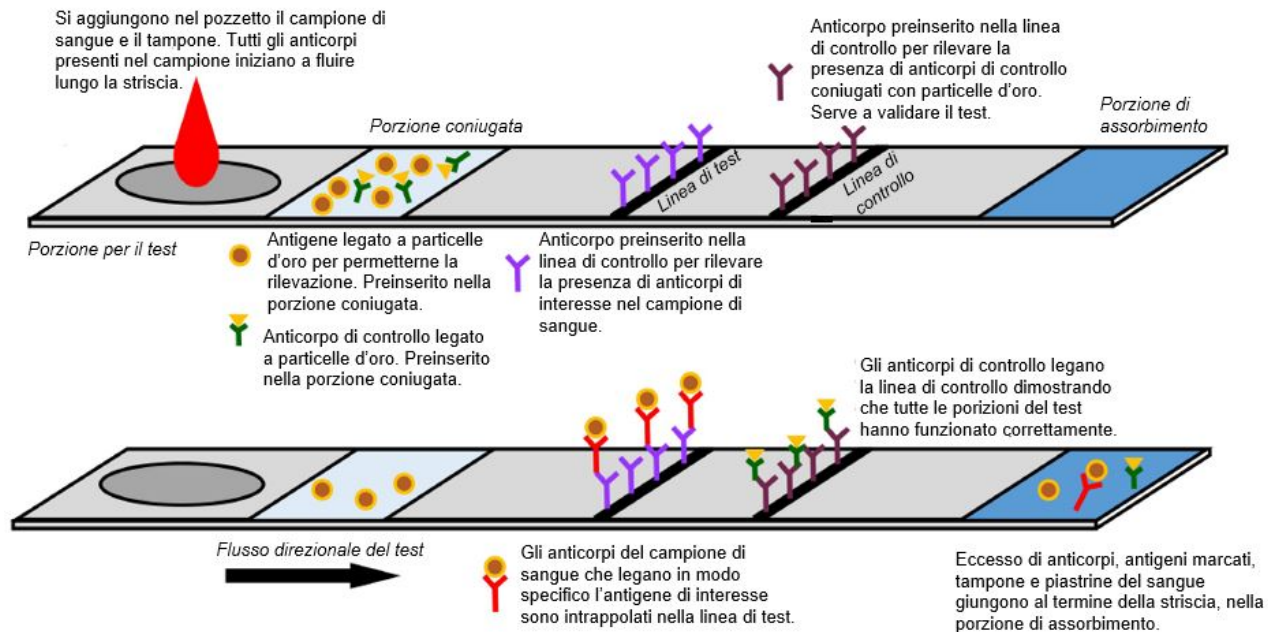
Tampone rinofaringeo



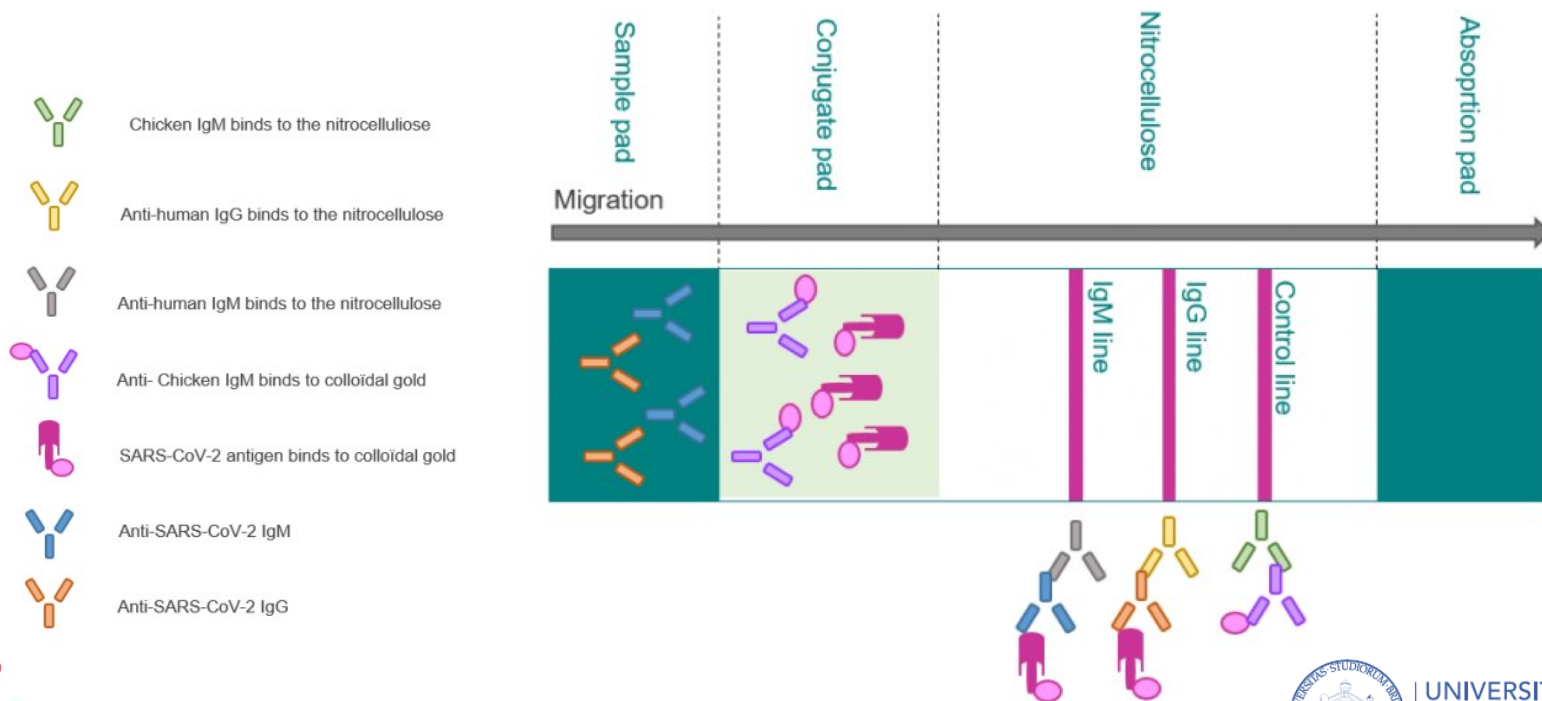
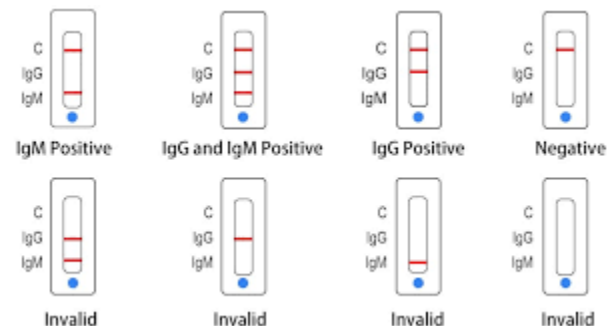
Tampone orofaringeo



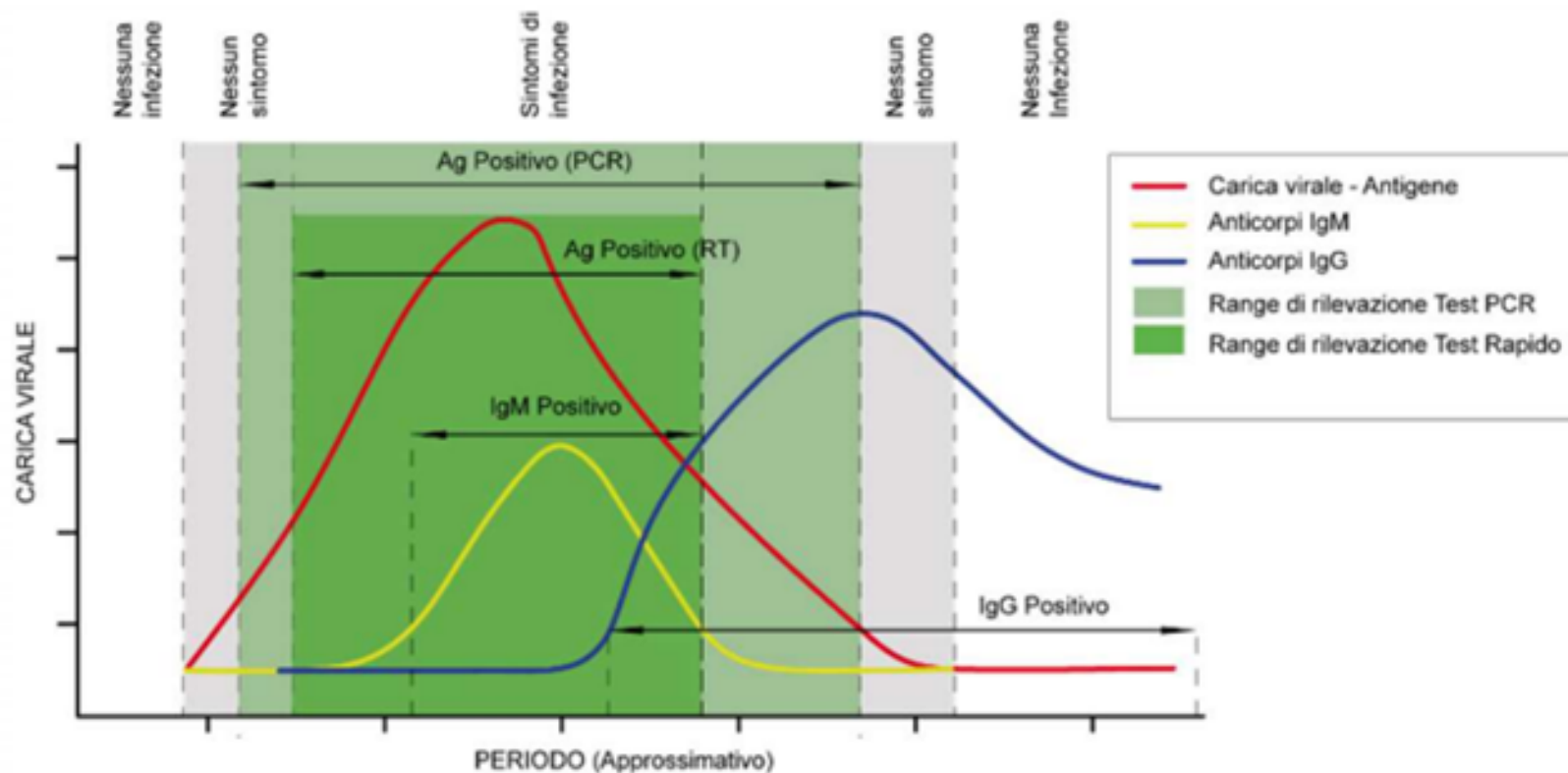
# TEST RAPIDO SIEROLOGICO



# TEST RAPIDO SIEROLOGICO (IgG e IgM)



# ANTIGENICO vs SIEROLOGICO



Confronto dei periodi di rilevazione dell'antigene e degli anticorpi





GRAZIE  
PER L'ATTENZIONE!