

VIROLOGIA GENERALE

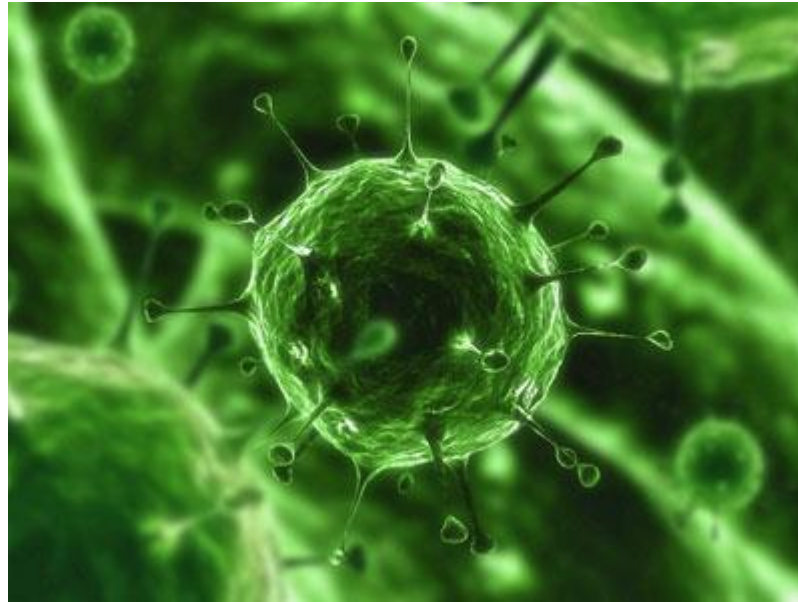
- Classificazione e struttura
- Replicazione virale
- Patogenesi virale
- Diagnosi delle infezioni virali
- Farmaci antivirali

Virologia

disciplina che studia i virus, gli unici organismi che non possono riprodursi da soli
ma solo grazie all'intermediazione di cellule

Virus = veleno

“agenti filtrabili”



1500 AC: **prime evidenze della presenza di virus**

deformità della gamba:
poliomielite



Poliovirus

segni sul viso:
vaiolo



Faraone Ramses V morto di vaiolo (poxvirus) ne 1157 A.C.

**Primo virus identificato: foot and mouth disease
(picornavirus), 1898**

Afta-epizotica

MOSAICO DEL TABACCO

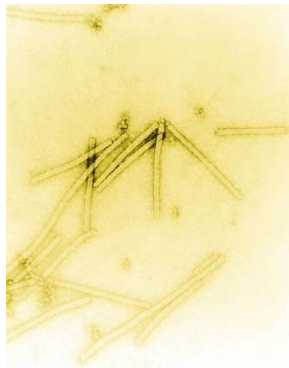
Patologia che colpisce molte specie vegetali (barbabietola da zucchero, cetriolo, mais, patata, pomodoro, pisello, tabacco).

Si manifesta con la formazione di macchie di colore giallo o verde sulle foglie della pianta, causate dalla distruzione dei cloroplasti e l'alterazione dell'attività degli enzimi della fotosintesi



1982: Dmitrij Iosifovic Ivanovskij

"virus filtrabili" in quanto passavano attraverso filtri che trattenevano i batteri, filtri in ceramica a porosità micrometrica, ma a differenza delle semplici tossine, potevano essere trattenuti da ultrafiltri



1898: Martinus Willem Beijerinck

Usando esperimenti di filtrazione su foglie di tabacco infette, riuscì a dimostrare che il mosaico del tabacco è causato da un agente infettivo di dimensioni inferiori a quelle di un batterio.



DIFFERENZE BATTERI-VIRUS

	BATTERI	BATTERI ATIPICI (intracellulari)	VIRUS
	Batteri tipici	Rickettsiae/Chlamidiae	
Parassiti endocellulari	-	+	+
Membrana citoplasmatica	+	+	-
Scissione binaria	+	+	-
Filtrabile attraverso filtri x batteri	-	-/+	+
DNA+RNA	+	+	-
Metabolismo che genera ATP	+	+/-	-
Ribosomi	+	+	-
Sensibili agli ATB	+	+	-
Sensibili all'interferone	-	-	+

Cosa sono i Virus?

Non sono né eucarioti né procarioti

Sono microrganismi **acellulari** in grado di passare attraverso filtri che trattengono i batteri

Sono totalmente dipendenti da una cellula vivente per la loro replicazione: **Parassiti endocellulari obbligati**

Alcuni codificano propri enzimi ma non sono capaci di riprodurre da soli le informazioni contenute nei loro genomi.

Non hanno sistemi per la produzione di energia, e devono usare l'energia della cellula parassitata.

Caratteristiche dei virus

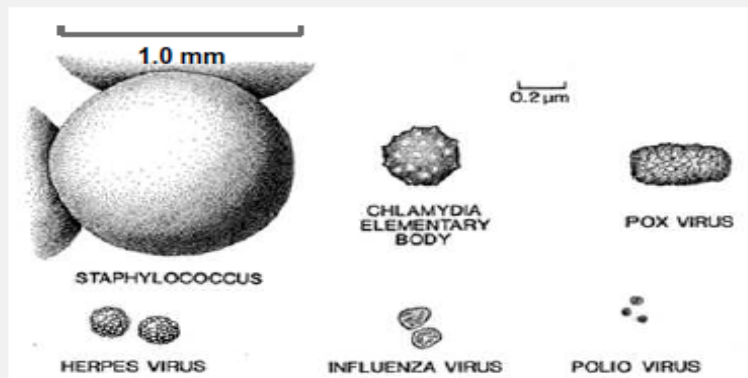
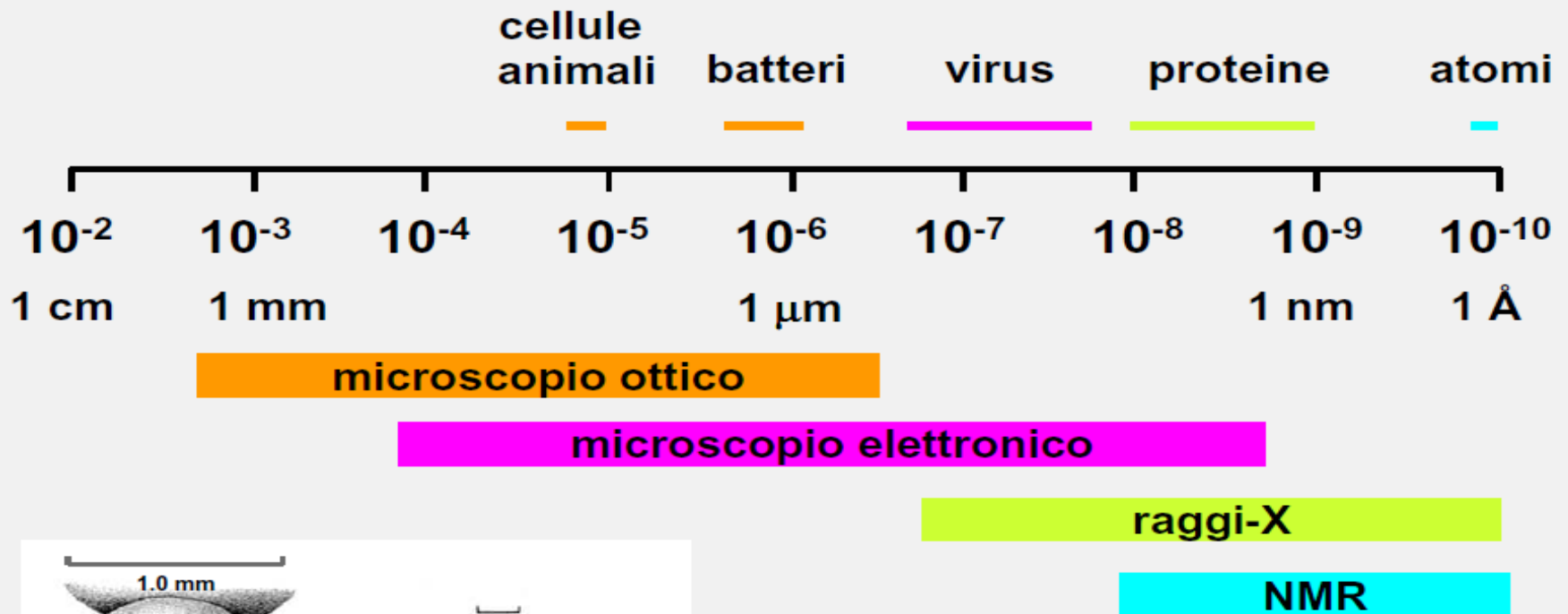
- **Parassiti endocellulari obbligati**
- **Organismi submicroscopici: dimensioni 20-300 nm**
- **Non hanno l'informazione genetica per produrre energia e per la sintesi proteica**
- **Non crescono e non si dividono - si assemblano da componenti preformate**
- **Sono metabolicamente inerti (fuori dalle cellule)**

I virus sono “vivi”? Dipende dalla definizione di vita

I virus: sono metabolicamente inerti, non respirano, non si muovono, non crescono, non reagiscono all'ambiente

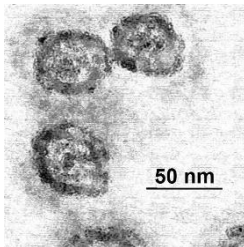
MA: si riproducono, possono adattarsi all'ospite, all'interno delle cellule sono metabolicamente attivi.

Dimensioni dei Virus



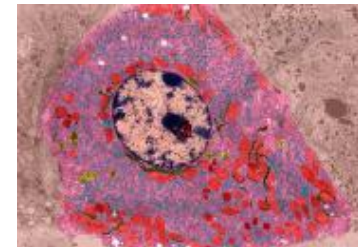
**LE DIMENSIONI VARIANO
da 20-30nm a 300nm
(1nm è uguale a 10^{-6} mm
= un milionesimo di mm)**

MICROSCOPIO



Virus HCV dell'Epatite C

Microscopio elettronico:
particelle virali



Microscopio ottico:
cellule infette

STRUTTURA E CLASSIFICAZIONE

I VIRUS SONO ORGANISMI SUB-CELLULARI
ESSENZIALMENTE COSTITUITI DA:

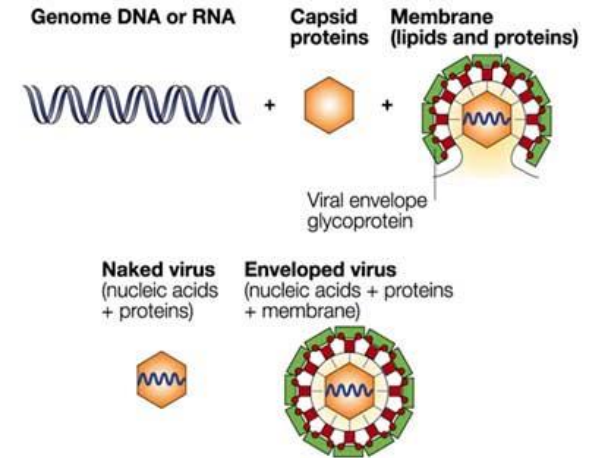
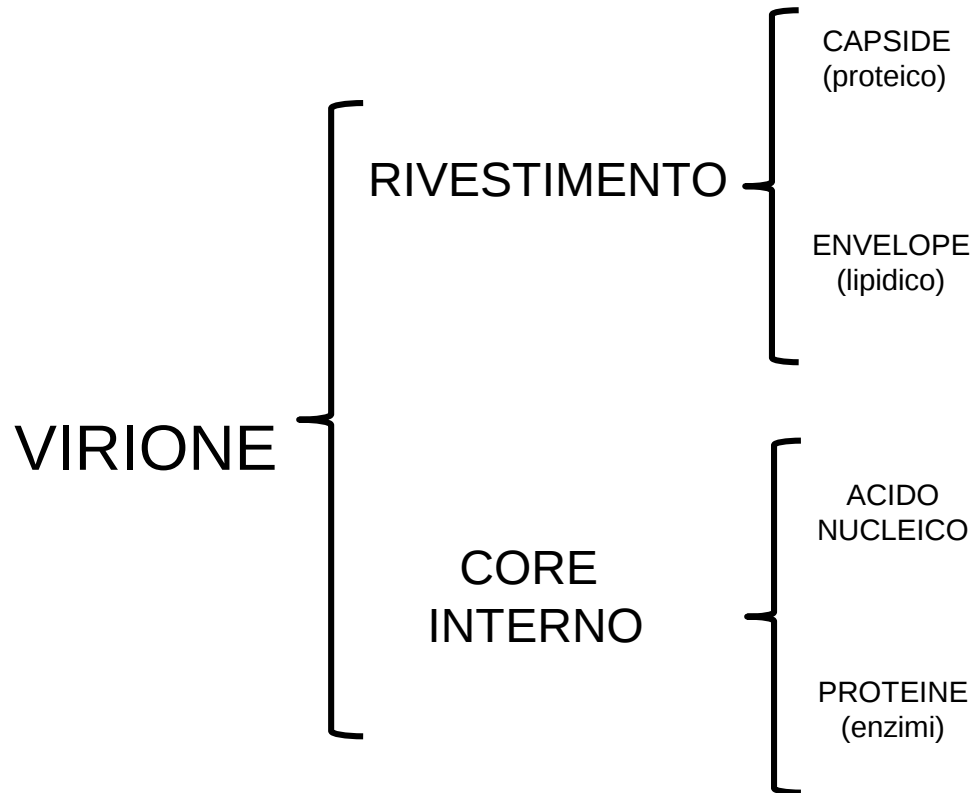
- ACIDO NUCLEICO
- INVOLUCRO PROTEICO (CAPSIDE)

ALCUNI HANNO UN RIVESTIMENTO ESTERNO
CHIAMATO

- *ENVELOPE* o *MANTELLLO* o *PEPLOS* o *PERICAPSIDE*

Le particelle virali o “virioni” presentano in superficie
antirecettori che riconoscono i recettori sulle cellule
bersaglio

STRUTTURA



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Composizione chimica

- ✓ **Proteine**: maggiore componente (fino a oltre il 90%), strutturali e enzimatiche
- ✓ **Acido nucleico**: DNA O RNA (1-15% in peso)
- ✓ Virus con involuppo: **lipidi** (10-30%) e **carboidrati** (glicoproteine)

Qualche definizione:

Virione: particella virale completa

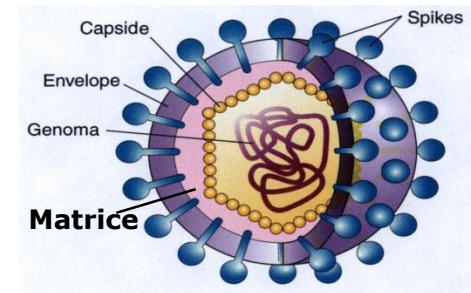
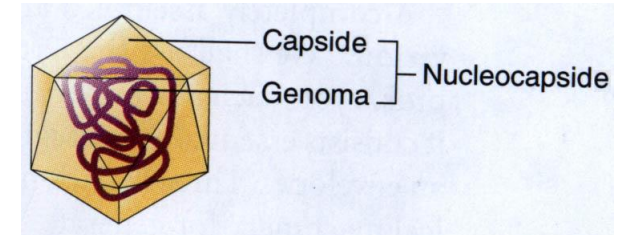
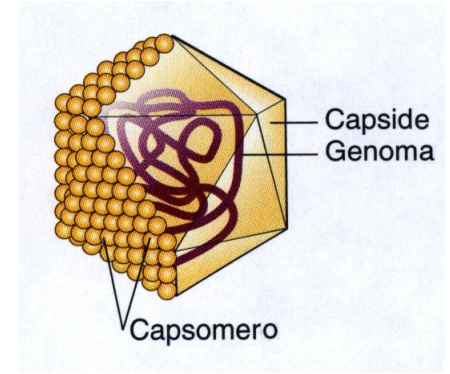
Core: acido nucleico + proteine associate

Capside: rivestimento proteico del genoma, lo protegge dall'ambiente esterno

Nucleocapside: capsid + acido nucleico (e proteine associate)

Envelope: rivestimento lipidico e glicoproteico (o pericapsid) che circonda il capsid

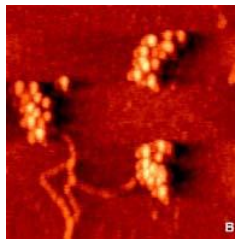
Matrice o tegumento: zona fra capsid ed envelope



N.B. L'envelope deriva dalla cellula, le proteine del capsid e le glicoproteine inserite nell'envelope sono di origine virale.

ACIDO NUCLEICO

- Impacchettato nel CAPSIDE
- RNA o DNA
- A singola o doppia elica
- Non segmentato o segmentato
- Lineare o circolare
- Associato a ioni⁺ o a proteine basiche (virali o cellulari) per neutralizzare i gruppi fosfato⁻

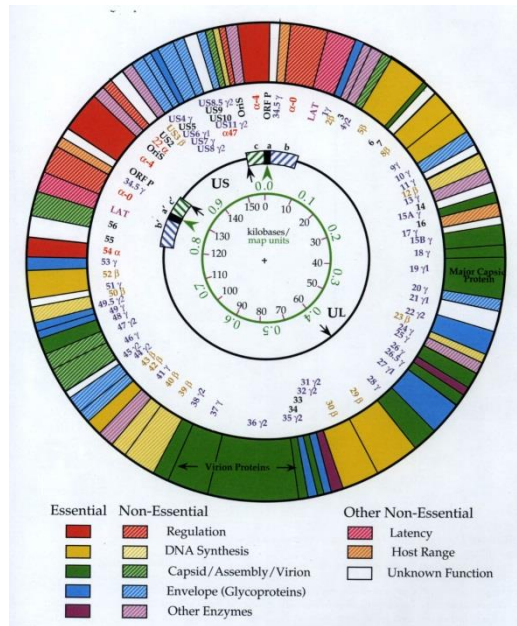


Fotografia al microscopio elettronico di proteine legate ad una molecola di DNA

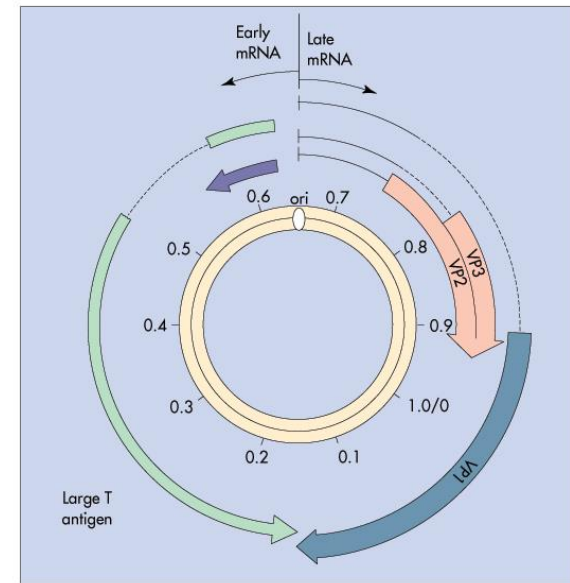
Acido Nucleico

Capacità codificante estremamente varia: poche (3-4) o molte (>100) proteine

Potenziale di informazione compresso: geni sovrapposti, splicing multipli



Genoma del virus dell'herpes simplex (150.000 paia di basi), codifica circa 100 geni



Mosby, Inc. items and derived items copyright © 2002 by Mosby, Inc.

Genoma del virus SV40 (5.000 paia di basi), codifica 5 geni

DNA: deossiribovirus

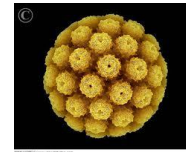
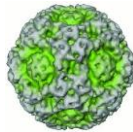
15% peso del virione

Dimensioni 5-300 kilobasi

Solitamente bcatenario lineare

Papovavirus: bcatenario circolare

Parvovirus: singola elica



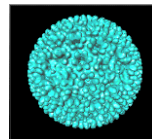
RNA: ribovirus

1-30% peso del virione

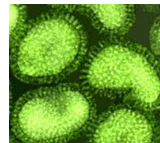
Dimensioni: 7-30 kilobasi

Monocatenario lineare

Reovirus: bcatenario

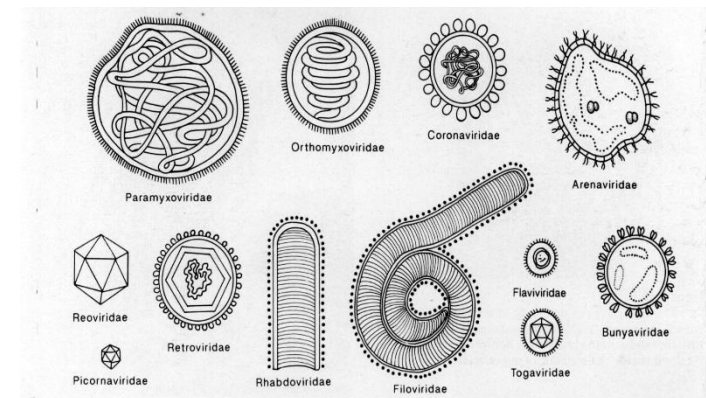
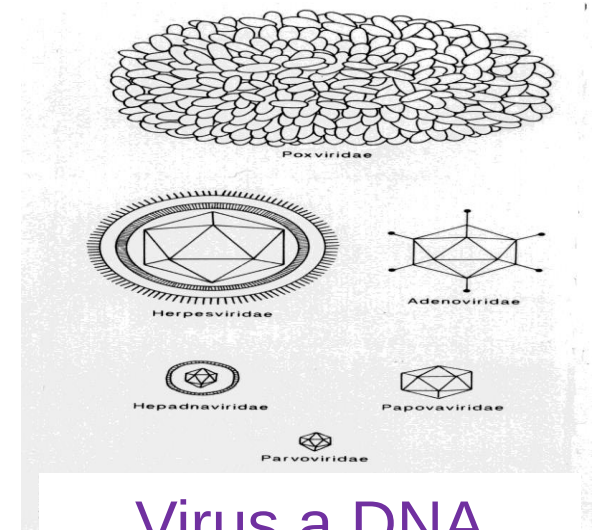


Ortomixovirus: frammentato



Polarità positiva (+) RNA = può funzionare da RNA messaggero

Polarità negativa (-) RNA = serve da stampo per mRNA



PROTEINE VIRALI

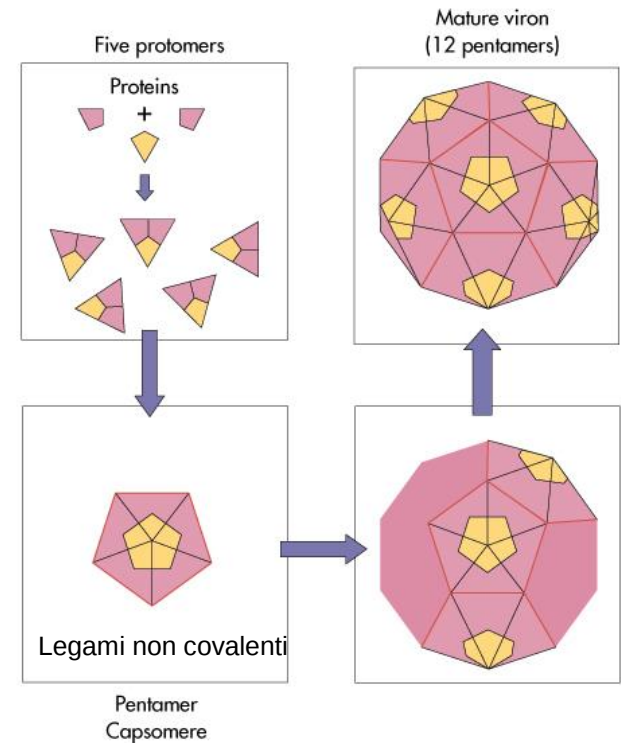
Si distinguono:

- **Proteine funzionali** che permettono ad es. all'acido nucleico virale di replicarsi (DNA- o RNA-polimerasi)
- **Proteine strutturali**: incorporate nelle nuove particelle virali come **costituenti del capsido** o come strutture particolari (es. le emoagglutinine) presenti nell'envelope
- **Proteine che alterano alcune funzioni e strutture della cellula ospite**
- **Proteine strettamente associate agli acidi nucleici**
- **Proteina di matrice** o proteina M

CAPSIDE (rivestimento proteico)

Funzione: protezione, riconoscimento recettori, consente penetrazione

Struttura: rigida e resistente. Formata dalla ripetizione di poche specie differenti di subunità proteiche (**capsomeri**) disposte **simmetricamente** (simmetria icosaedrica, elicoidale, binaria, complessa)

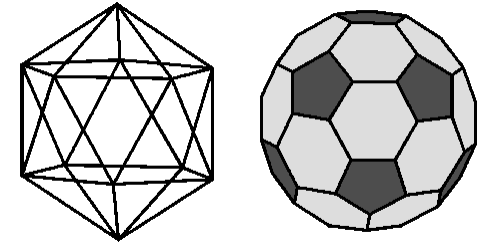


Mosby, Inc. items and derived items copyright © 2002 by Mosby, Inc.

Simmetria CUBICA o ICOSAEDRICA

ICOSAEDRO: figura solida con

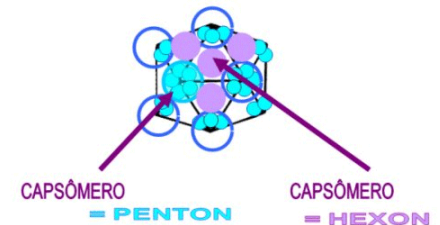
- 20 facce identiche (triangoli equilateri)
- 12 vertici
- 30 spigoli



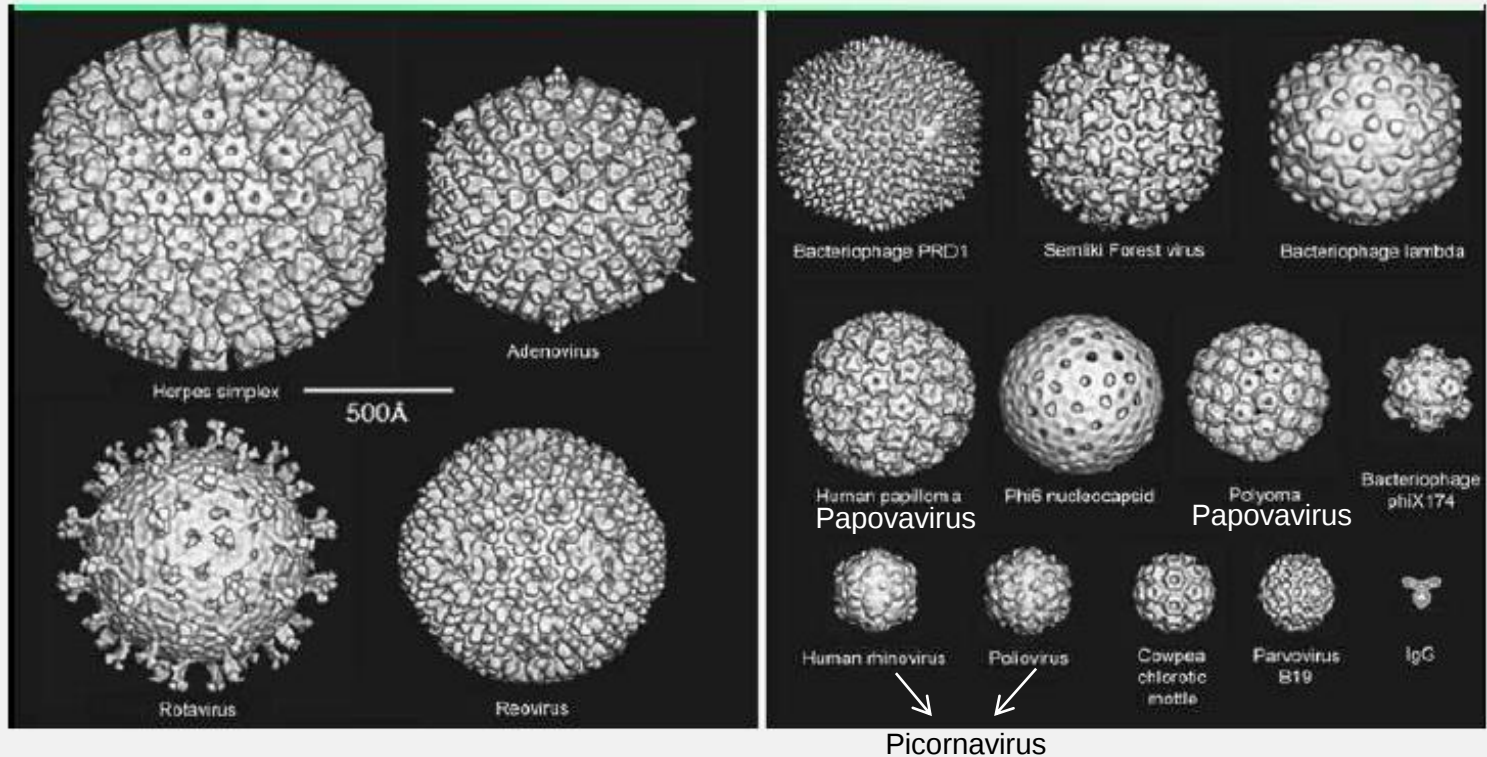
Le unità polipeptidiche si dispongono sulla superficie di un icosaedro ideale, assumendo una disposizione tale per cui si riuniscono in gruppi, ognuno dei quali forma un capsomero.

Pentoni: 5 protomeri ai vertici

Esoni: 6 protomeri sulle facce



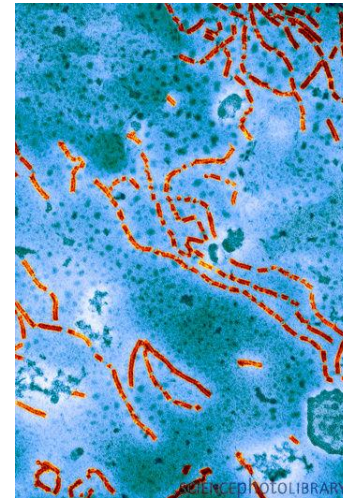
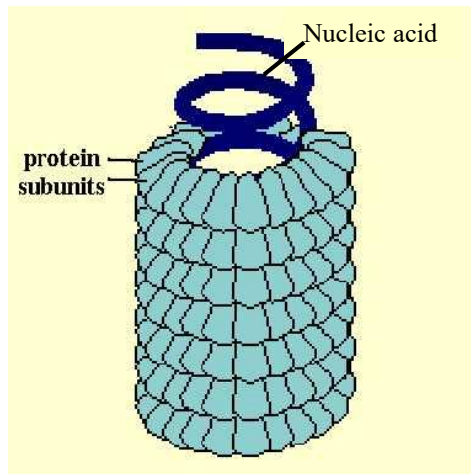
VIRUS ICOSAEDRICI



Adenovirus, herpesvirus, rotavirus, picornavirus, reovirus, papovavirus, parvovirus.

Simmetria ELICOIDALE

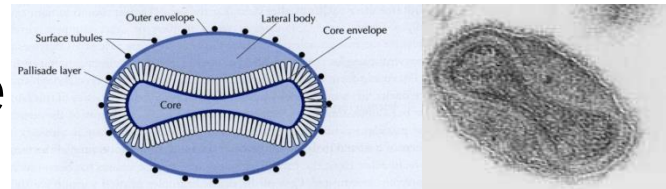
I protomeri si dispongono a spirale
Capside cilindrico con all'interno l'acido nucleico



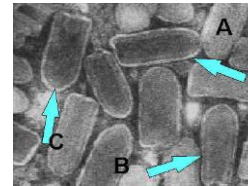
Paramyxovirus umano tipo 1

Simmetria COMPLESSA

Poxvirus: forma a mattone

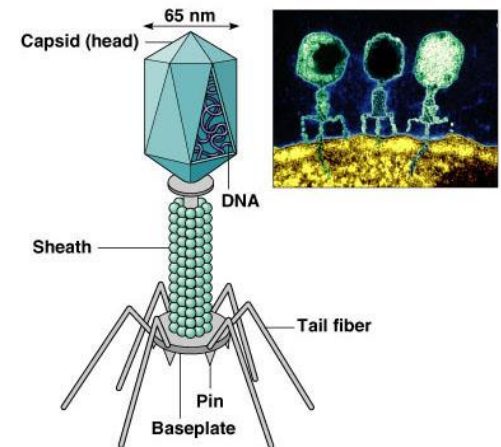


Rhabdovirus: forma a proiettile

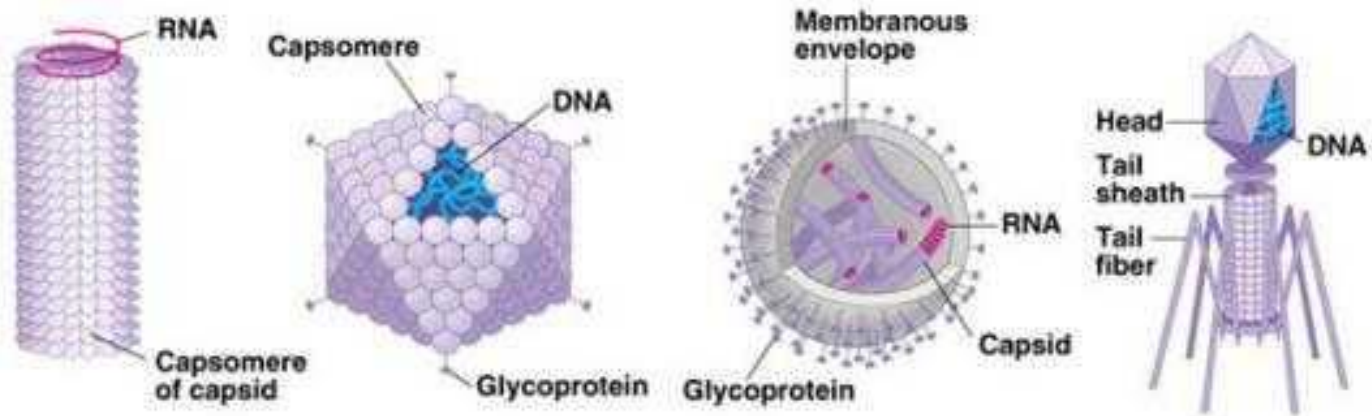


Simmetria BINARIA

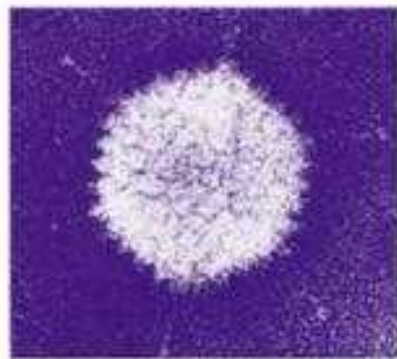
Batteriofagi: virus dei batteri



(a) A T-even bacteriophage



(a) Tobacco mosaic virus



(b) Adenoviruses



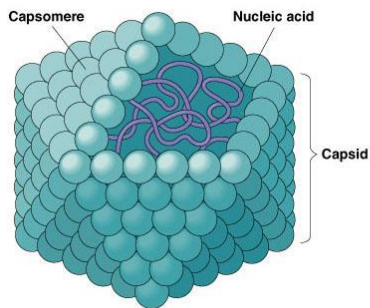
(c) Influenza viruses



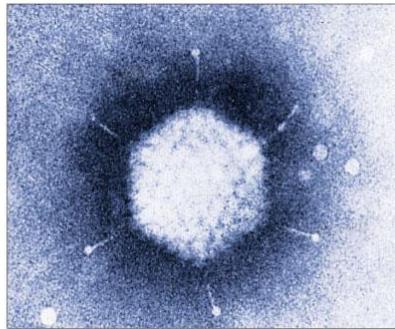
(d) Bacteriophage T4

A seconda del virus, il capsid può essere “**nudo**”, o **rivestito da envelope**

Virus a capsid nudo

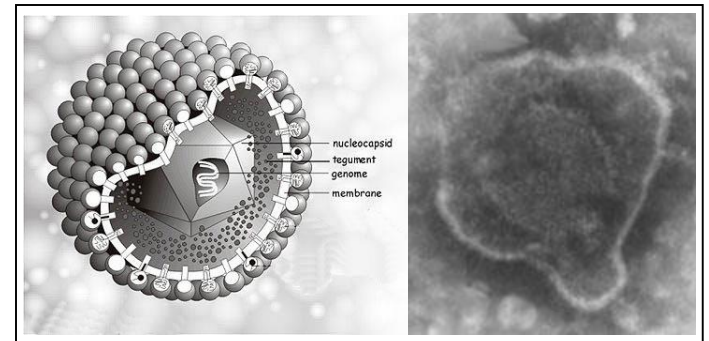


(a) A polyhedral virus



(b) A Mastadenovirus

Virus con envelope



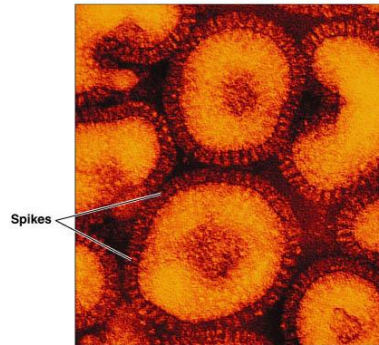
INVILUPPO / ENVELOPE

Membrana che riveste il capside.

Doppio strato lipidico derivante dalle membrane nucleari (herpes) / cellulari (ribovirus) modificate durante l'infezione con l'inserimento di glicoproteine virali.

Le glicoproteine dell'inviluppo sono ancorate alla membrana e proiettate all'esterno ("spike").

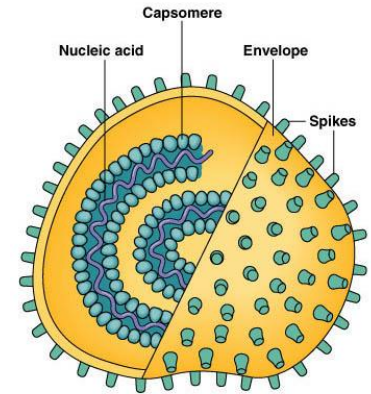
I virus con inviluppo di solito sono meno stabili all'ambiente rispetto a quelli con capside nudo



(b) Influenzavirus

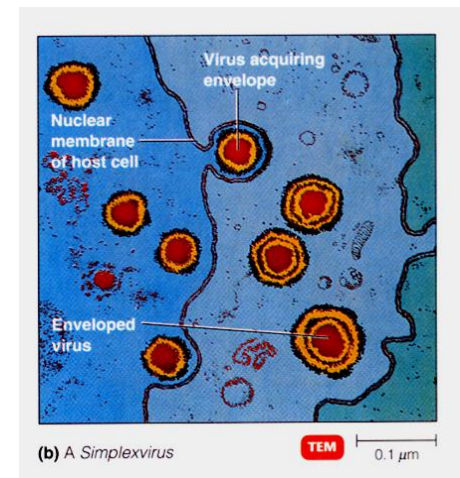
Sono la maggiore sorgente antigenica dei virus con inviluppo, e riconoscono i recettori cellulari.

Viene acquisito nella fase tardiva dell'infezione.



(a) An enveloped helical virus

Presente in tutti i virus elicoidali ed in alcuni icosaedrici (herpes, hepadna, togavirus, retrovirus)



(b) A Simplexvirus

CAPSIDE NUDO

Proprietà

Resistente a:
alte temperature, acidi,
detergenti, essiccamento
E' rilasciato dalla cellula per lisi

Conseguenze:

Facilmente diffuso (su oggetti, da una mano all'altra, con la polvere o piccole gocce d'acqua)

Può essere essiccato e mantenere l'infettività

Può sopportare le diverse condizioni dell'intestino

Può resistere ai detergenti e alle acque di scolo trattate blandamente

CAPSIDE CON ENVELOPE:

Proprietà

Distrutto da: acidi, detergenti, essiccamento, calore
Modifica le membrane cellulari durante la replicazione (fusione)
E' rilasciato per gemmazione, talvolta per lisi cellulare

Conseguenze:

Deve rimanere in ambiente umido
Si diffonde con gocce d'acqua, secrezioni, trapianti d'organi e trasfusioni di sangue
Non sopravvive nel tratto gastro-intestinale

Non uccide necessariamente la cellula per diffondersi

I virus con envelope sono più fragili (in genere...)

Classificazione tassonomica dei virus

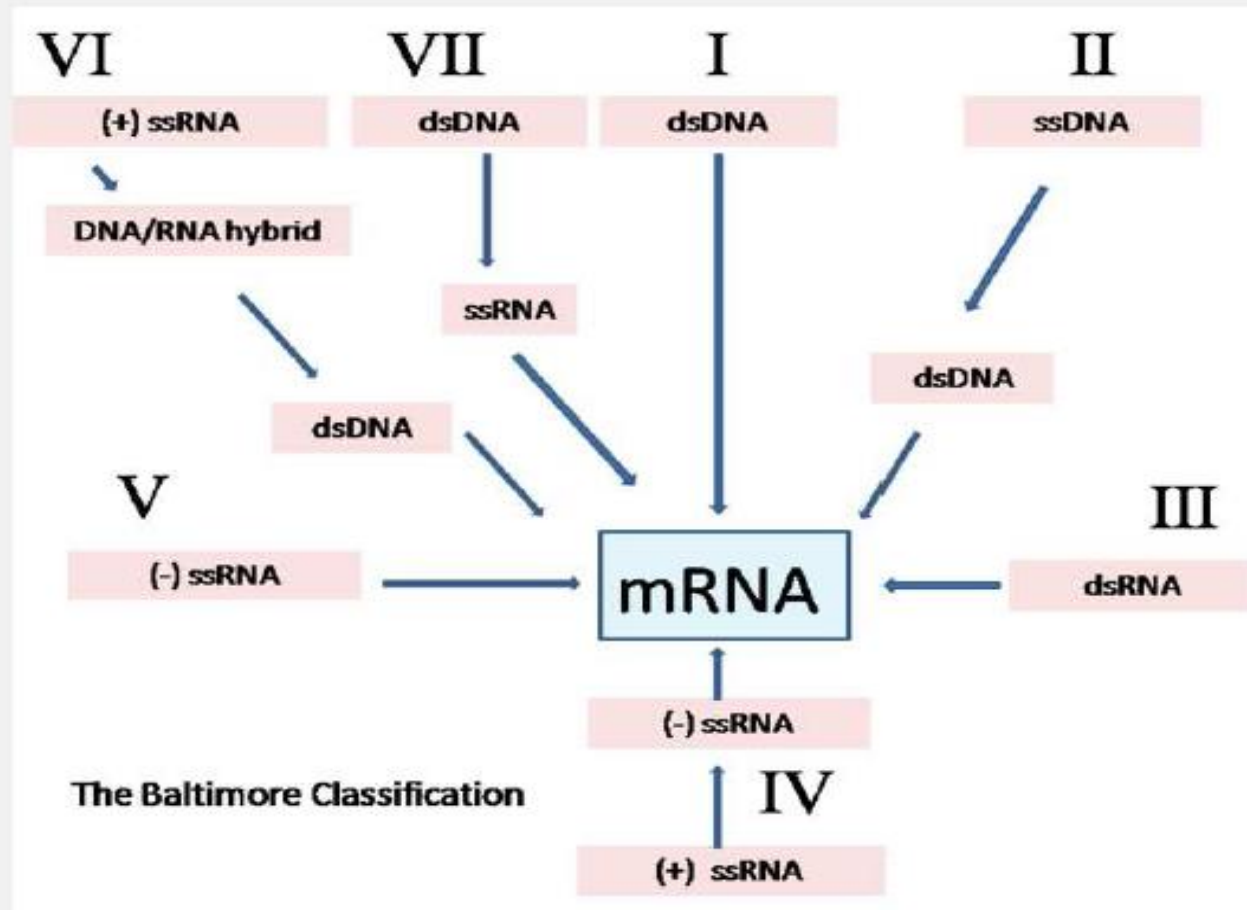
Criteri:

- acido nucleico (DNA o RNA)
- simmetria del capside (icosaedrica, elicoidale, complessa)
- envelope (si o no)
- architettura del genoma (ds o ss, +/-) → classe di Baltimore
- modalità replicative
- polimerasi associata al virione
- diametro virione (nm) e numero dei capsomeri
- dimensioni genoma (kb)

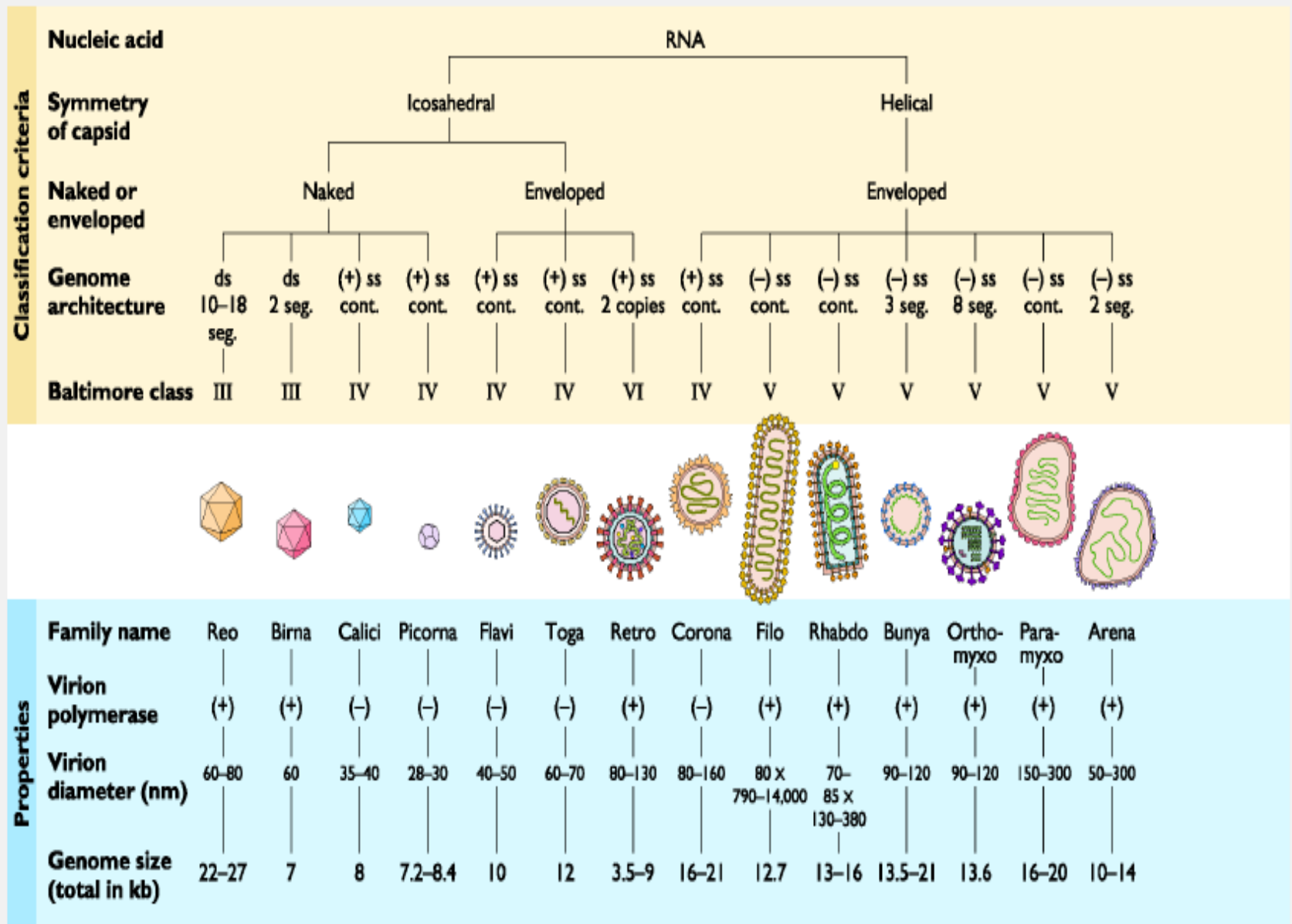


Classificazione tassonomica dei virus

Classificazione di Baltimore in base all'acido nucleico



virus ad RNA



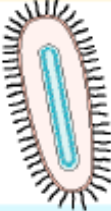
virus a DNA

Classification criteria	Nucleic acid	DNA							
	Symmetry of capsid	Icosahedral			Helical		Complex		
	Naked or enveloped	Naked		Enveloped	Naked/Env. (cytoplasmic)		Enveloped	Enveloped (cytoplasmic)	
	Genome architecture	ss linear (+) or (-)	ds circular	ds linear	ds circle gapped	ds linear	ds circular	ds linear (x linked)	
	Baltimore class	II	I	I	I	I	I	I	










Properties	Family name	Parvo	Papova	Adeno	Hepadna	Herpes	Irido	Baculo	Pox
	Virion polymerase	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	Virion diameter (nm)	18-26	45-55	70-90	42	150-200	125-300	60 X 300	170-200 x 300-450
	Genome size (total in kb)	5	5-8	36-38	3.2	120-200	150-350	100	130-280

Classificazione tassonomica dei virus

International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)

- Ordine (- *virales*)
- Famiglia (- *viridae*)
- Sottofamiglia (-*virinae*)
- Genere (- *virus*)
- Specie (*common names*)

per esempio:

herpes*viridae*

betaherpes*virinae*

cytomegalov*virus*

Denominazione dei virus

➔ STRUTTURA

DIMENSIONI, MORFOLOGIA E TIPO DI ACIDO NUCLEICO
ad es.: PICORNAVIRUS = PICCOLI VIRUS AD RNA
TOGAVIRUS = VIRUS CON MANTELLO

➔ CARATTERISTICHE BIOCHIMICHE

STRUTTURA E TIPO DI REPLICAZIONE (SISTEMA CORRENTE PER LA CLASSIFICAZIONE TASSONOMICA DEI VIRUS)

➔ MALATTIE

ad es.: VIRUS DELLE ENCEFALITI, VIRUS DELLE EPATITI

➔ TIPO DI TRASMISSIONE

ad es.: ARBOVIRUS VIRUS = ARTHROPOD-BORNE VIRUS

➔ CELLULA OSPITE (SPETTRO D'OSPITE)

ANIMALI (uomo, topo, uccelli), PIANTE, BATTERI)

➔ TESSUTO OD ORGANO (TROPISMO)

ad es.: ADENOVIRUS, ENTEROVIRUS

REPLICAZIONE VIRALE

Qualche definizione

Spettro d'ospite = animale o cellula che può essere infettata da quel virus

Cellula suscettibile = che viene infettata (quindi ha i recettori per il virus)

Cellula permissiva = che viene infettata e consente la trascrizione del genoma e la sintesi di tutte le proteine virali

Infezione produttiva= viene prodotta una progenie virale infettante; avviene in cellule permissive.

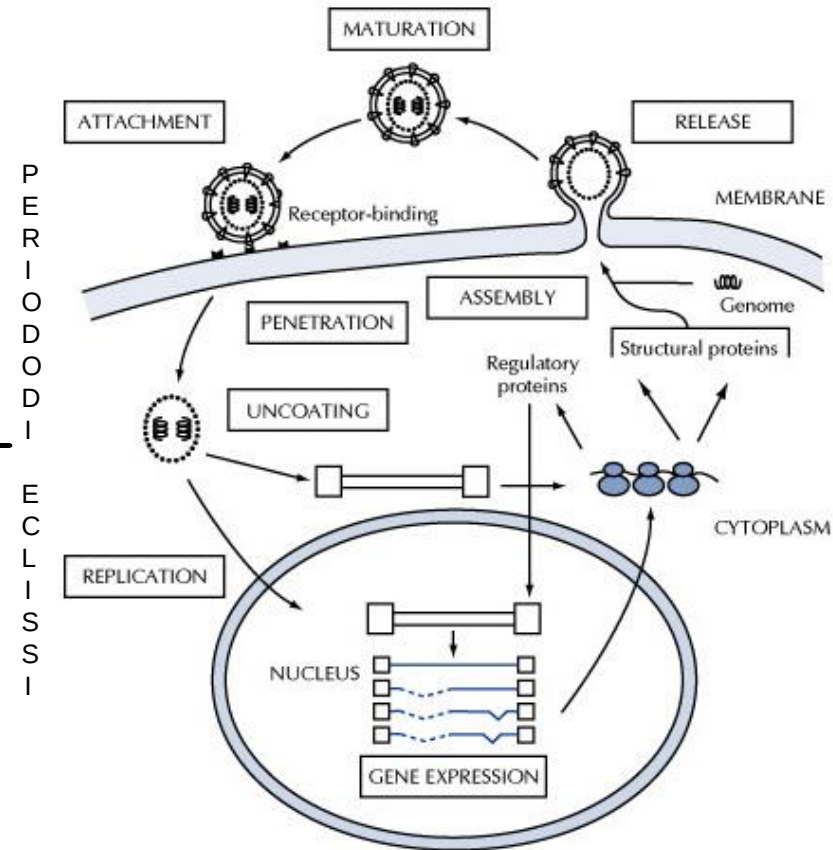
Infezione abortiva = vengono espressi solo alcuni geni virali, 1) perché il virus è difettivo (= non contiene tutta l'informazione genetica necessaria), o 2) perché la cellula non è permissiva. Non viene prodotto nuovo virus

Una cellula infettata produttivamente può produrre fino a 100.000 particelle virali (poliovirus)

Il virus contiene solo parte dell'informazione genetica necessaria per la sua moltiplicazione. Infatti il suo genoma codifica solo le proteine strutturali (che compongono il rivestimento virale) ed alcuni enzimi necessari per la replicazione dell'acido nucleico. Tutte le altre funzioni (sintesi proteica, produzione di energia, produzione di nucleotidi e aminoacidi, ecc.) sono fornite dalla cellula.

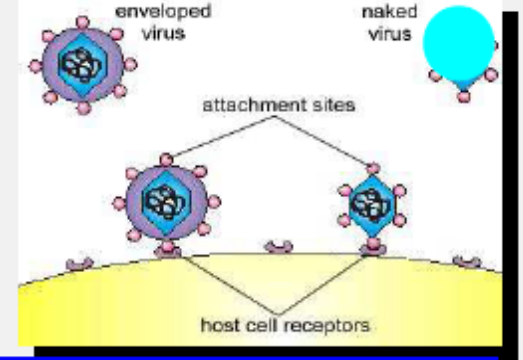
Fasi dell'infezione produttiva:

- 1) Riconoscimento cellula target
- 2) Adsorbimento
- 2) Penetrazione
- 3) Spoliazione (Uncoating)
- 4) Sintesi delle componenti virali
 - Sintesi RNA precoci e proteine enzimatiche
 - Replicazione del genoma
 - Sintesi RNA tardivi e proteine strutturali
- 5) Assemblaggio
- 6) Uscita



A) RICONOSCIMENTO-ATTACCO

Contatto virus-cellula



ANTIRECETTORI VIRALI (viral attachment protein: **VAP**)

EBV: gp220-gp350 →

HIV: gp120 →

Influenza: HA →

Morbillo: H →

Rhinovirus: VP1-VP2-VP3 →

RECETTORI CELLULARI

CR2 (CD21) - C3dR

CD4

Gp contenenti

acido sialico

CD46

ICAM-1

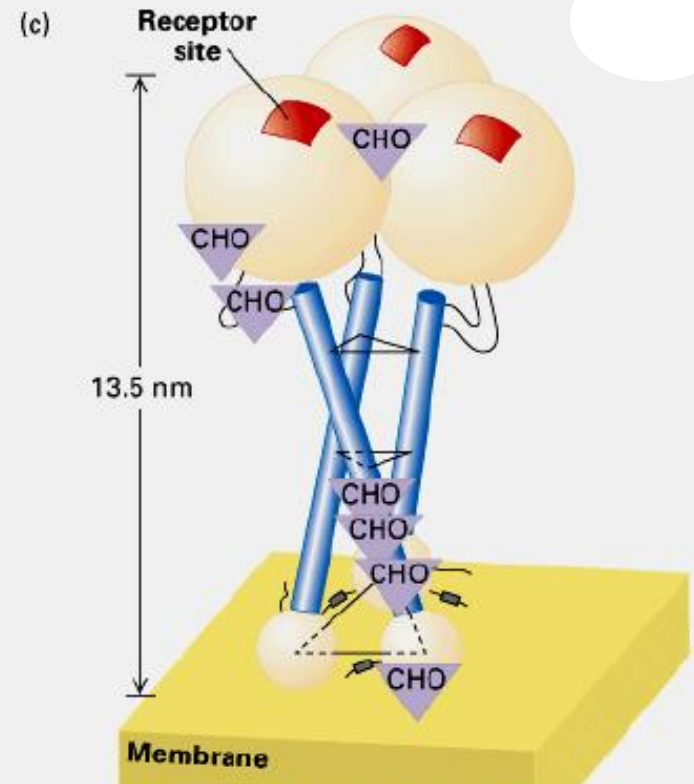
ESEMPI di VAP

TABELLA 6-6. Esempi di recettori virali

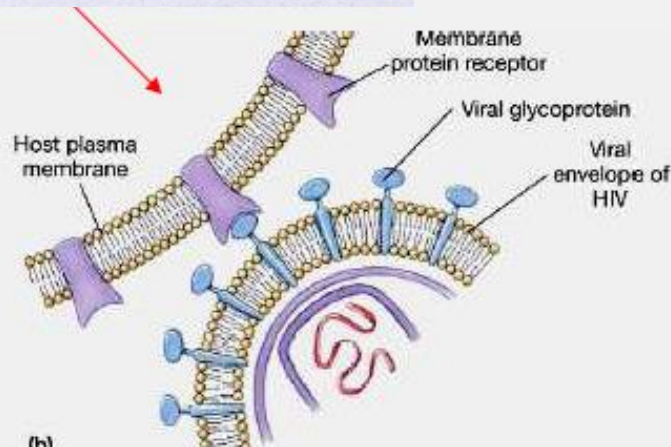
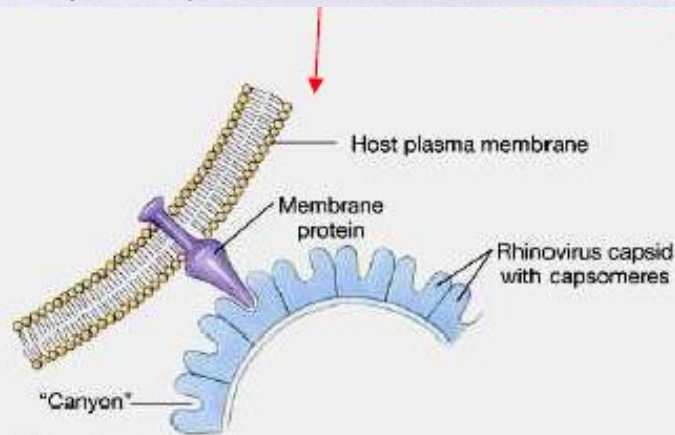
VIRUS	CELLULA BERSAGLIO	RECETTORE*
Virus di Epstein-Barr	Linfocita B	CR2 (CD21), recettore per il C3d del complemento
Virus dell'immunodeficienza umana	Linfocita T "helper"	Molecola di CD4 e corecettori per le chemochine
Rhinovirus	Cellule epiteliali	ICAM-1 (proteina della superfamiglia delle immunoglobuline)
Poliovirus	Cellule epiteliali	Proteina della famiglia delle immunoglobuline
Virus dell'herpes simplex	Molte cellule	Proteine della famiglia delle immunoglobuline
Virus della rabbia	Neuroni	Recettore per l'acetilcolina
Virus dell'influenza A	Cellule epiteliali	Acido sialico
Parvovirus B19	Precursori eritroidi	Antigene P degli eritrociti (globoside)

ICAM-1, Molecola di adesione intercellulare.

* Per questi virus possono esistere anche altri recettori.

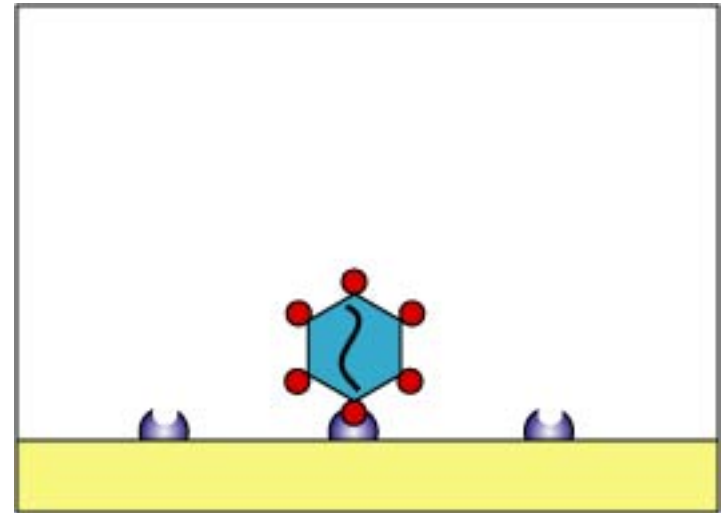
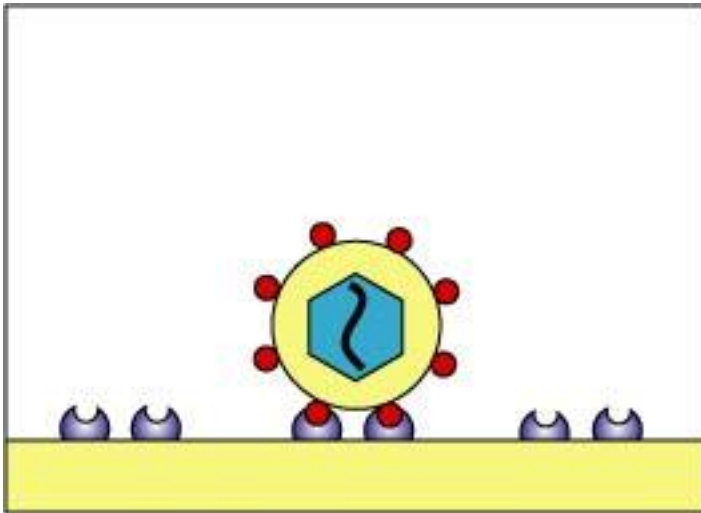


**Emagglutinina (HA)
virus dell'influenza**



Adsorbimento

Richiede l'interazione specifica fra strutture virali (antirecettori) e cellulari (recettori) posti sulla membrana plasmatica.



I recettori cellulari sono molecole normalmente presenti sulla superficie delle cellule (es Rinnovirus lega ICAM-1, molecole dell'epitelio nasale che interagiscono con linfociti, HIV lega recettori per chemochine, ecc.).

Parte dell'antirecettore virale assomiglia alla forma chimica del ligando

Le caratteristiche del recettore determinano lo spettro d'ospite, quali cellule possono essere infettate e le caratteristiche della malattia

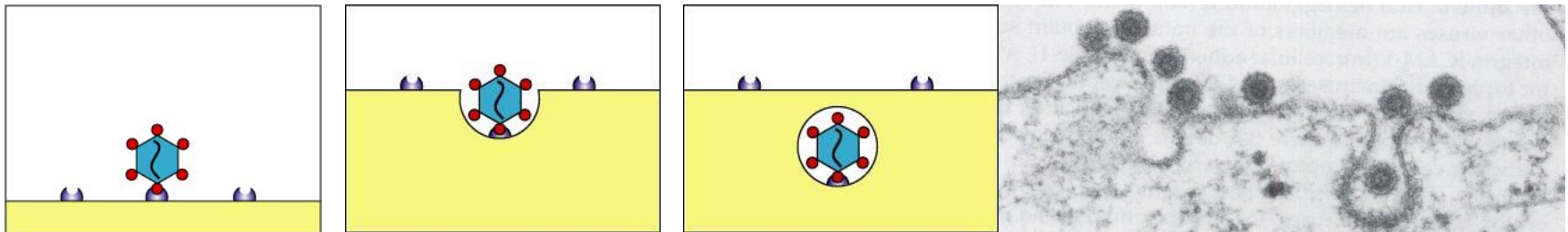
Penetrazione

Cellula metabolicamente attiva (l'adsorbimento si verifica anche su cellule morte o porzioni isolate di membrana).

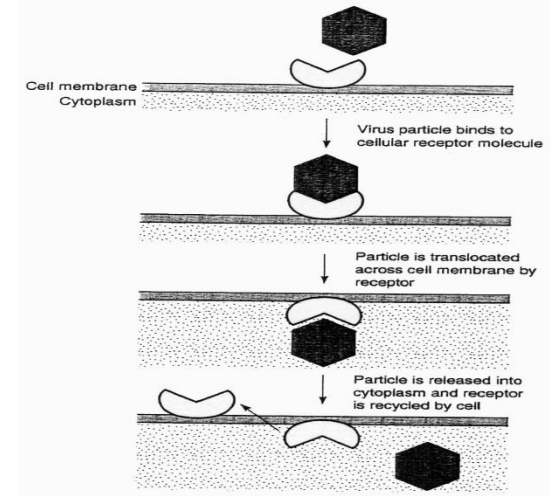
Si verifica a 37°C ed avviene quasi istantaneamente dopo l'attacco al recettore.

1) Virus a capside nudo:

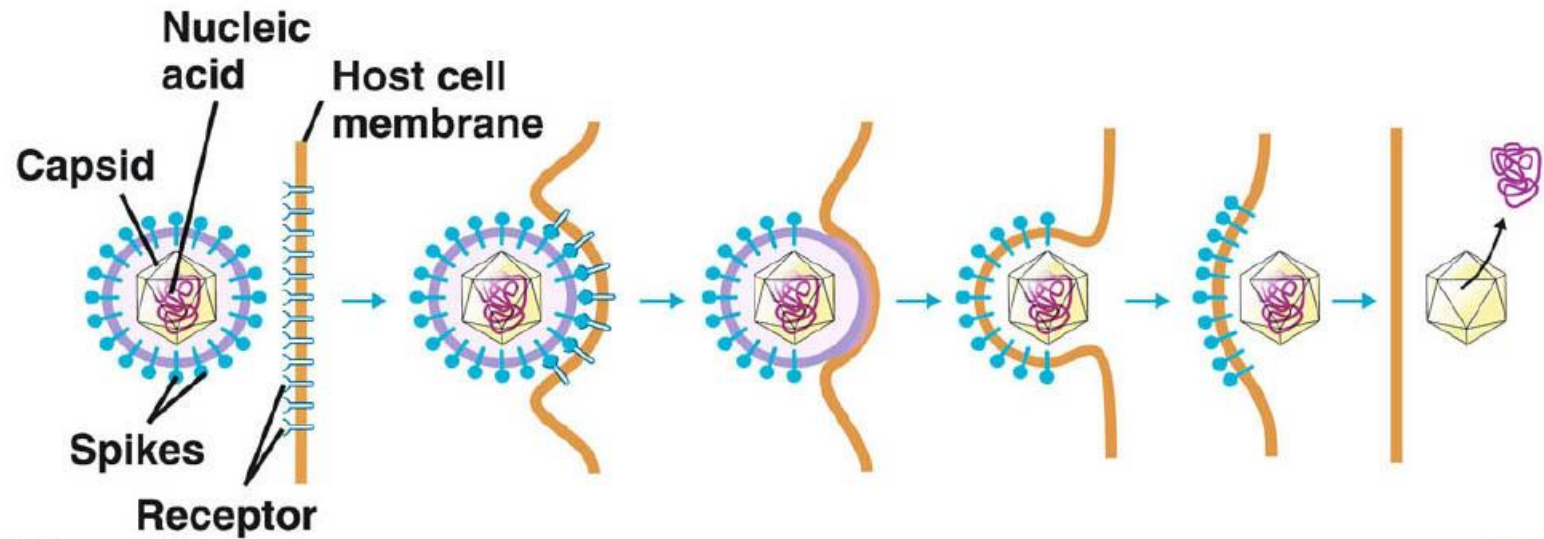
a) endocitosi in vescicole endoplasmatiche



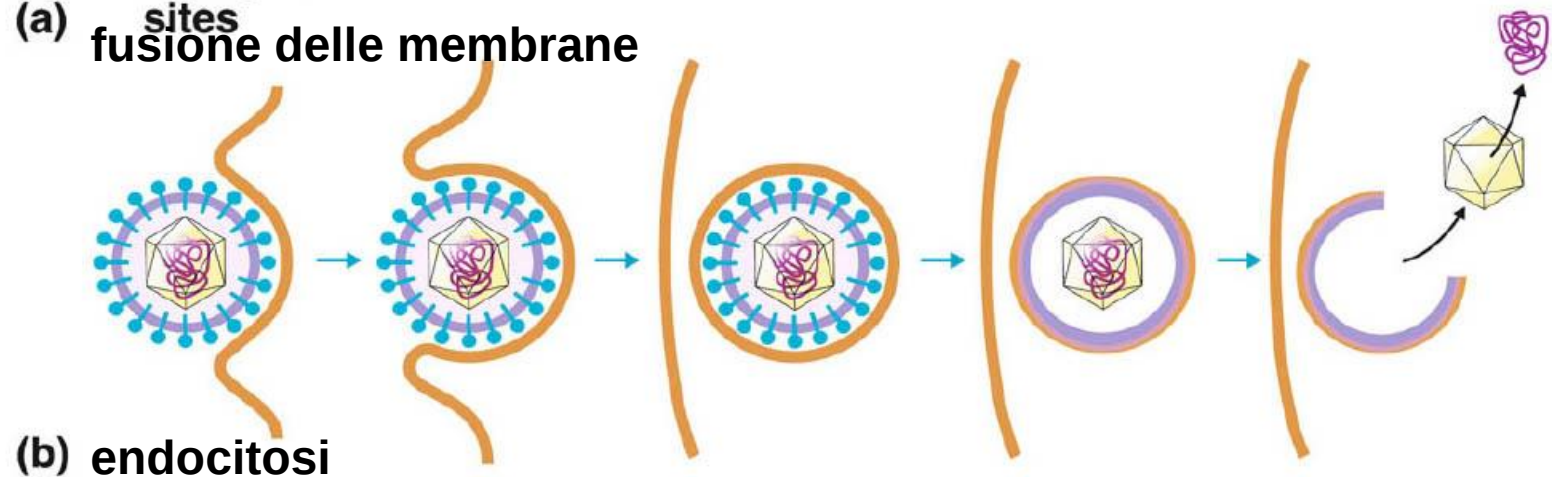
b) Traslocazione della particella attraverso la membrana plasmatica



2) Virus con inviluppo



(a) fusione delle membrane



(b) endocitosi

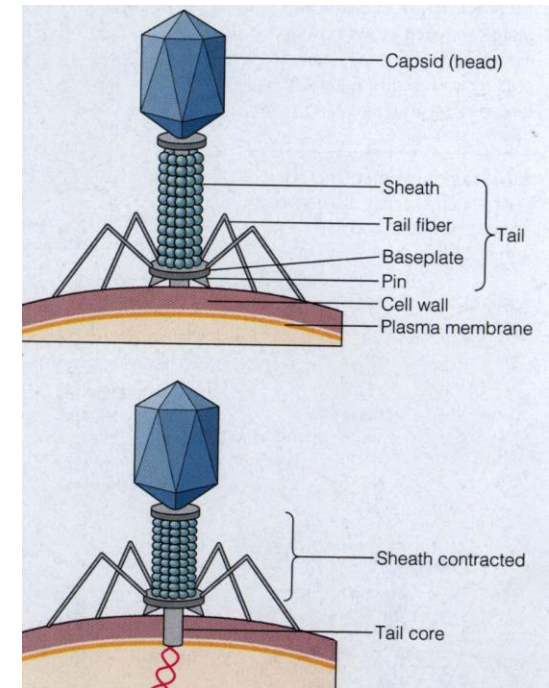
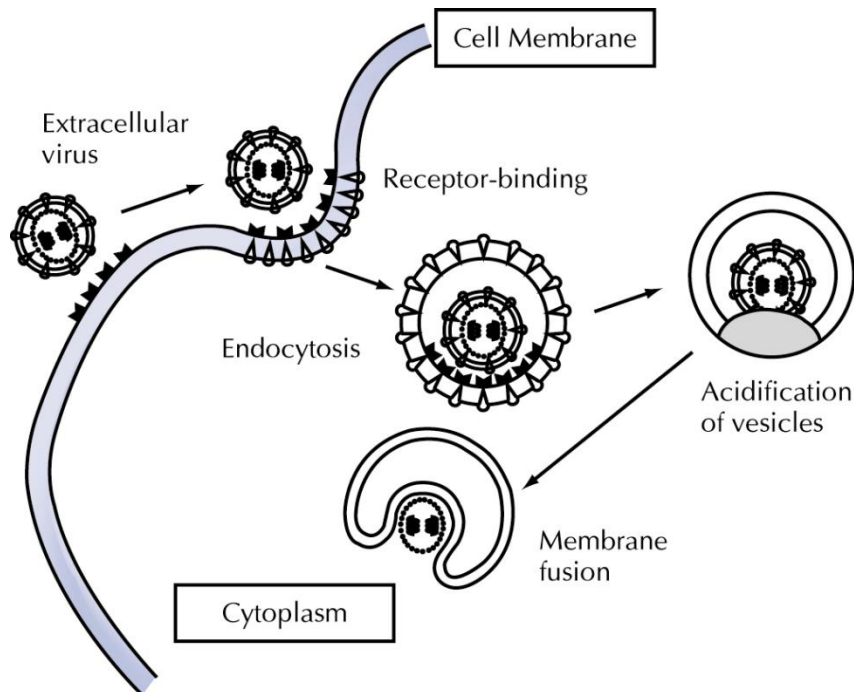
Spoliazione - Uncoating

Il capside virale viene rimosso, ed il genoma viene liberato

Intervento enzimi lisosomiali



Uncoating



Per i batteriofagi penetrazione e spoliazione sono simultanei

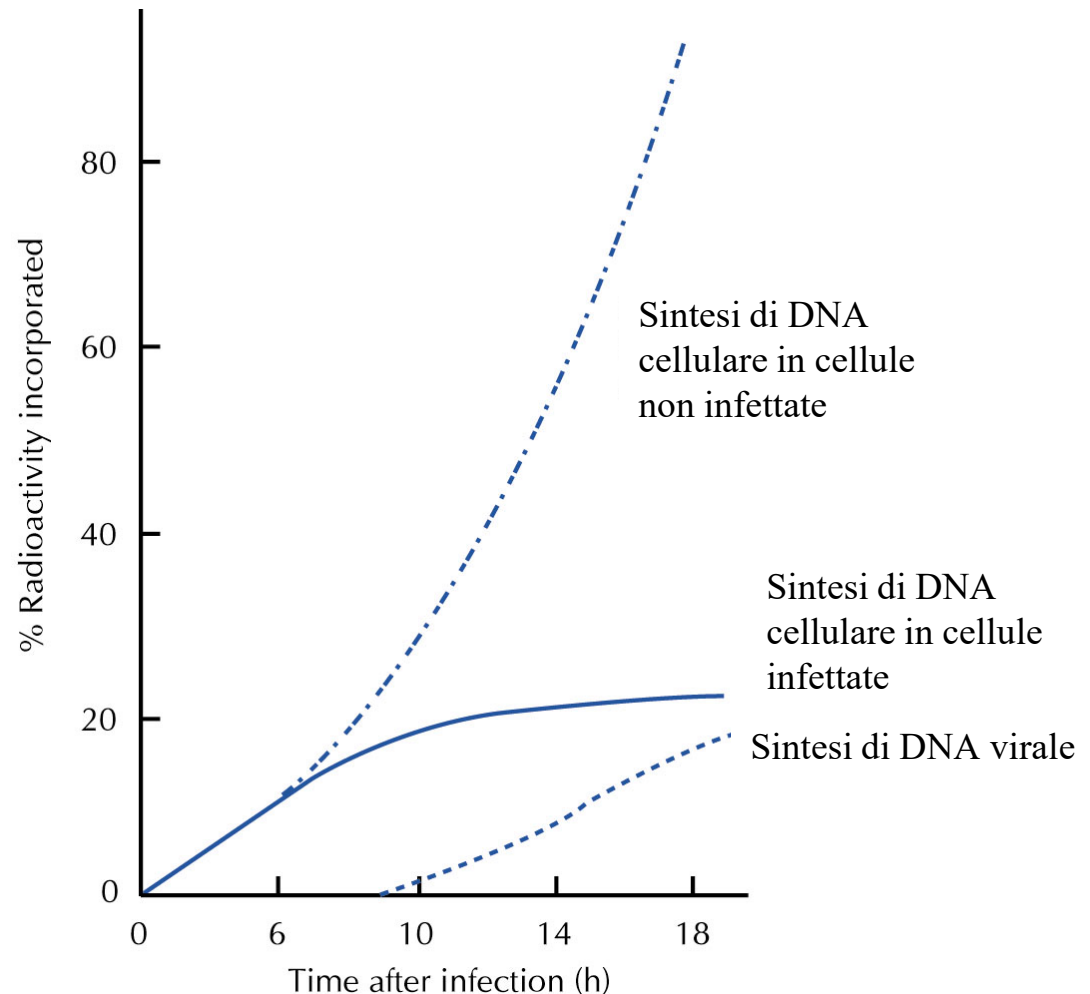
Sintesi delle componenti virali

Il virus deve:

- 1) utilizzare il metabolismo cellulare per sintetizzare proteine virali
- 2) replicare il proprio acido nucleico

Molti virus possono replicare solo in cellule con metabolismo estremamente attivo.

Il virus entra in competizione con i moltissimi geni cellulari. Per avere il sopravvento, deve bloccare le sintesi macromolecolari della cellula (sia DNA che proteine)



Generalizzando, le proteine virali si possono dividere in:

Precoci:

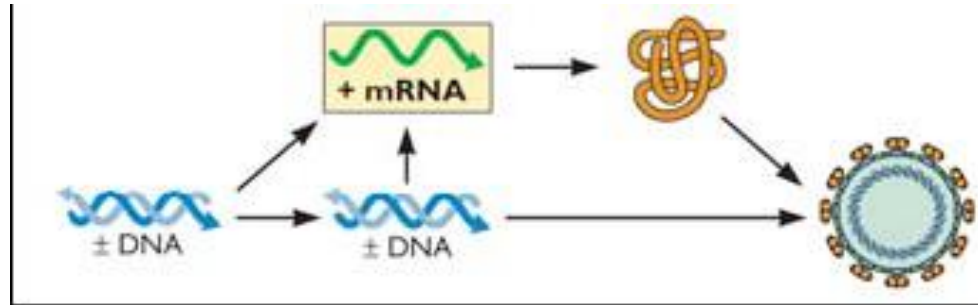
sintetizzate subito dopo la spoliatura, sono soprattutto di natura enzimatica e regolatoria. Intervengono nella replicazione dell'acido nucleico virale (polimerasi, ecc.)

Tardive:

sintetizzate dopo la replicazione dell'acido nucleico, sono soprattutto strutturali

Ogni virus replica in modo diverso, a seconda del suo materiale genetico (DNA o RNA) e della sede di replicazione (citoplasma o nucleo)

Replicazione virus dsDNA



Sintesi dell'mRNA:

- Enzima **RNA polimerasi DNA-dipendente** (della cellula) copia l'elica (-) del dsDNA
- Da DNA genomico **proteina precoci**, da DNA neoformato **proteine tardive**

Sintesi del DNA:

- Sintetizzare alla cellula la **propria DNA polimerasi** (Adeno, Herpes, Pox)
- Utilizzano la **DNA polimerasi della cellula** (Papilloma, Polyoma)

Replicazione dei Genomi a RNA

Per utilizzare l'RNA come stampo è necessario un enzima specifico: RNA polimerasi RNA-dipendente

Le cellule non codificano RNA pol **RNA**-dip

L'enzima necessario è codificato dal virus

Le RNA pol RNA-dip virali producono sia mRNA che RNA genomico

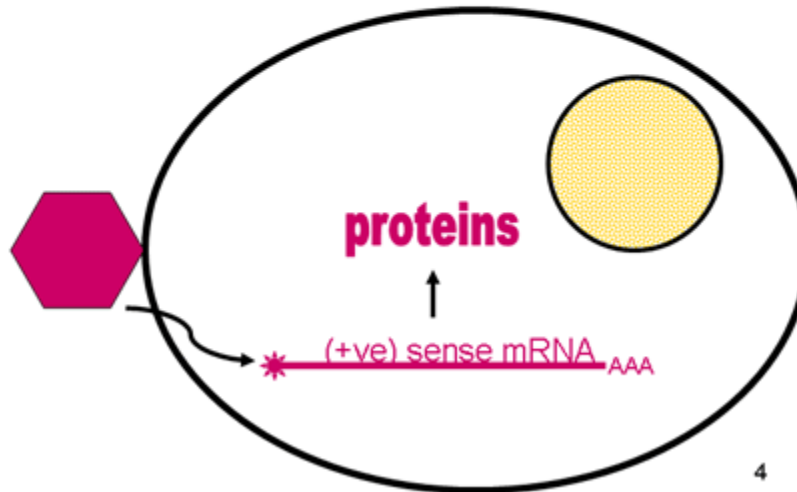
L'mRNA prodotto è traducibile dai ribosomi cellulari

RNA (+)

mRNA può essere usato direttamente dai virus a RNA (+)

Need to make mRNA

PLUS (POSITIVE) SENSE RNA GENOMES

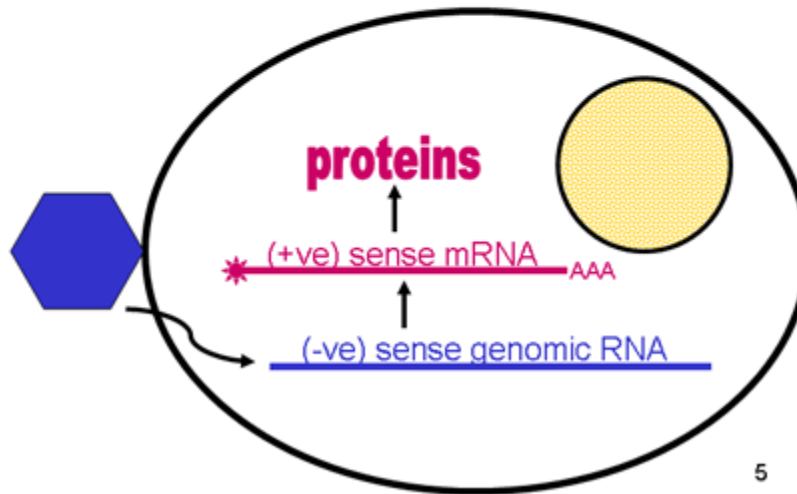


RNA (-): complementare all'mRNA

Sintetizzare mRNA partendo da RNA (-) quindi devono avere nel virione la RNA-pol-RNA-dip

Need to make mRNA

MINUS (NEGATIVE) SENSE RNA GENOMES



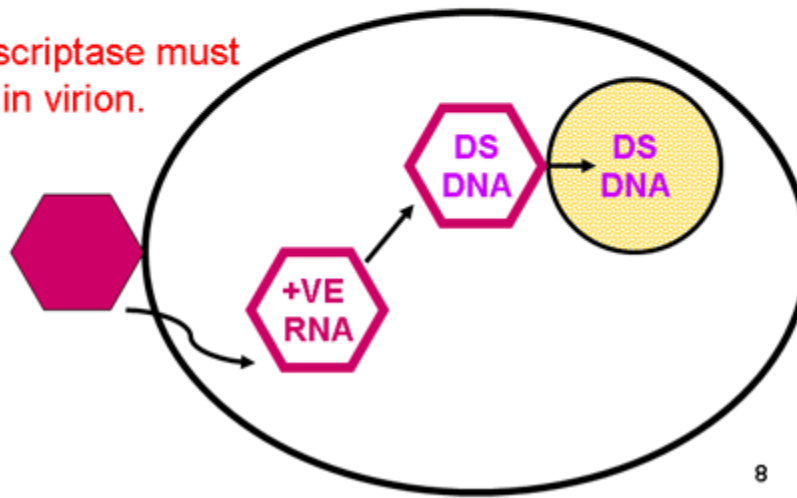
Retrovirus

Enzima in grado di convertire
il loro genoma da RNA a DNA e cioè una DNA-pol-RNA-dip

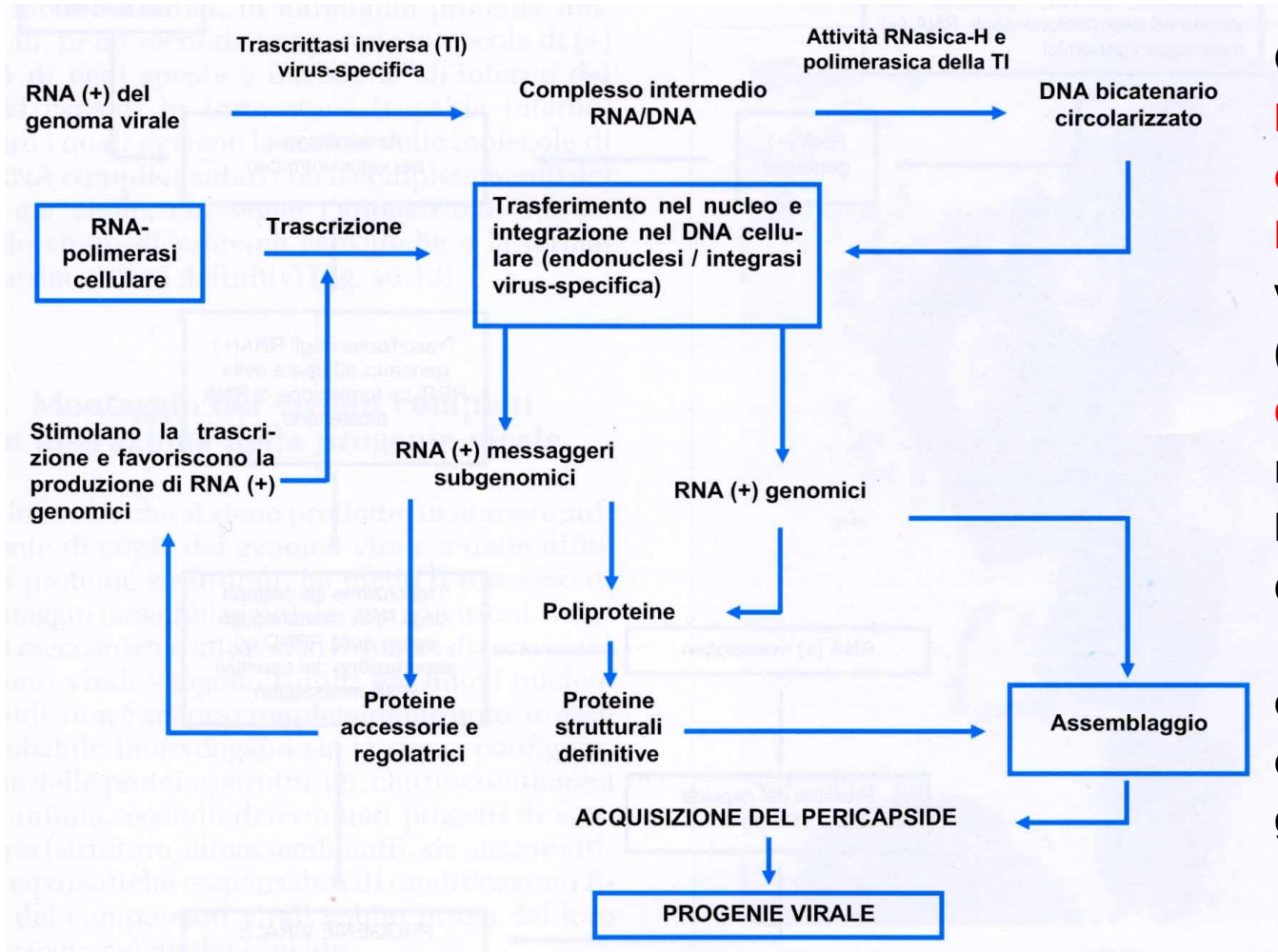
Need to make mRNA

RETROVIRUSES

Reverse transcriptase must
be packaged in virion.



RETROVIRUS: replicano attraverso un intermedio a DNA DNA-pol-RNA-dip



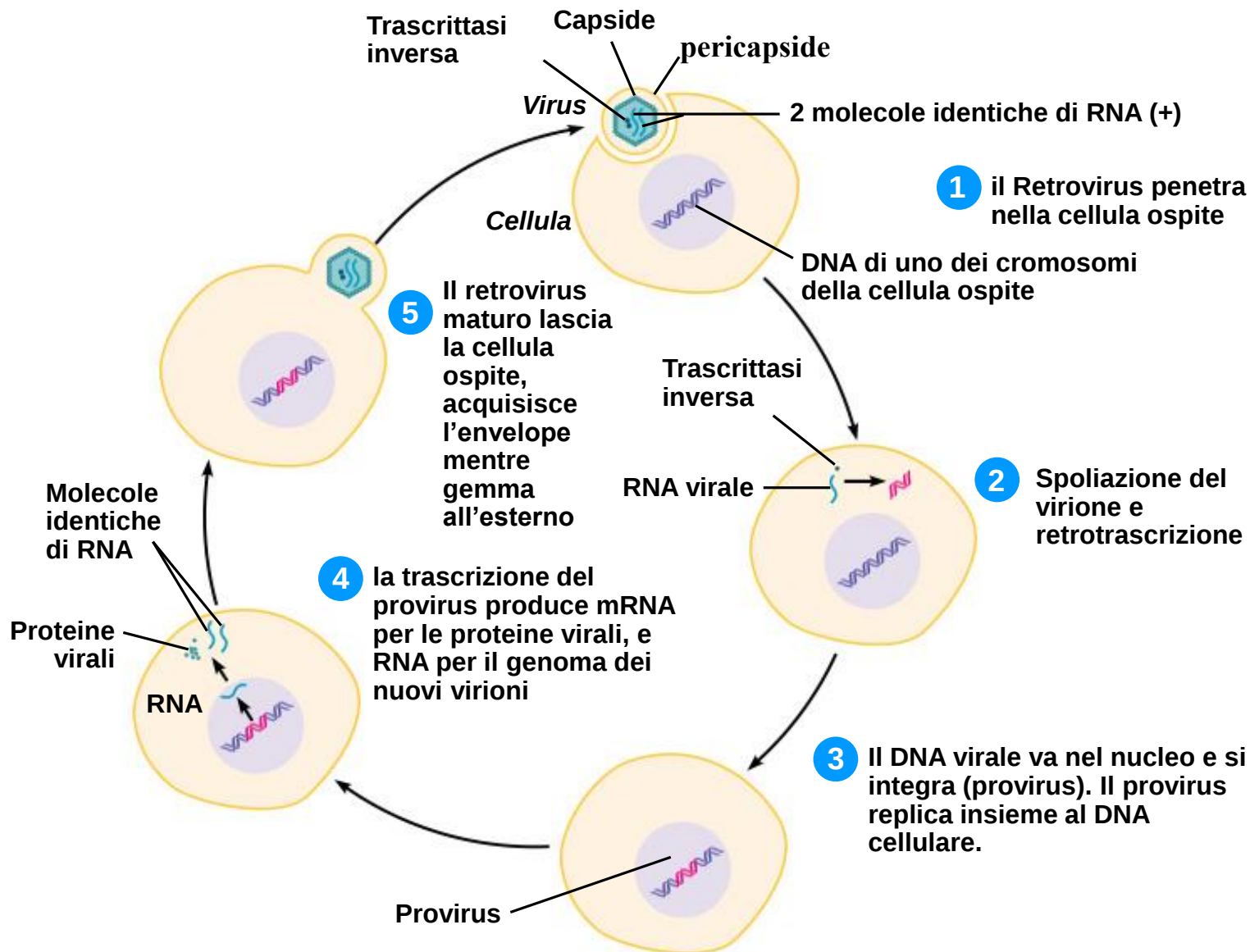
Genoma: due molecole RNA (+) (35S) a singola elica

Retrotrascrizione: RNA viene convertito in DNA (DNA-pol-RNA-dip) = dsDNA circolare che migra nel nucleo

Integrazione nel genoma della cellula (PRO-VIRUS)

Trascrizione a RNA (+) con RNA-pol-DNA-dip cellulare: mRNA e RNA genomico

Replicazione dei Retrovirus

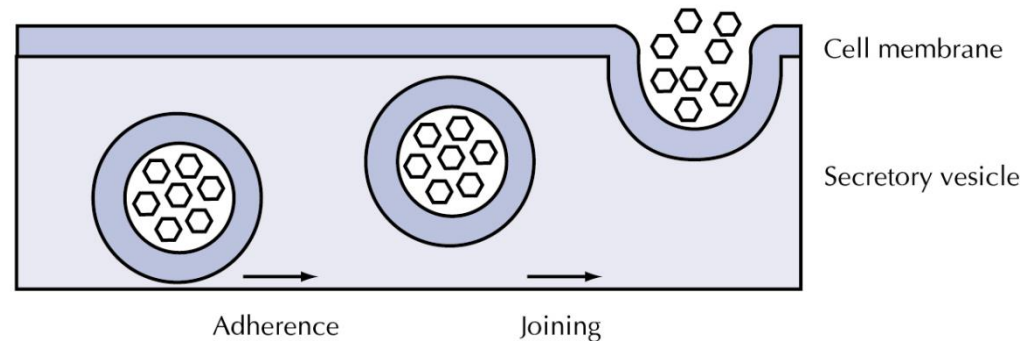


Assemblaggio

Quando sono state sintetizzate tutte le componenti virali, le proteine si riuniscono per formare il capside, che racchiude l'acido nucleico del virus.

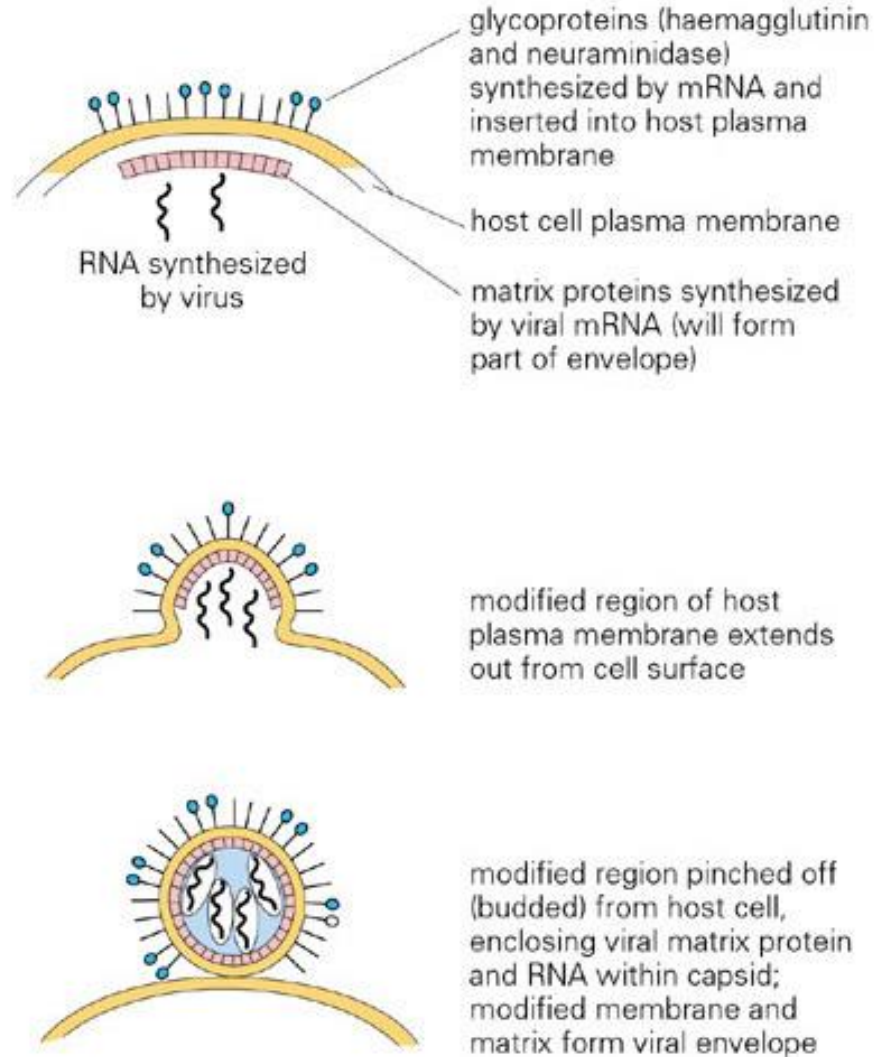
Le progenie virale neoformata può uscire dalla cellula per esocitosi:

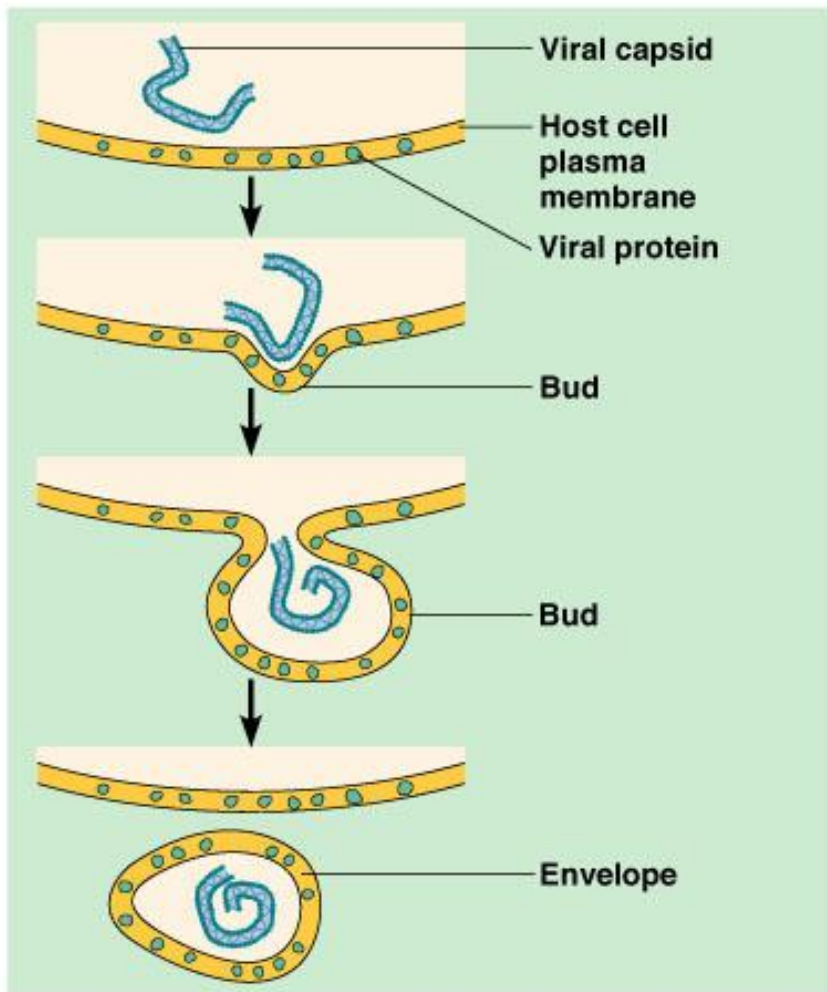
EXOCYTOSIS:



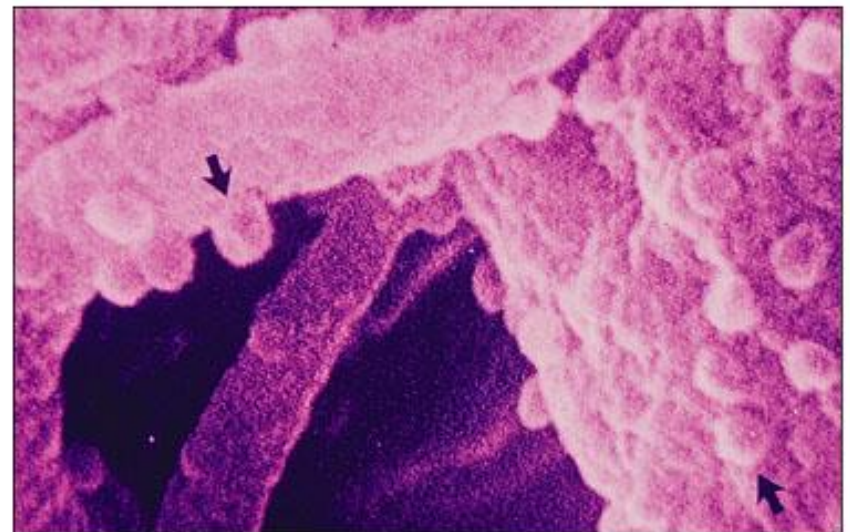
o per distruzione (lisi) della cellula, a causa dell'alterata permeabilità della membrana, del blocco delle funzioni metaboliche e dell'induzione di apoptosi.

Nei virus con inviluppo, mentre le proteine del capside si combinano fra loro e attorno al genoma, alcune proteine e glicoproteine virali si inseriscono sulla membrana citoplasmatica, il capside si accosta a queste zone e vi aderisce (tramite le proteine della matrice), si verifica una estroflessione e la gemmazione.





(a) Release by budding



(b) *Alphavirus*

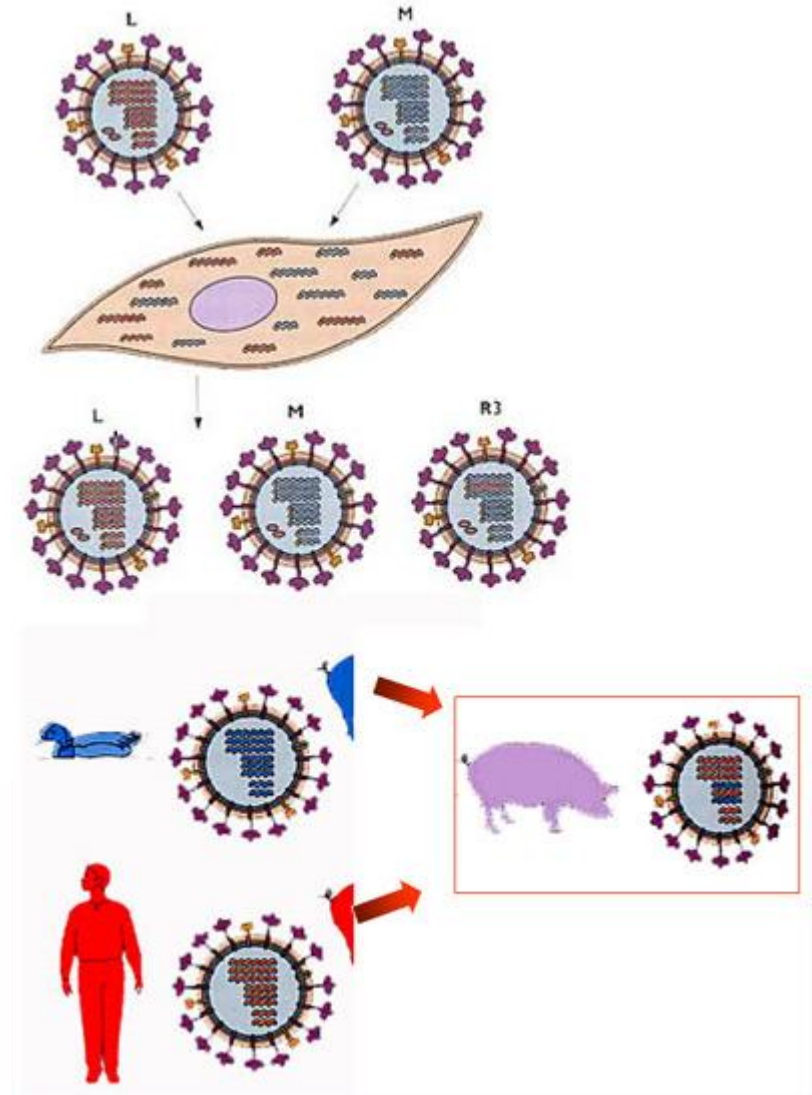
RICOMBINAZIONE: scambio di tratti di materiale genetico fra virus diversi (ma correlati) che si trovano nella stessa cellula. In genere per i virus a DNA questo fenomeno si verifica per rottura e risaldatura di segmenti neosintetizzati, mentre per i virus a RNA la ricombinazione avviene durante la replicazione per salto della RNA-polimerasi da un filamento stampo ad un altro.

RIASSORTIMENTO: è una forma di ricombinazione che si verifica solo nei virus con genoma segmentato (ortomixovirus, reovirus, rotavirus). Nella cellula infettata contemporaneamente da due virus diversi con genoma segmentato si trovano segmenti di entrambi i virus parentali. Durante l'assemblaggio e la maturazione questi segmenti possono essere casualmente distribuiti nella progenie virale. Ne risulteranno dei virioni che possiedono caratteristiche intermedie tra i due virus parentali. I virus ricombinanti possono differire sensibilmente dai virus parentali sia dal punto di vista antigenico (e quindi mettere in difficoltà la capacità dell'ospite di rispondere immunologicamente in maniera adeguata) che biologico (capacità di invadere nuove nicchie replicative in ospiti differenti). Il riassortimento è alla base della variabilità antigene che si verifica nei virus influenzali.

RIASSORTIMENTO

**Scambio di materiale genetico tra virioni co-infettanti:
virioni che possiedono
caratteristiche
intermedie tra i due virus
parentali**

Virus influenzali



PATOGENESI VIRALE

Sia l'ospite che il virus tendono ad un vantaggio riproduttivo: l'ospite sviluppa difese, il virus subisce continue modifiche. La selezione naturale favorisce i virus con scarso potere patogeno (= che non eliminano l'ospite) e molte infezioni virali sono asintomatiche.

Non è bene per il virus distruggere il suo ospite, anzi spesso le malattie sono una conseguenza (non voluta dal virus) che deriva da come il virus ha risolto i suoi tre problemi “esistenziali” (riproduzione, trasmissione, evasione).

La patologia virale può essere dovuta:

a) all'azione diretta del virus (es. distruzione della cellula infettata)

b) dalla risposta dell'ospite. Spesso la risposta immunitaria non colpisce esclusivamente il virus, ma può causare dei danni collaterali

PATOGENESI VIRALE

Patogenicità = capacità di causare malattia

Patogenesi virale = meccanismi con cui i virus colpiscono gruppi di cellule in organi bersaglio per produrre i segni e sintomi della malattia.

Virulenza = grado di patogenicità, può variare nella stessa specie virale. **Denota le abilità *relative* del patogeno di causare malattia.**

La patogenicità è legata:

- alle caratteristiche del virus
- alla permissività e alla capacità di risposta dell'ospite

3 condizioni necessarie:

- 1) ci deve essere abbastanza virus infettante
- 2) le cellule oggetto dell'infezione devono essere accessibili, suscettibili, permissive
- 3) il virus deve superare le difese antivirali dell'ospite

RIQUADRO 46-1. Fattori determinanti la malattia virale

Natura della malattia

Tessuto bersaglio

Via d'ingresso del virus

Accesso del virus al tessuto bersaglio

Tropismo tissutale del virus

Permissività delle cellule alla replicazione virale

Ceppo virale patogeno

Gravità della malattia

Capacità citopatica del virus

Stato immunitario dell'ospite

Competenza del sistema immunitario

Precedente immunità nei confronti del virus

Immunopatologia

Entità dell'inoculo virale

Tempo richiesto per la risoluzione dell'infezione

Condizioni generali di salute dell'ospite

Nutrizione

Altre patologie influenzanti lo stato immunitario

Patrimonio genetico dell'ospite

Età

VIRULENZA

Quantificazione della virulenza: si usano parametri come Dose Letale 50 (DL_{50} , la dose infettante che uccide il 50% degli animali inoculati), o la Dose Infettante 50 (DI_{50} , la dose che infetta il 50% delle colture)

Ceppo virale **VIRULENTO**: causa una malattia evidente o più grave di uno meno virulento

Ceppo **AVIRULENTO**: non causa malattia

Ceppo **ATTENUATO**: non causa malattia oppure molto ridotta.

Geni virali che condizionano la virulenza sono quelli che:

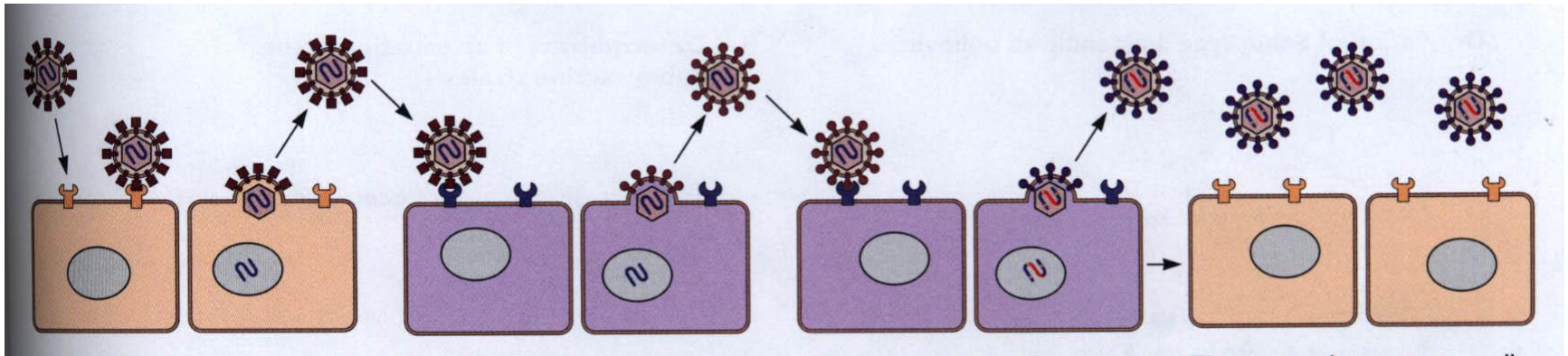
- ❖ Cambiano le capacità replicative del virus
- ❖ Consentono al virus di diffondere nell'ospite o di passare da un ospite ad un altro
- ❖ Sconfiggere i meccanismi di difesa dell'ospite
- ❖ Produrre prodotti tossici

Virus attenuati: dalla capacità patogena molto ridotta.

Molti virus codificano funzioni che assicurano l'efficienza di replicazione, trasmissione, accesso a organi bersaglio, elusione del riconoscimento del sistema immune. Queste funzioni possono non essere necessarie per la replicazione virale in vitro, mentre sono importanti per la patogenicità e la virulenza in vivo.

La perdita di queste funzioni causa l'attenuazione del virus.

Molti vaccini basati su virus vivi utilizzano ceppi virali attenuati.



La patogenesi virale comprende 5 eventi principali:

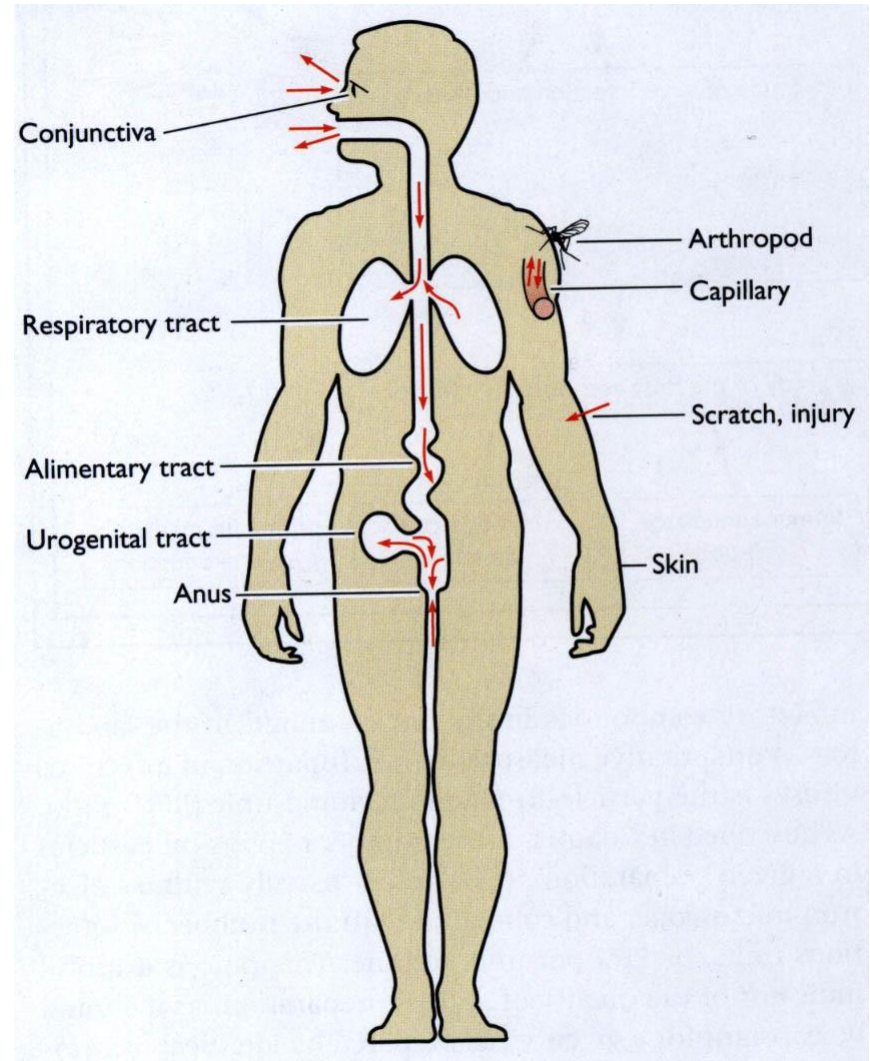
- 1) **Ingresso** del virus nell'ospite.
- 2) **Replicazione** del virus nel sito di ingresso.
- 3) **Diffusione** dalla sede di impianto.
- 4) **Disseminazione** agli organi bersaglio.
- 5) **Eliminazione** del virus dall'organismo e risoluzione dell'infezione.

1) Ingresso del virus nell'ospite

Le vie più comuni sono il tratto respiratorio e il tratto digerente. A seconda del virus e delle condizioni dell'ospite, l'infezione può rimanere localizzata nel sito di ingresso (es. raffreddore).

Il corpo è rivestito dalla pelle, che ha uno strato esterno relativamente impermeabile di cellule morte. Sono però presenti anche strati di cellule vive per assorbire nutrienti e gas, e per rilasciare fluidi. Questi strati sono più facilmente infettabili dai virus.

I virus possono essere introdotti anche tramite graffi e ferite, punture di insetti, o inoculati con aghi.



Trasmissione Orizzontale Diretta

- Nella **trasmissione orizzontale diretta**, l'ingresso del virus nell'organismo può avvenire attraverso varie vie: le più comuni sono la **via respiratoria** e quella **digerente**.
- Meno comuni, ma sempre frequenti, sono la **via genitale** e quella **parenterale**.
- La **via d'ingresso** condiziona le modalità di trasmissione dal punto di vista epidemiologico. La trasmissione di un agente virale per via respiratoria avviene **direttamente da soggetto infetto ad uno suscettibile** con una diffusione non influenzata dalle condizioni ambientali.
- La **trasmissione per via digerente (oro-fecale)** avviene attraverso alimenti contaminati e la diffusione è fortemente influenzata dal **grado di inquinamento ambientale** e dall'**efficienza dei sistemi di bonifica**.
- la distribuzione di un virus trasmesso per via digerente è influenzata **fortemente dal livello igienico della popolazione**, mentre la diffusione di un virus per via respiratoria è molto meno dipendente dalle condizioni socio-economiche della popolazione.
- La **trasmissione orizzontale diretta** può avvenire attraverso il trasferimento del virus da un soggetto infetto a uno suscettibile **tramite contatto diretto** (ad es. contatto con cute infetta o con il bacio e il conseguente scambio di saliva) o rapporti sessuali.
- La **trasmissione diretta** può avvenire anche a causa di alcune pratiche mediche: **trasfusione di sangue, somministrazione di emoderivati e trapianti d'organo.**

La **tr**asmissione **or**izzontale **i**ndiretta

- La **tr**asmissione **or**izzontale **i**ndiretta avviene attraverso veicoli, agenti o strumenti che rendono possibile il trasferimento del virus da un soggetto infetto a uno non infetto.
- Sono coinvolti spesso **strumenti** (inoculazione attraverso aghi o siringhe infette, strumenti per tatuaggi o per agopuntura non sterili), ma anche **artropodi ematofagi**.
- Si tratta di virus che mantengono la loro capacità infettante nel vettore o nello strumento per un tempo sufficiente per infettare un nuovo ospite.

MODALITÀ DI TRASMISSIONE E DI ELIMINAZIONE DEL VIRUS DALL'ORGANISMO

- Le vie di trasmissione dei virus sono determinate dall'**organo o tessuto infettato**, dalle **vie di eliminazione del virus** e dalla **stabilità delle strutture virali**, specie quelle più esterne, **all'ambiente** (variazioni di pH, calore, irraggiamento, essiccamento).
- I **virus con pericapside** sono molto più sensibili a tali agenti, mentre quelli senza pericapside sono più resistenti.
- I virus possono essere **trasmessi** in modo verticale (dalla madre al figlio) od orizzontale (da un soggetto infetto a uno non infetto; questi due modi di trasmissione possono realizzarsi a loro volta sia in modo diretto che indiretto) (tab. 34.1).

Tabella 34.1 Vie di trasmissione dei virus.

Verticale (dalla madre al figlio)	Orizzontale
Attraverso le cellule gametiche contenenti il virus.	Diretta (passaggio diretto da un soggetto infetto a uno non infetto: ad es. trasmissione sessuale)
Per via transplacentare	Indiretta (strumenti infetti, cibi infetti, vettori)
Nella vita perinatale	

Trasmissione Verticale

La **trasmissione verticale** può avvenire:

- **attraverso le cellule gametiche** (ad es. DNA provirale di un retrovirus integrato nel DNA cellulare (trasmissione verticale propriamente detta);
- **per via trans-placentare** (ad es. citomegalovirus o virus della rosolia);
- **nella vita perinatale** (una trasmissione che avviene durante il passaggio attraverso il canale del parto per virus che causano infezioni localizzate a cute e mucose (herpes simplex) o di virus presenti nel sangue e nei liquidi biologici come il latte (virus dell'epatite B; Virus dell'immunodeficienza umana.

2) Replicazione del virus nel sito di ingresso

Avviene nelle cellule permissive presenti nel sito di ingresso.

Deve esserci una carica infettante sufficiente (di solito poche particelle virali non riescono a stabilire una infezione in quanto poche cellule infettate vengono eliminate facilmente dalle difese dell'ospite).

Può incontrare ostacoli da parte delle difese dell'ospite (es interferon beta, una sostanza antivirale prodotta dall'organismo, che protegge le cellule non ancora infettate).

Alcuni virus (es. influenza-malattia esclusivamente respiratoria; rotavirus - infezione esclusivamente intestinale) provocano malattia unicamente a livello del sito di ingresso. non invadono i tessuti sottostanti e non diffondono a sedi lontane

3) Diffusione dalla sede di impianto

Il virus può diffondere nell'organismo (attraverso il sangue, il sistema linfatico, o i neuroni), raggiungendo gli organi bersaglio.

Viremia = presenza del virus nel sangue.

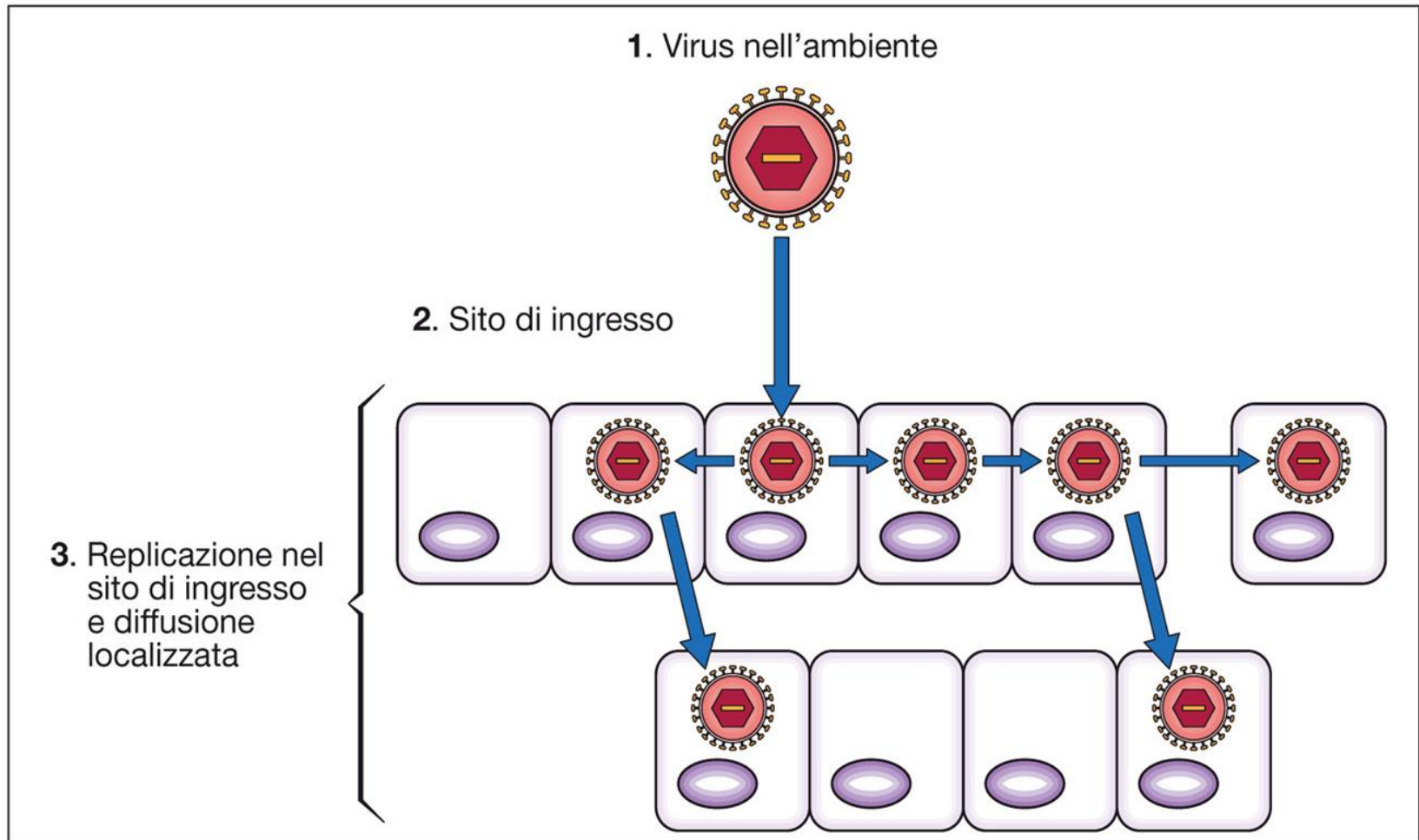
Può esservi diffusione anche lungo i nervi periferici (es. virus dell'herpes simplex, virus della rabbia).

Le infezioni virali possono essere:

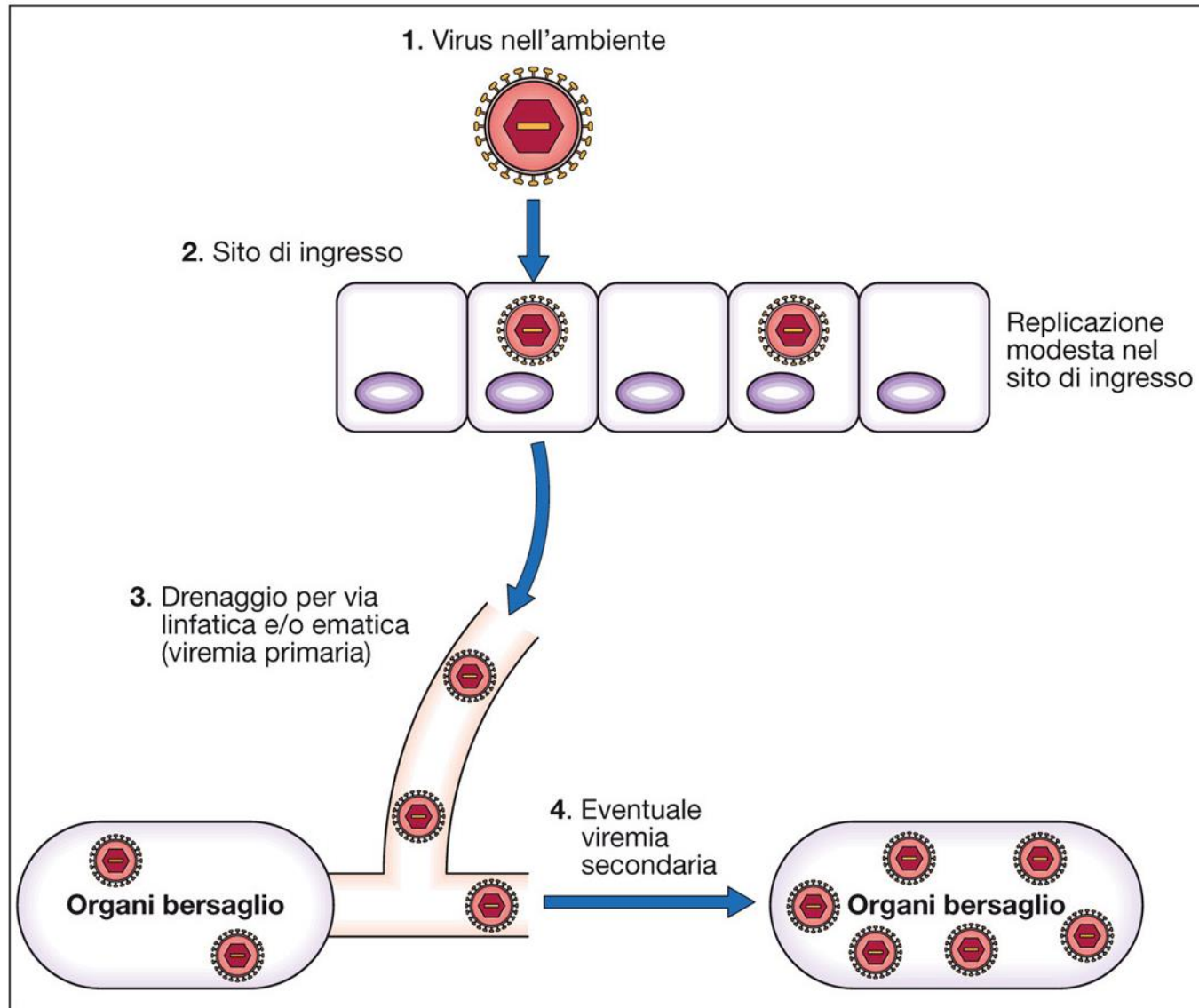
localizzate (soprattutto a carico delle superfici epiteliali: cute, mucose, ecc. es rinovirus, papillomavirus)

generalizzate (il virus diffonde per viremia).

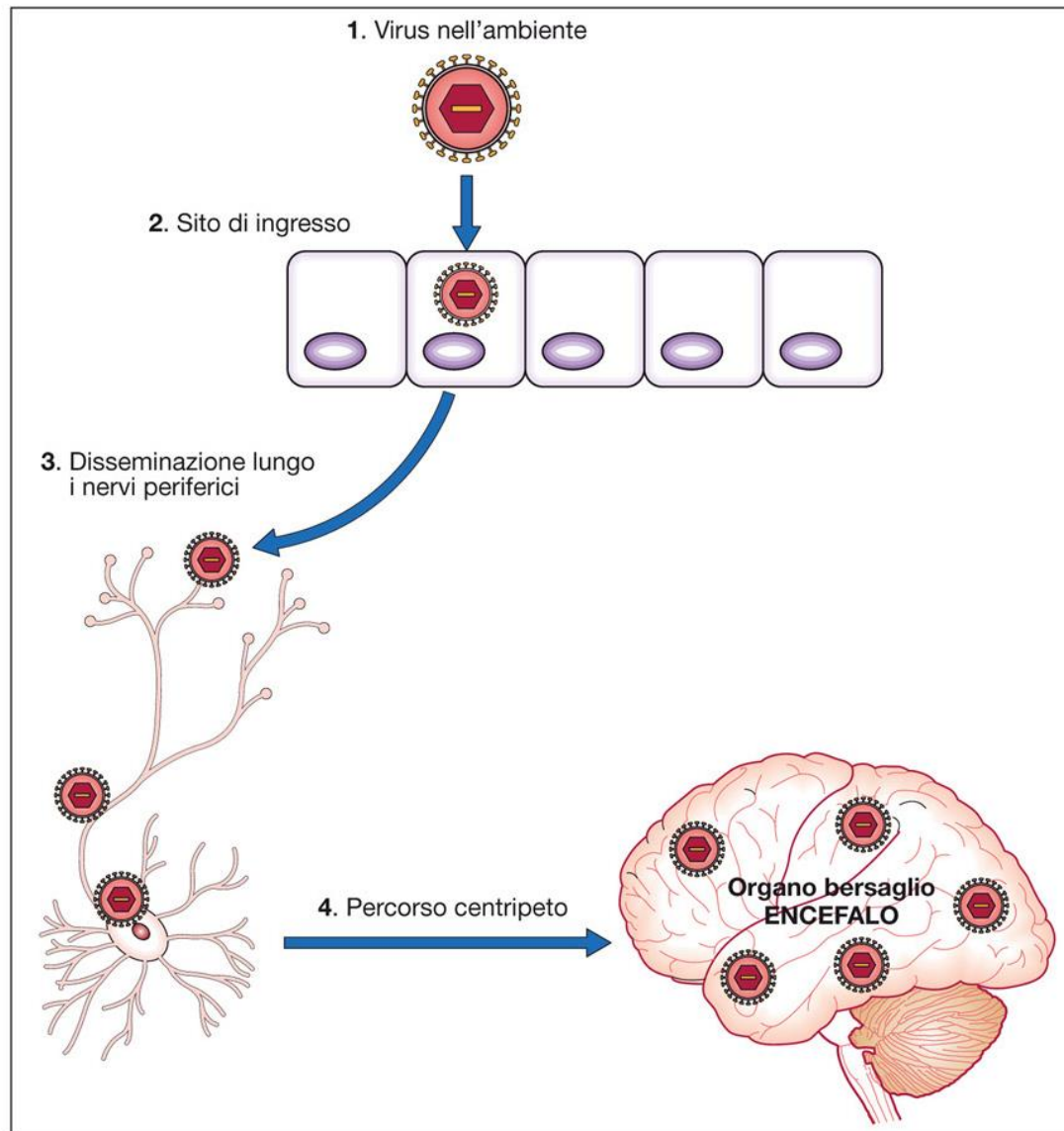
Diffusione di un virus all'interno dell'ospite: fasi essenziali di una infezione localizzata



Diffusione di un virus all'interno dell'ospite: fasi essenziali di una infezione disseminata.



Diffusione di un virus all'interno dell'ospite attraverso la via nervosa.



4) Disseminazione agli organi bersaglio.

Di solito, coincide con l'inizio di sintomi evidenti.

Ogni virus ha i propri organi bersaglio.

Esistono virus dermotropi, epatotropi, neurotropi, ecc.

Può dipendere dalla presenza (o assenza) di recettori, o dallo stato metabolico del soggetto infettato (es di influenza ormonale: topo neonato sensibile a Coxsackievirus, ma non il topo adulto; virus della parotite si localizza più frequentemente nel testicolo dell'adulto che del bambino).

Il virus replica negli organi bersaglio, dando una seconda viremia, più imponente.

Replicazione al sito di ingresso

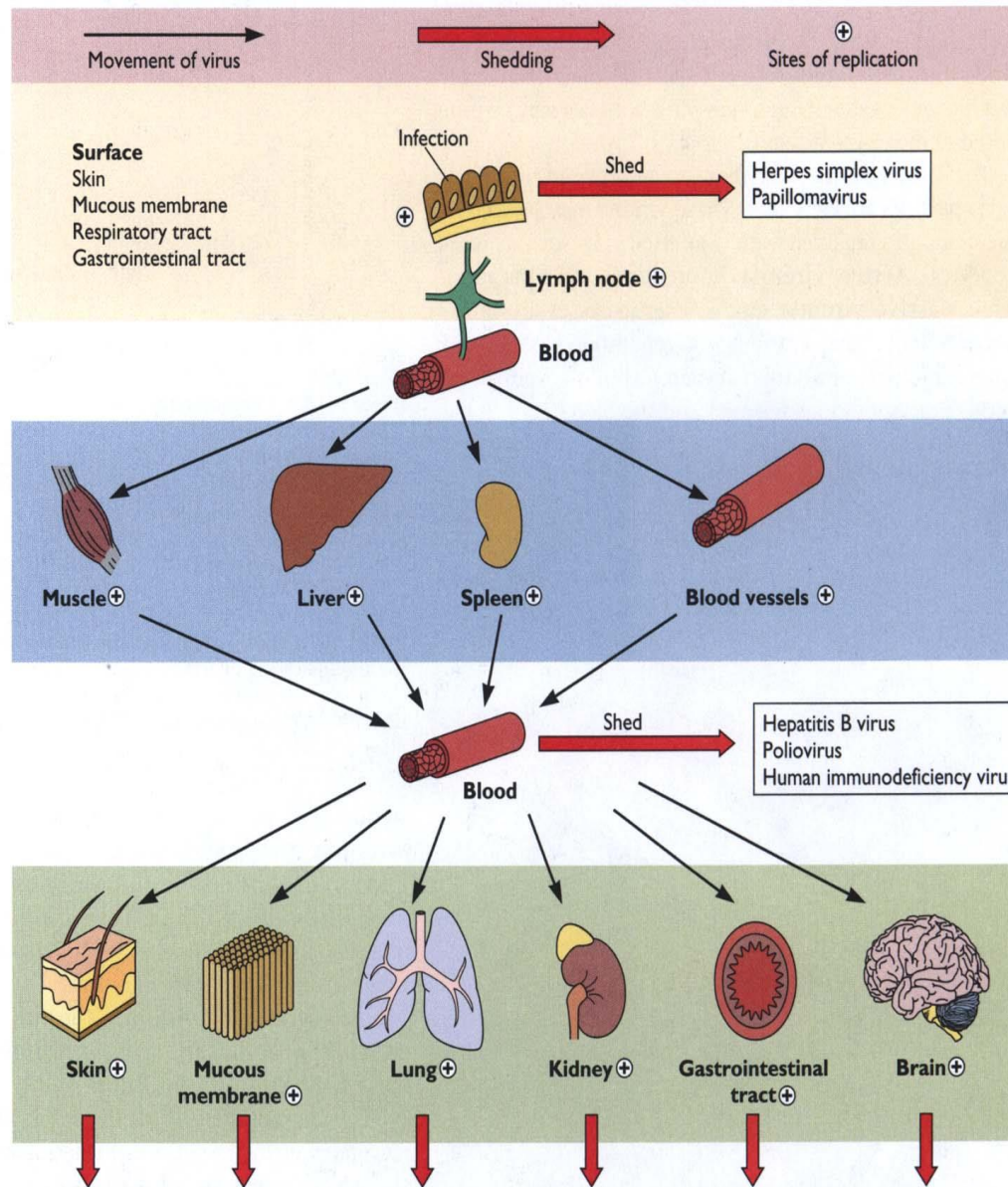
Viremia primaria

Replicazione in organi bersaglio

Viremia secondaria

Replicazione in organi bersaglio (siti secondari di localizzazione)

Trasmissione



Di solito l'infezione diventa clinicamente evidente quando il virus raggiunge gli organi bersaglio

I sintomi dipendono:

-dalla replicazione del virus (che danneggia l'organo bersaglio)

-dalla risposta dell'organismo all'infezione (es. i sintomi dell'influenza dipendono da interferone e citochine, sostanze prodotte dall'organismo come difesa aspecifica; nel corso dell'epatite B le cellule del fegato infettate dal virus sono distrutte dagli anticorpi)

Schema degli organi bersaglio delle principali infezioni virali

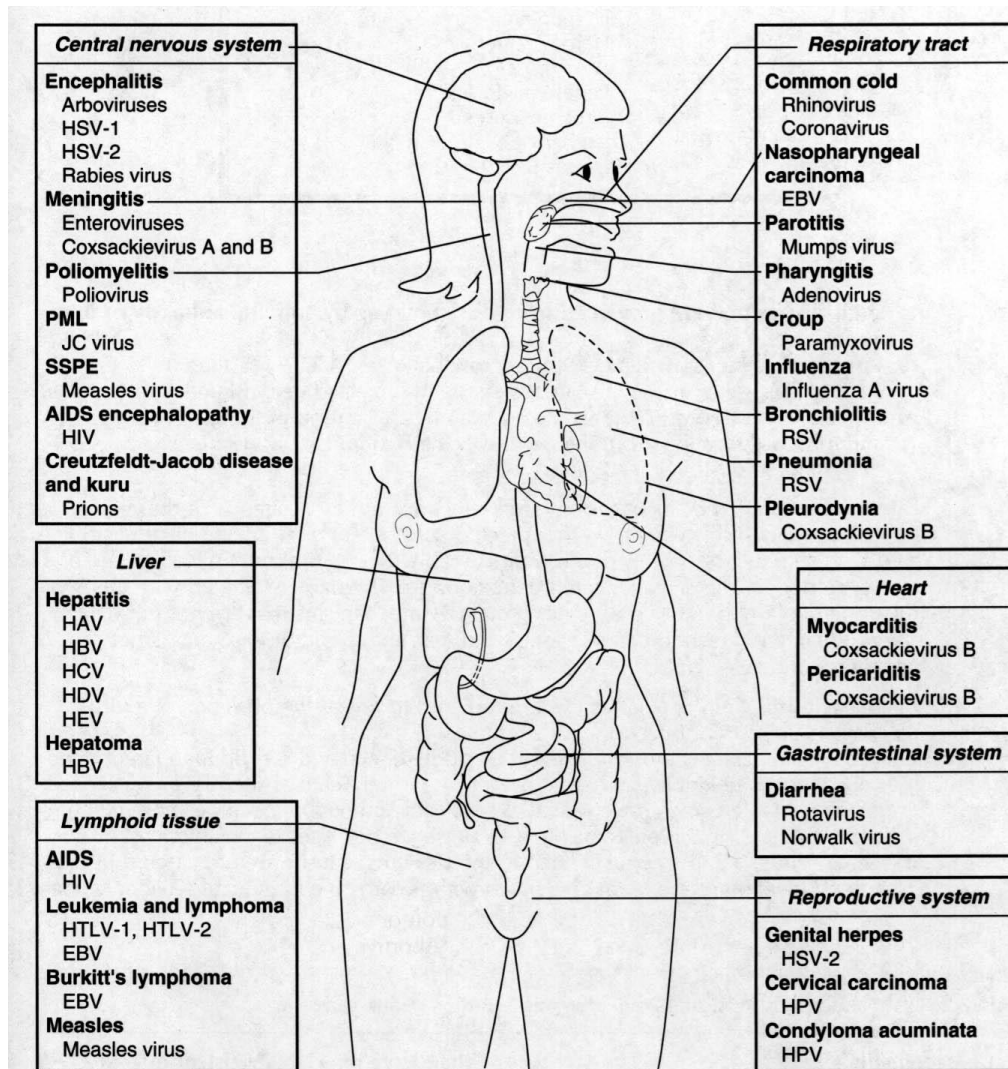


FIGURE 26-1. Target organs and tissues for the most important human pathogenic viruses. *EBV* = Epstein-Barr virus; *HAV* = hepatitis A virus; *HBV* = hepatitis B virus; *HCV* = hepatitis C virus; *HDV* = hepatitis D virus; *HEV* = hepatitis E virus; *HPV* = human papillomavirus; *HSV* = herpes simplex virus; *HTLV* = human T-lymphotropic virus; *PML* = progressive multifocal leukoencephalopathy; *RSV* = respiratory syncytial virus; *SSPE* = subacute sclerosing panencephalitis.

5) Eliminazione del virus dall'organismo e risoluzione dell'infezione

Varia a seconda del virus, ma più spesso attraverso le vie respiratorie e il canale digerente.

In alcuni casi un virus può avere più vie di eliminazione, ma solo una di esse è efficiente per la trasmissione (es virus morbillo viene eliminato per via respiratoria e con le urine, ma viene trasmesso solo per via respiratoria)

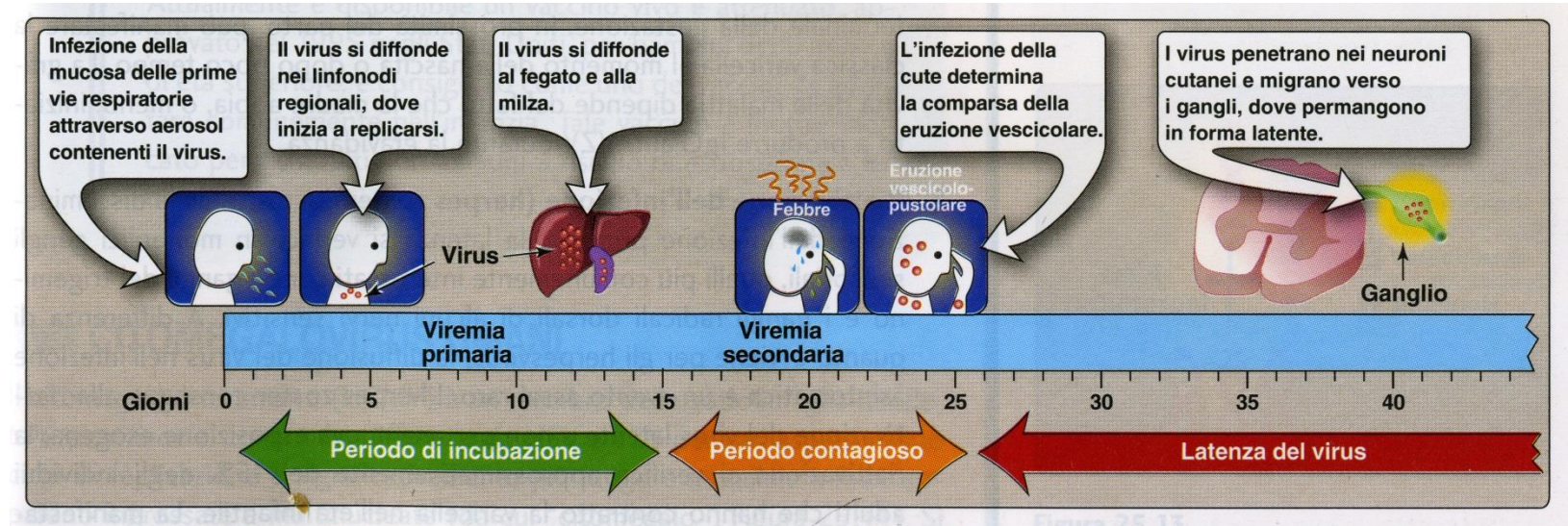
Incubazione = tempo fra
l'infezione e la malattia

TABELLA 46-4. Periodi di incubazione delle
più comuni infezioni virali

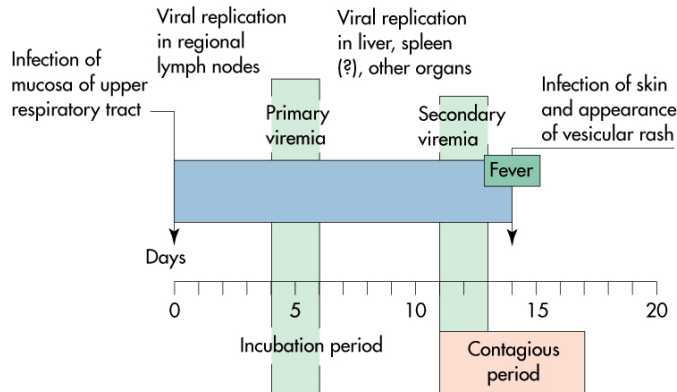
MALATTIA	PERIODO DI INCUBAZIONE (GIORNI)*
Influenza	1-2
Raffreddore comune	1-3
Bronchiolite, "croup"	3-5
Patologia respiratoria acuta (da adenovirus)	5-7
Dengue	5-8
Herpes simplex	5-8
Enterovirus	6-12
Poliomielite	5-20
Morbillo	9-12
Vaiolo	12-14
Varicella	13-17
Parotite	16-20
Rosolia	17-20
Mononucleosi	30-50
Epatite A	15-40
Epatite B	50-150
Rabbia	30-100
Papilloma (verruche)	50-150
HIV (sindrome da immu- nodeficienza acquisita)	1-10 anni

* Fino al momento della comparsa dei prodromi. Sintomi di utilità diagnostica (ad es. rash, paralisi) possono comparire non prima di 2-4 giorni dopo.

Esempio di infezione virale : Varicella



Tipico decorso clinico della Varicella



Mosby, Inc. items and derived items copyright © 2002 by Mosby, Inc.

Decorso clinico della varicella. Il decorso nei bambini, descritto in figura, è generalmente più breve e meno grave che negli adulti.

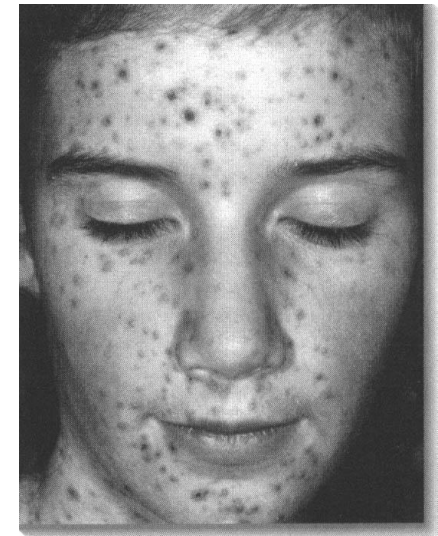
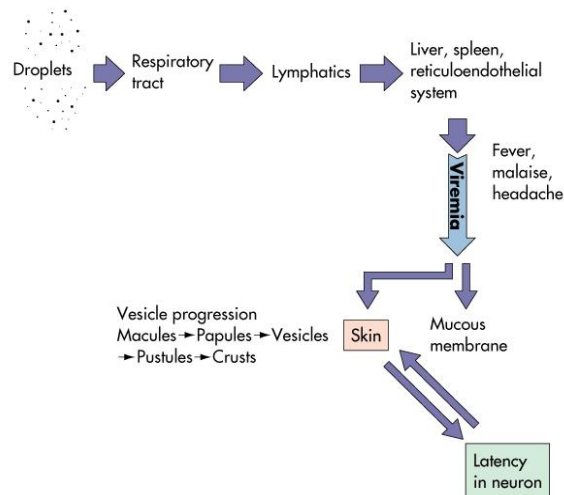


Figure 28.12
Appearance of chickenpox with lesions at all stages of development.



Diffusione del virus della Varicella nel corpo. Il virus all'inizio infetta il tratto respiratorio e diffonde attraverso il sistema reticolo-endoteliale e attraverso il sangue a tutto il corpo.



Herpes Zoster in un dermatomo toracico

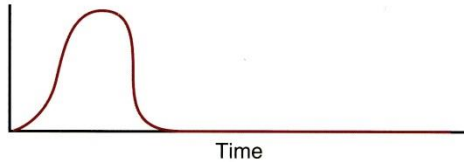
Esito dell'Infezione - 1

Si possono verificare varie possibilità:

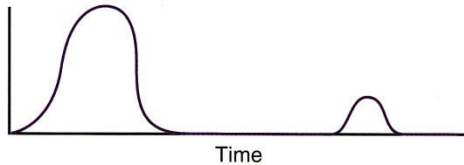
- Il virus viene completamente **eliminato** dall'organismo. grazie alle difese immunitarie (es. Raffreddore, Influenza, Epatite A)
- Le difese dell'organismo contrastano il virus, la malattia si riduce o scompare, ma **il virus persiste** nell'organismo, replicando a bassi livelli (**infezione cronica**). Il paziente conduce una vita quasi normale anche per molti anni, finchè gradatamente non si sviluppa una grave malattia (es. Epatite B, Epatite C, AIDS)
- Le difese dell'organismo impediscono al virus di replicare, la malattia finisce, ma il virus non è eliminato dall'organismo. Il genoma del virus rimane in alcune cellule, senza replicare (**infezione latente**). In condizioni particolari, può riattivarsi dando luogo alle *recidive*. Si verifica una infezione produttiva, generalmente limitata, seguita da una nuova latenza (es. virus dell'herpes simplex, virus varicella zoster).

Patterns infezioni virali

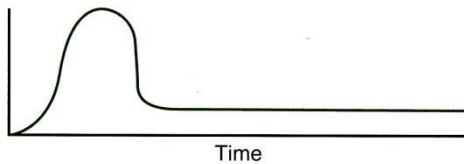
A. Acute infection followed by clearing



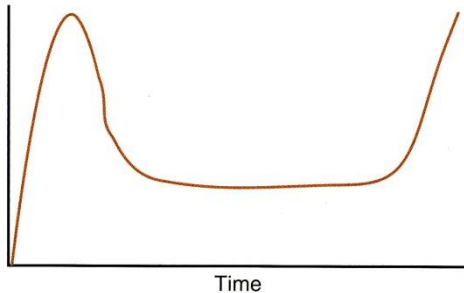
B. Acute infection followed by latent infection and periodic reactivation



C. Acute infection followed by chronic infection



D. Acute infection followed by persistent infection (set point) and virus overproduction (eg. HIV)



A. In molte infezioni il virus scompare dall'organismo e c'è guarigione completa (es. virus influenza, Epatite A).

B. A volte invece l'infezione può diventare persistente latente con periodiche riattivazioni (Es. virus dell'Herpes Simplex).

C. Le infezioni persistenti croniche sono caratterizzate dalla continua presenza del virus, che non scompare dopo la fase acuta, ma continua a replicare, a livelli molto più bassi e per lungo tempo, causando sintomi più leggeri ma in progressiva evoluzione (HBV e HCV).

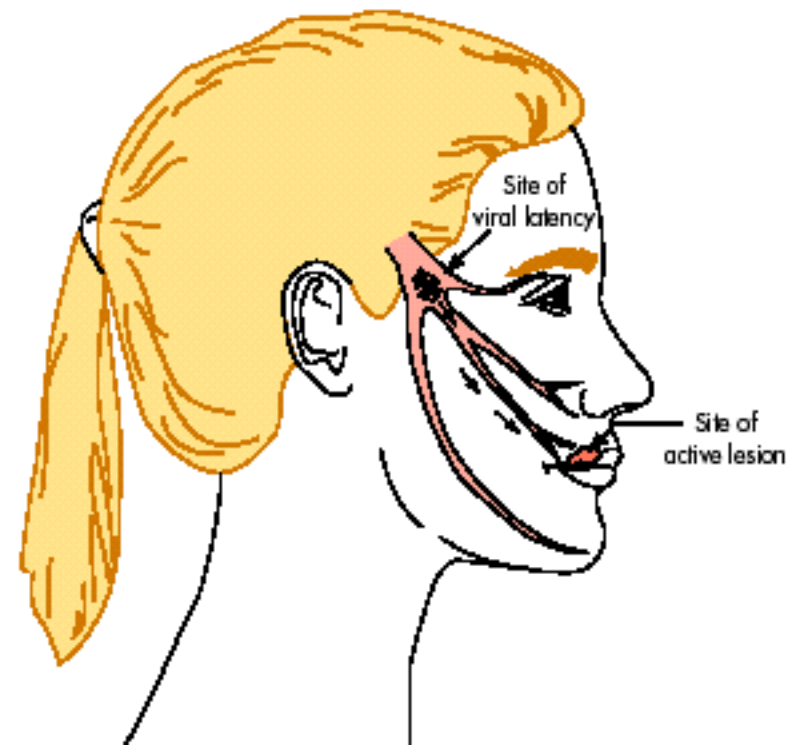
D. Nel caso del virus dell'AIDS, all'infezione acuta segue un'infezione cronica che conduce alla progressiva decurtazione delle cellule immunitarie con conseguente over-produzione virale.

Infezione Latente

Latenza:

Dopo la risoluzione dell'infezione primaria, il virus permane nell'organismo in cellule specifiche, senza replicarsi ed esprimendo solo pochissimi geni virali. In condizioni particolari può riattivarsi, dando luogo alle recidive. Si instaura una infezione acuta produttiva, seguita da nuova latenza.

Es. Virus dell'herpes simplex dopo la guarigione entra in latenza nei gangli nervosi (es. trigemino) e, riattivandosi, causa malattia nella zona innervata



Esito dell'Infezione - 2

In seguito all'infezione con alcuni specifici tipi di virus si possono sviluppare tumori (oncogenesi virale).

Si pensa che circa il 10% dei tumori possono essere associati ad infezione virale

Alcuni virus stabiliscono infezioni persistenti che, a volte, stimolano la cellula a proliferare in modo incontrollato: inibiscono l'apoptosi, attivano geni che causano la divisione cellulare, inattivano proteine che regolano la proliferazione cellulare (oncosoppressori), ecc.

- es. Human T lymphotropic Virus = leucemie
- Papilloma virus = carcinomi della cervice uterina
- Epatite B e C = tumori del fegato
- Virus di Epstein Barr = linfomi
- Herpesvirus umano 8 = Sarcoma di Kaposi.

Meccanismi di oncogenesi virale

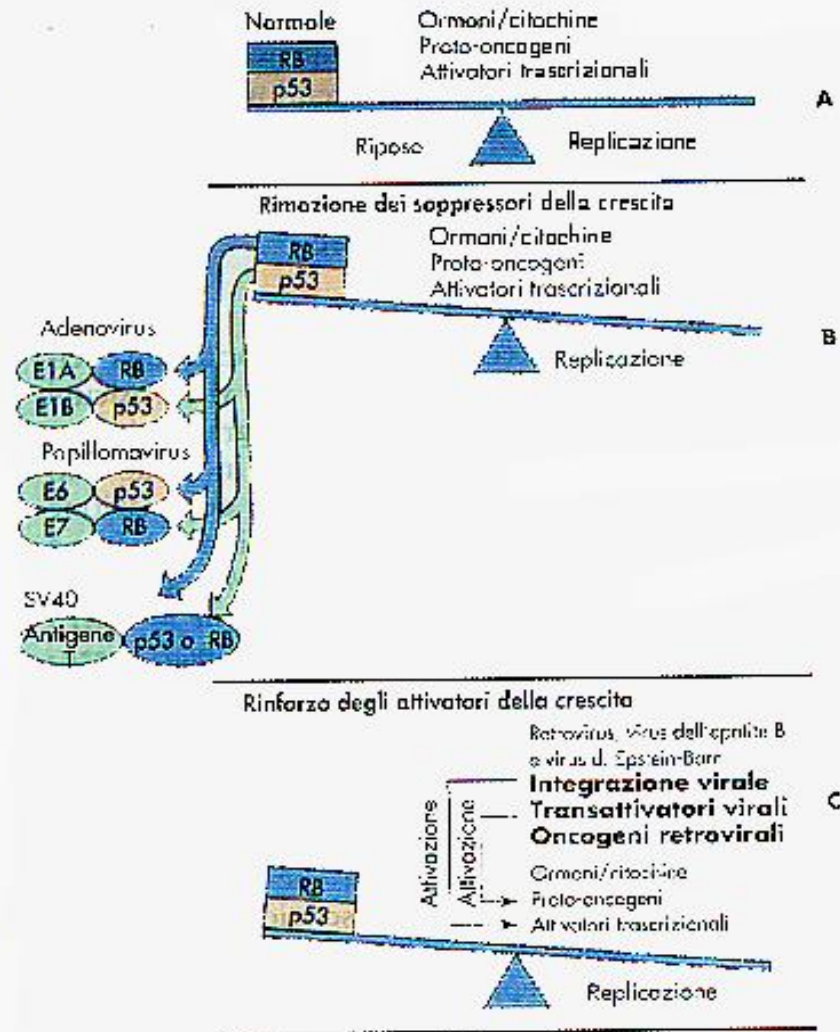


FIGURA 46-2 Meccanismi della trasformazione e della immortalizzazione indotta da virus. La crescita cellulare viene controllata (A) dal bilanciamento fra attivatori della crescita (acceleratori) esterni ed interni e soppressori della crescita quali la p53 ed il prodotto del gene del retinoblastoma (RB) (freni). I virus oncogeni alterano l'equilibrio rimuovendo i freni (B) o aumentando l'effetto degli acceleratori (C).

Esito dell'Infezione - 3

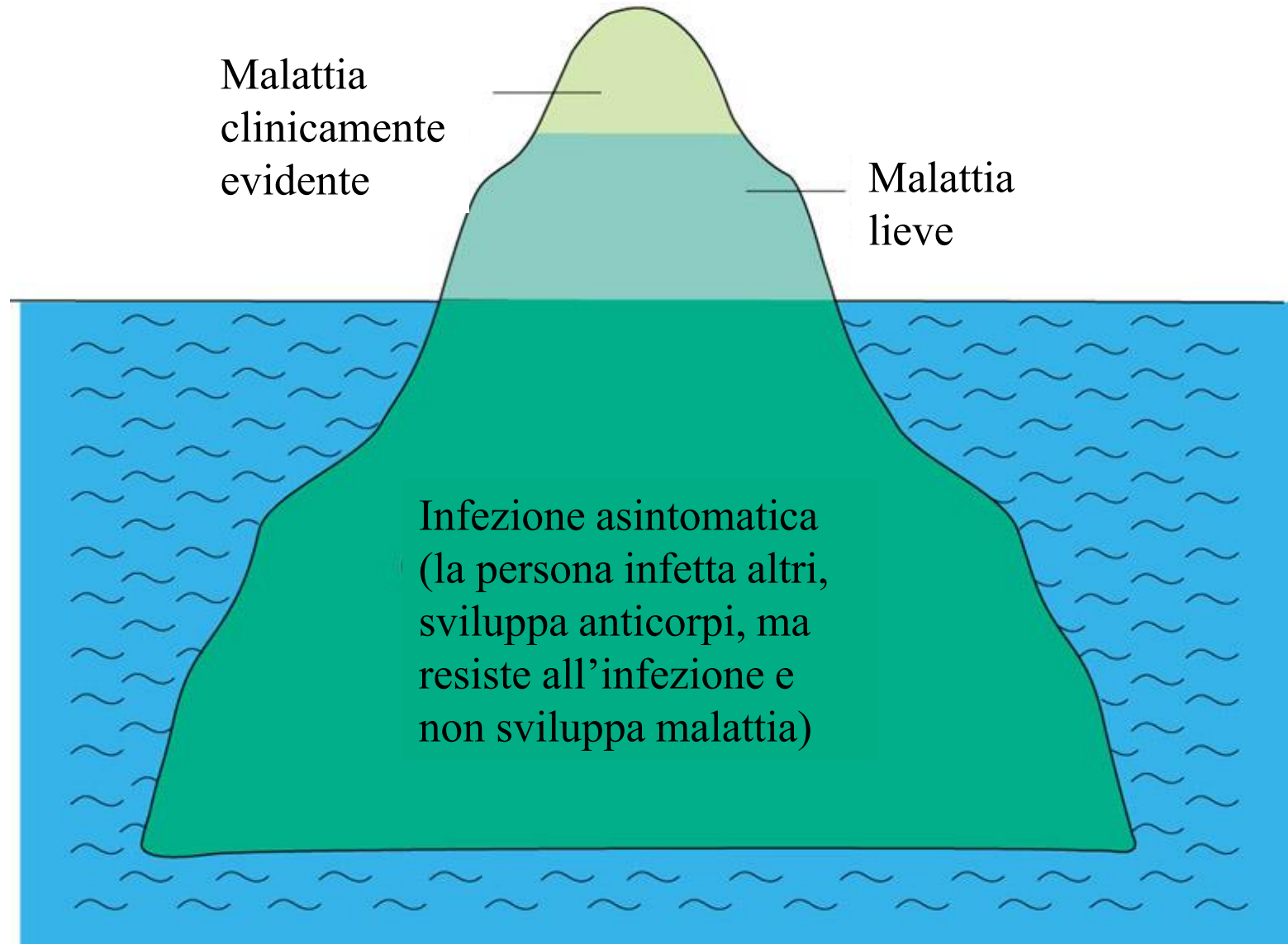
Infezioni Inapparenti o Asintomatiche.

Sono molto comuni infezioni transitorie, che non causano malattie evidenti e sintomi chiari.

Hanno una grande importanza epidemiologica perchè rappresentano una importante fonte di disseminazione del virus; conferiscono immunità. Si verificano quando l'organismo riesce a controllare l'infezione prima che raggiunga l'organo bersaglio, se l'infezione è controllata in tempo rapido, se il livello di danno è inferiore alla soglia funzionale per quel determinato tessuto.

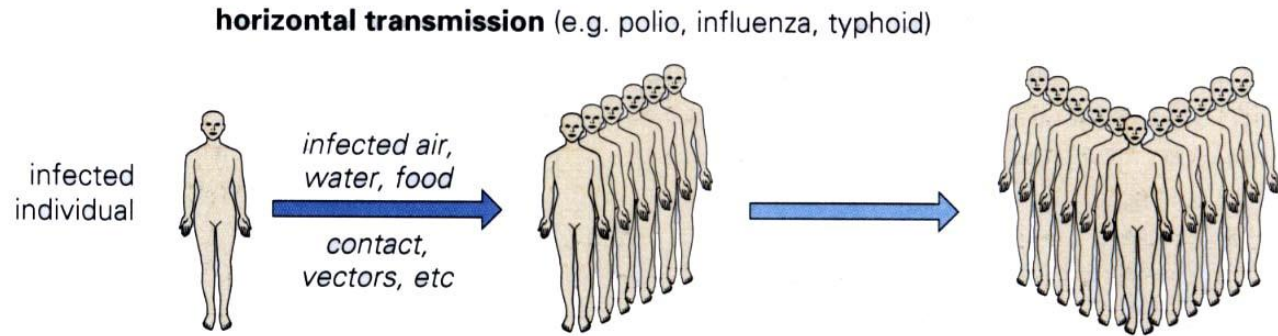
es: oltre il 90% di adulti ha anticorpi contro il virus varicella-Zoster, ma solo la metà di essi ricorda di avere avuto la varicella.

Concetto dell'iceberg delle malattie infettive virali



Vie di Trasmissione delle infezioni

Orizzontale: da ospite a ospite



Respiratoria: virus escreto con starnuti, tosse, ecc. anche se il soggetto è asintomatico. Probabilmente la trasmissione più comune.

Molti virus sono sensibili all'essiccamento è necessario un contatto stretto per la trasmissione. Questo è uno dei motivi per cui le infezioni respiratorie sono più comuni d'inverno, quando molte persone affollano luoghi chiusi.

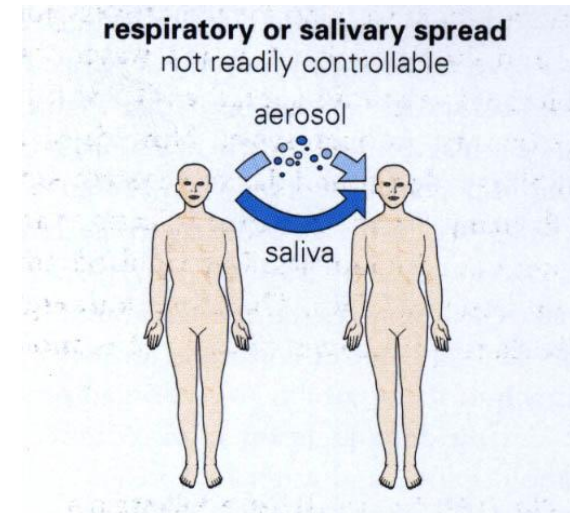
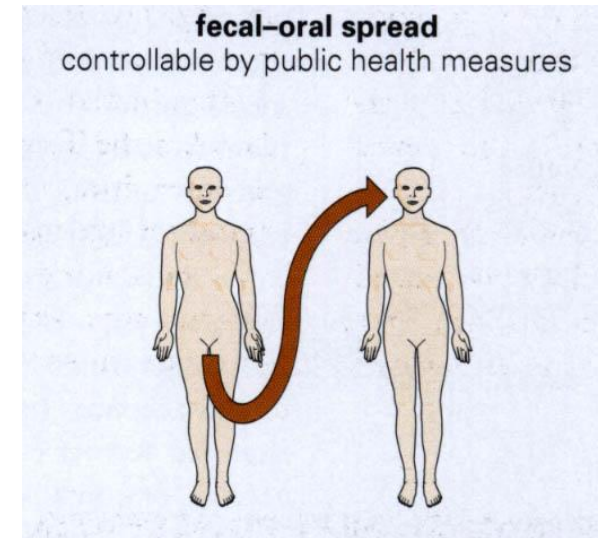




Fig. 8.15 Droplet dispersal following a violent sneeze. Most of the 20 000 particles seen are coming from the mouth. (Courtesy of the American Association for the Advancement of Science.)

Oro-fecale: Altra comune causa di trasmissione.

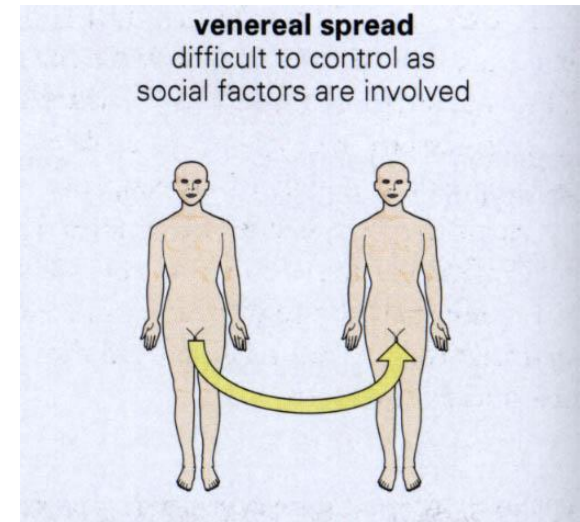
La resistenza del virus alla inattivazione nel tratto gastrointestinale è correlato alla sua struttura. Gli enterovirus hanno un capsido nudo, e non sono inattivati dalla bile, che distrugge l'envelope virale. Il loro capsido proteico è anche resistente a pH acido e alle proteasi intestinali.



I virus che infettano il tratto gastrointestinale possono venire escreti per alcune settimane .
Il paziente rimane infettante anche dopo la malattia (portatore asintomatico)

Venerea :

es AIDS, herpes (simplex e HHV8),
epatite, condilomi. Lacerazioni e
piccole lesioni della mucosa facilitano
la trasmissione.



Cutanea:

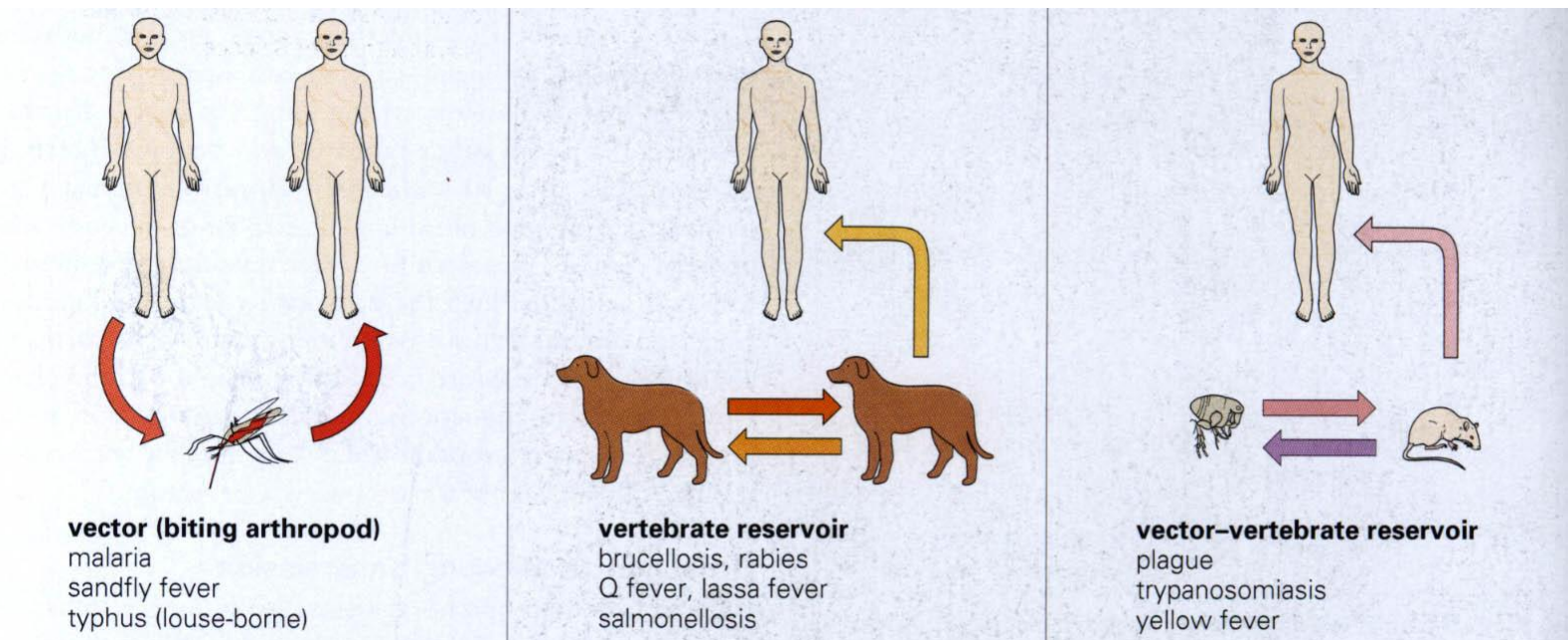
Abrasioni meccaniche degli strati superficiali del derma facilitano l'infezione. Interessa pochi virus (papilloma, mollusco contagioso [poxvirus]).

Parenterale :

Nel caso di infezioni virali che evidenziano una consistente presenza di virus nel sangue. Trasmissione mediante **siringhe** e contaminazione con sangue infetto

Zoonosi:

Trasmesse da artropodi (Morsi di insetti) o mammiferi (infezioni zoonotiche: infezioni il cui ospite naturale sono animali, e l'uomo rappresenta un ospite terminale.)



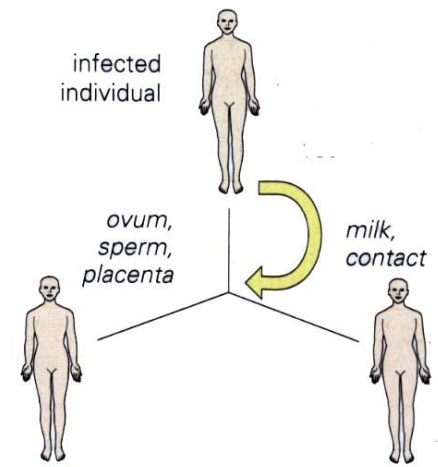
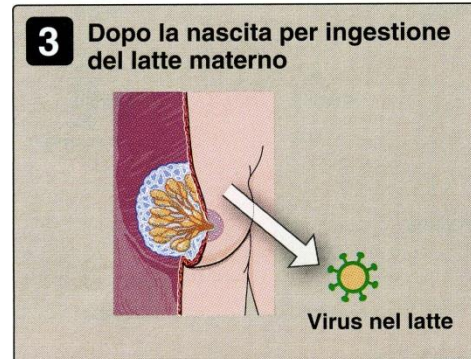
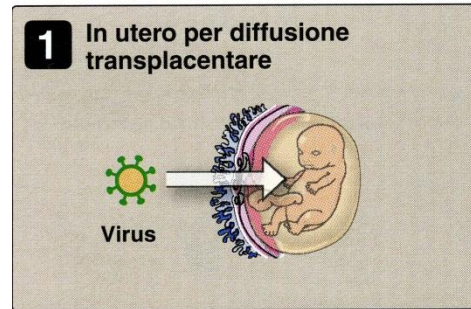
Trasmissione Verticale: da madre a figlio

Transplacentare =
causa infezioni congenite
(es HIV, rosolia,
citomegalovirus, HSV-1 e
2).

Perinatale =

acquisita mentre il feto
attraversa il canale del
parto infettato

Può anche esserci
infezione durante
l'allattamento = es HIV può
essere trasmesso col latte
materno.



Barriere naturali (1)

L'ospite ha diverse barriere naturali all'infezione virale. Esse rappresentano la prima linea di difesa che ha il compito di prevenire o limitare l'infezione.

Pelle

La pelle funziona come una formidabile barriera contro molti virus e solo dopo che tale barriera viene lesionata i virus sono in grado di infettare l'ospite.

Mancanza di recettori di membrana

I virus entrano nelle cellule dell'ospite attraverso il legame di specifici recettori. Lo spettro d'ospite di un virus dipende dalla presenza di questi recettori. Pertanto se un ospite manca del recettore per un determinato virus o se le cellule dell'ospite non hanno alcuni componenti essenziali alla sua replicazione l'ospite risulta naturalmente resistente all'infezione da parte di quel virus. Es: i topi mancano dei recettori per i poliovirus e pertanto sono ad essi resistenti. Gli esseri umani sono naturalmente resistenti ai virus delle piante e a molti virus animali.

Muco

Il muco che ricopre l'epitelio funziona come una barriera che impedisce l'infezione. In alcuni casi si limita a questa funzione meccanica, ma in altri casi può prevenire l'infezione competendo con il virus per i recettori cellulari. Ad es. ortomixovirus e paramixovirus infettano le cellule dell'ospite attraverso il legame con il loro recettore che è l'acido sialico. Nel muco sono presenti glicoproteine che contengono l'acido sialico che possono competere con i recettori cellulari e diminuire o prevenire l'attacco del virus alla cellula.

Barriere naturali (2)

Epitelio ciliato

Attraverso il movimento delle cilia l'epitelio ciliato può diminuire l'infettività di alcuni virus. Questo meccanismo è importante nelle infezioni respiratorie: infatti quando l'attività di tale sistema è inibita da farmaci, dal catrame contenuto nel fumo di sigarette o da infezioni concomitanti, aumenta la percentuale di infezione per una determinata dose di virus.

Basso pH

L'acidità delle secrezioni gastriche inattiva molti virus. Tuttavia, gli enterovirus sono resistenti alle secrezioni gastriche e quindi possono sopravvivere e replicare nello stomaco.

Barriere indotte

I cambiamenti che avvengono nell'ospite in risposta all'infezione possono contribuire a diminuire l'infettività del virus.

Febbre

La febbre può aiutare ad inibire la replicazione virale attraverso il potenziamento di altre difese immuni e diminuendo le capacità replicative del virus (la replicazione di molti virus è ridotta a temperature superiori a 37°C).

Basso pH

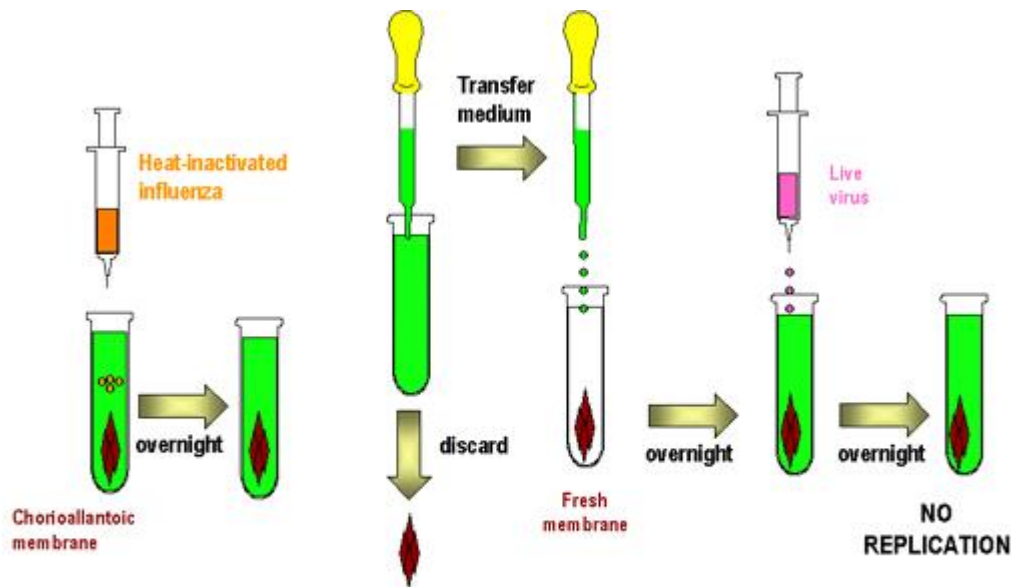
Anche l'infiltrato infiammatorio è acido e può aiutare a limitare l'infezione inattivando il virus.

Difese non specifiche

Diverse componenti umorali del sistema immunitario funzionano come difese non specifiche all'infezione virale. Alcune di queste sono costitutivamente presenti mentre altre sono indotte dall'infezione.

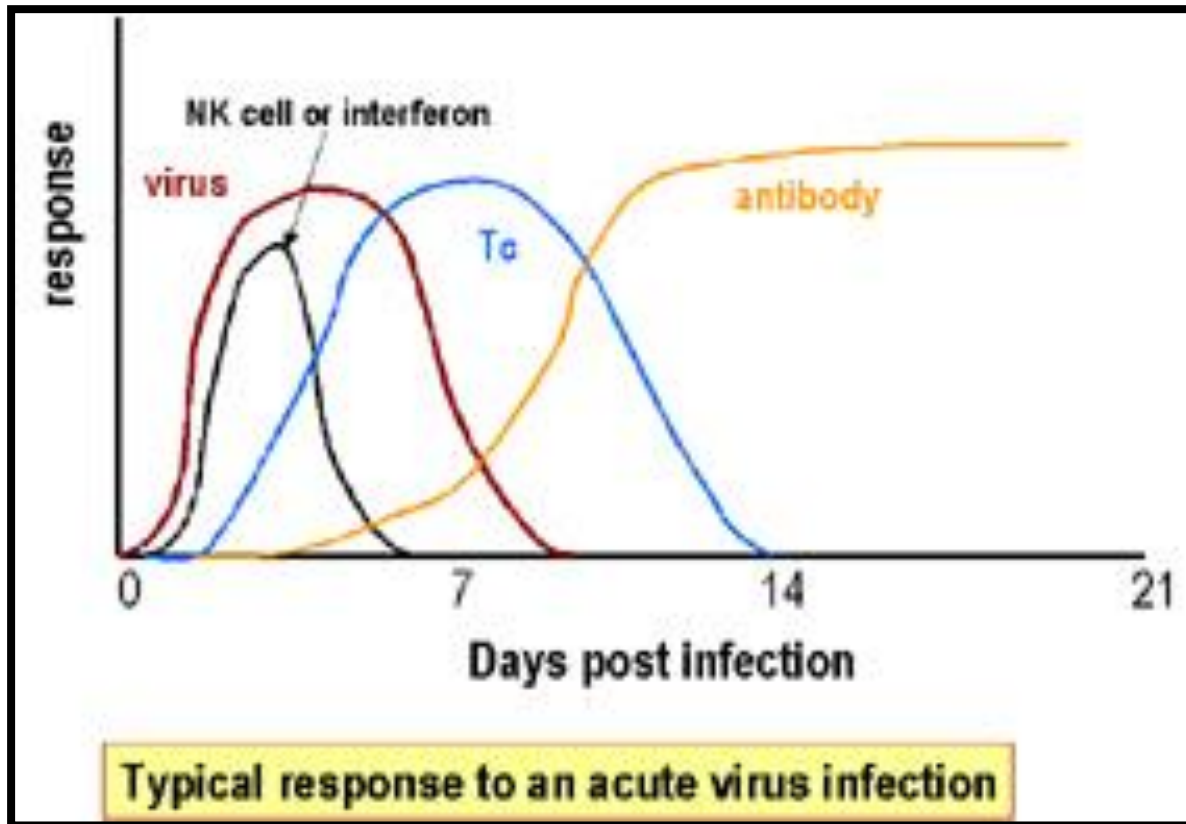
Interferone (IFN)

IFN è stato scoperto più di 40 anni fa da Isaacs and Lindemann che mostrarono che il supernatante di cellule infettate da virus conteneva una proteina in grado di conferire resistenza all'infezione virale alle altre cellule. Questa sostanza NON agisce direttamente sul virus ma piuttosto sulla cellula per renderla resistente all'infezione.



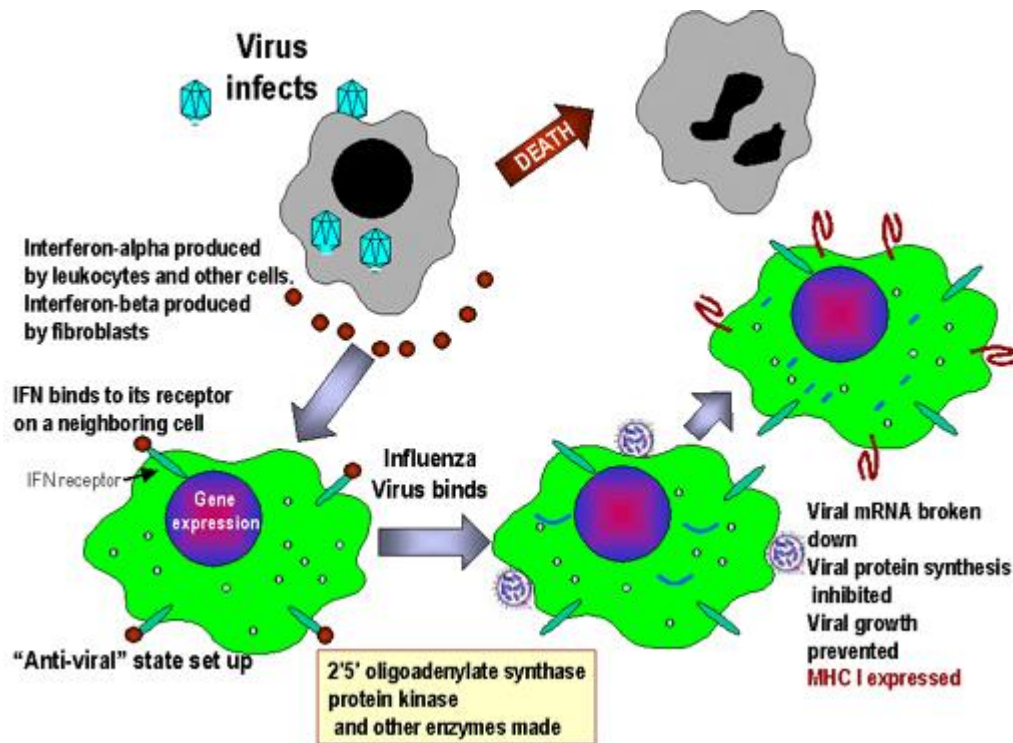
The Discovery of Interferon

From Isaacs and Lindenmann, Proc. Roy Soc B, 1957



IFN è una delle prime linee di difesa contro le infezioni virali perché è indotto precocemente dal virus e prima che compaiano altre difese (anticorpi, linfociti T citotossici ecc.). Il tempo di comparsa dell'IFN può variare in funzione della carica virale.

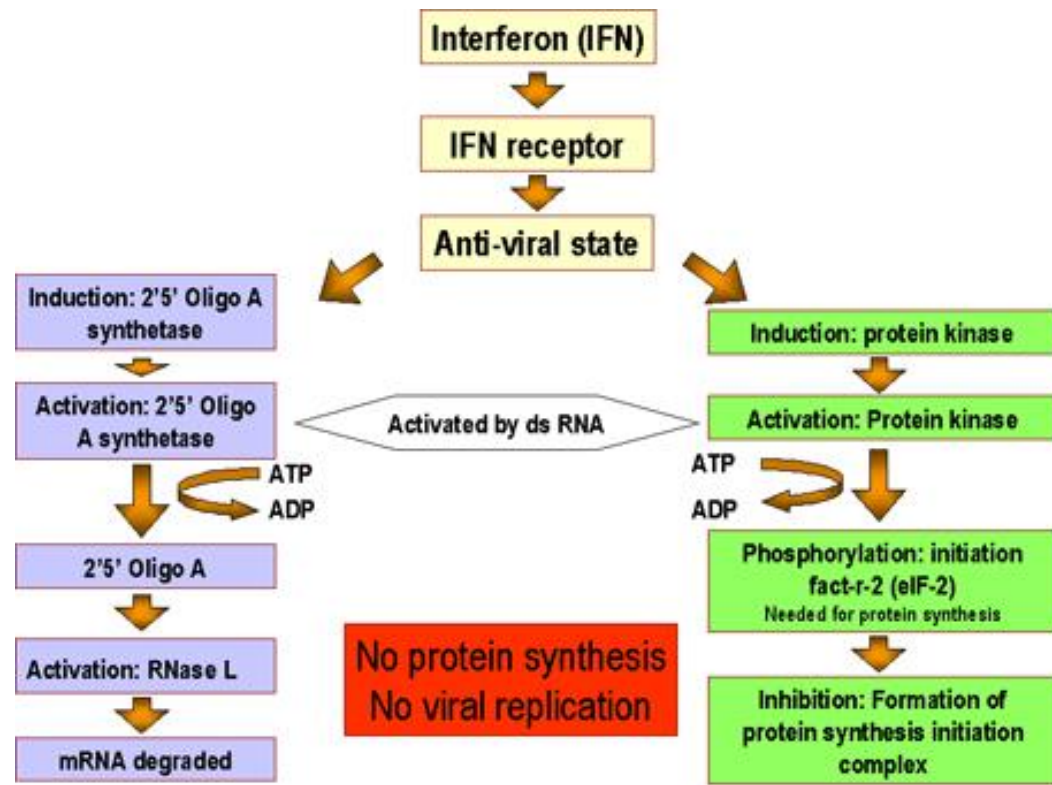
Eventi cellulari dell'induzione degli IFNs



I geni per gli IFN non sono normalmente espressi nella cellula perché viene prodotto un repressore (labile, proteico) che si lega al promotore ed inibisce la trascrizione. In aggiunta, la trascrizione dei geni richiede anche che una proteina-attivatore si leghi alla regione del promotore.

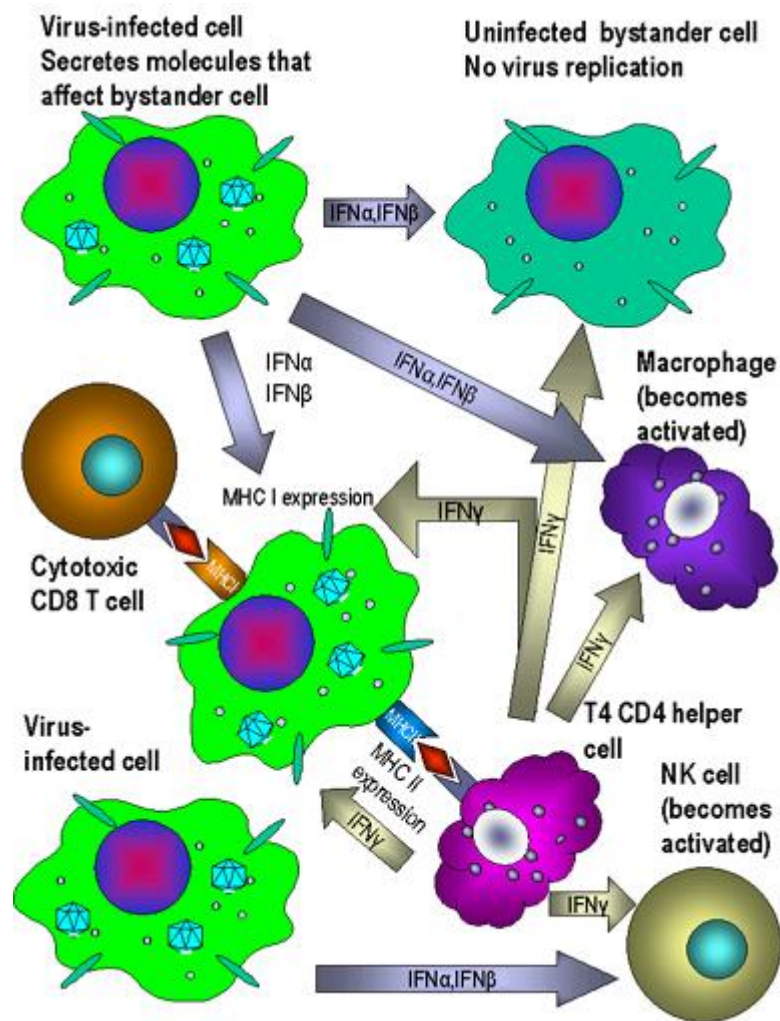
Gli induttori di IFN agiscono sia prevenendo la sintesi del repressore sia aumentando il livello della proteina attivatore. Quando l'induttore non è più disponibile, il gene IFN viene "spento" dalla proteina-repressore e/o dalla mancanza della proteina-attivatore. Quando il gene è attivo, viene trascritto, gli mRNA vengono tradotti ed i prodotti proteici secreti dalla cellula. L'IFN si potrà legare a recettori specifici sulle cellule vicine ed indurre in esse uno stato antivirale.

Eventi cellulari in seguito alla produzione di IFN



Il legame IFN-recettore induce la trascrizione di un gruppo di geni che codificano per proteine antivirali coinvolte nella prevenzione della replicazione virale nella cellula. Come conseguenza la cellula sarà protetta dall'infezione da parte del virus sino a quando le proteine antivirali non saranno degradate, processo che richiede diversi giorni. Lo stato antivirale IFN-indotto nelle cellule si manifesta con la sintesi di 2 enzimi in grado di inibire la sintesi proteica virale.

Un enzima blocca la sintesi proteica indirettamente distruggendo l'mRNA virale (2' 5' Oligo Adenilatosintetasi) l'altro (una protein chinasi) direttamente inibendo l'allungamento della catena peptidica. Sebbene la cellula infettata può morire come conseguenza dell'inibizione della sintesi proteica dell'ospite, l'infezione viene bloccata. Le cellule non infettate non vengono uccise dal trattamento con IFN in quanto l'attivazione dei due enzimi antivirali richiede RNA a doppia elica che la cellula non possiede. Alcuni virus sembrano eludere gli effetti antivirali dell'IFN. Ad es. gli adenovirus producono un RNA che previene l'attivazione della protein chinasi da parte di RNA a doppia elica riducendo di fatto l'effetto antivirale dell'IFN.



IFN ha anche altri effetti sulle cellule, alcuni dei quali contribuiscono indirettamente alla capacità dell'ospite di resistere o di sopravvivere all'infezione virale. Ad es. IFN può aiutare a modulare la risposta immune attraverso il suo effetto sulle molecole MHC di Classe I e Classe II. IFN-alpha, IFN-beta and IFN-gamma aumentano l'espressione delle molecole di Classe I promuovendo il riconoscimento delle cellule infettate da parte delle cellule Tc. IFN-gamma può inoltre aumentare l'espressione delle molecole MHC di Classe II sulle cellule presentanti l'ATG facilitando così il riconoscimento dell'ATG alle cellule CD4+ T helper. In più IFN-gamma può attivare le cellule NK che possono uccidere le cellule infettate. Gli IFNs inoltre attivano le attività antivirali intrinseche (capacità di resistere all'infezione virale) ed estrinseche (capacità di uccidere altre cellule infettate dal virus) dei macrofagi. Gli IFNs hanno anche attività antiproliferativa.

Risposta dell'ospite all'infezione virale

All'inizio intervengono difese innate (non specifiche):

Barriere meccaniche (pelle, mucosa)

Barriere chimiche (lacrime, saliva, acidi, muco)

Fagociti (macrofagi, neutrofili attivati)

Cellule NK (rilasciano sostanze citolitiche)

Risposta infiammatoria

INTERFERON

In seguito si sviluppa la risposta adattativa (specifica):

-Produzione di anticorpi neutralizzanti

-immunità cellulo-mediata

- lisi delle cellule infettate mediata dal complemento

Tipi e proprietà di IFN

Proprietà	Interferon		
	Alfa	Beta	Gamma
Precedente designazione	Leukocyte IFN Tipo I	Fibroblast IFN Tipo I	Immune IFN Tipo II
Geni	>20	1	1
pH2 stabilità	Stabile	Stabile	Labile
Induttori	Virus (RNA>DNA) dsRNA	Virus (RNA>DNA) dsRNA	Antigeni, Mitogeni
Principale sorgente	Leucociti, Epitelio	Fibroblasti	Linfociti

Ci sono principalmente tre tipi di interferone, IFN-alfa, IFN-beta (IFNs di Tipo I) e IFN-gamma (IFN di Tipo II). Ci sono circa 20 sottotipi di IFN-alfa ma solo un IFN-beta e un IFN-gamma. Le cellule normali non contengono IFN preformato e non lo secernono costitutivamente. Questo perché la trascrizione dei geni per gli IFN avviene solo dopo l'esposizione della cellula ad un determinato induttore. Gli induttori di IFN-alfa e IFN-beta includono l'infezione virale, RNA a doppia elica, LPS, e alcune componenti batteriche. Tra i virus, i virus a RNA sono i migliori induttori mentre i virus a DNA inducono scarsamente la produzione di IFN ad eccezione dei poxvirus. Gli induttori di IFN-gamma comprendono mitogeni ed antigeni (es. tutto ciò che attiva i linfociti).

Gli Interferon sono una famiglia di proteine che differiscono per origine, dimensioni, proprietà, modalità d'azione.

Non sono proteine virus-specifiche: l'IFN indotto da un virus è attivo anche contro altre specie virali.

Sono specie-specifiche: es. IFN di cavia non protegge l'uomo

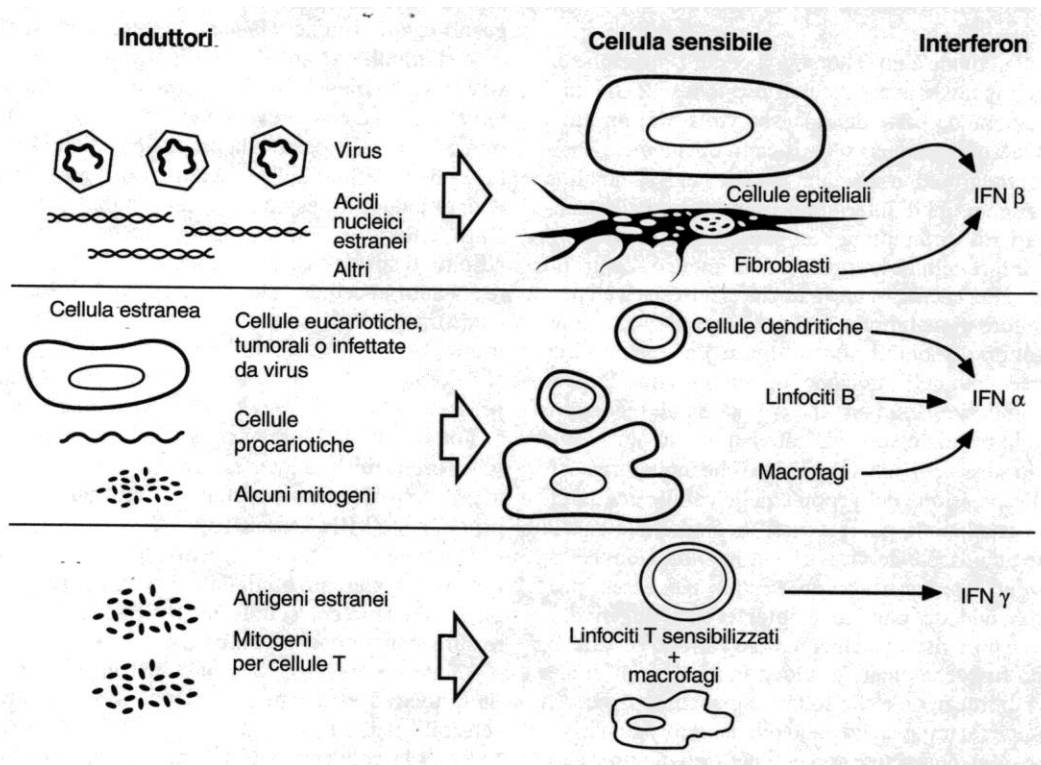
EFFETTI:

Previene la replicazione virale IN CELLULE NON ANCORA INFETTATE

attiva la risposta immune

aumenta il riconoscimento delle cellule infettate da parte dei linfociti T

causa molti dei sintomi aspecifici (mialgia, febbre, brividi, ecc.) associati alle infezioni virali

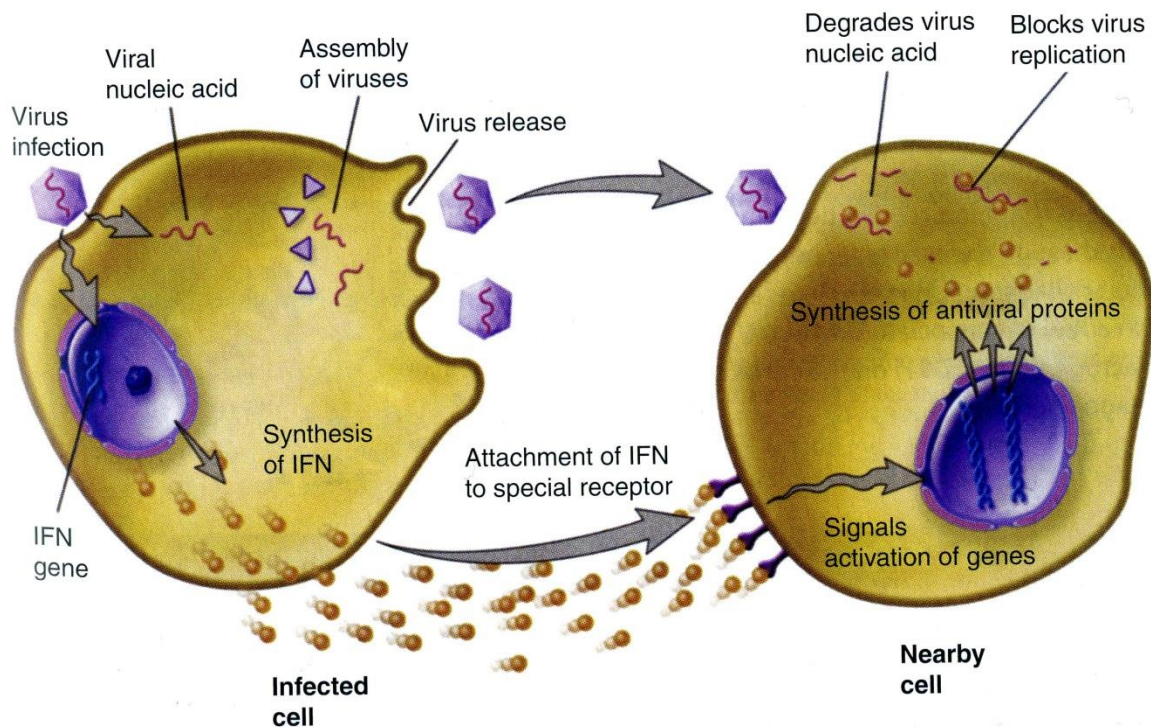


I principali tipi di interferone sono tre:

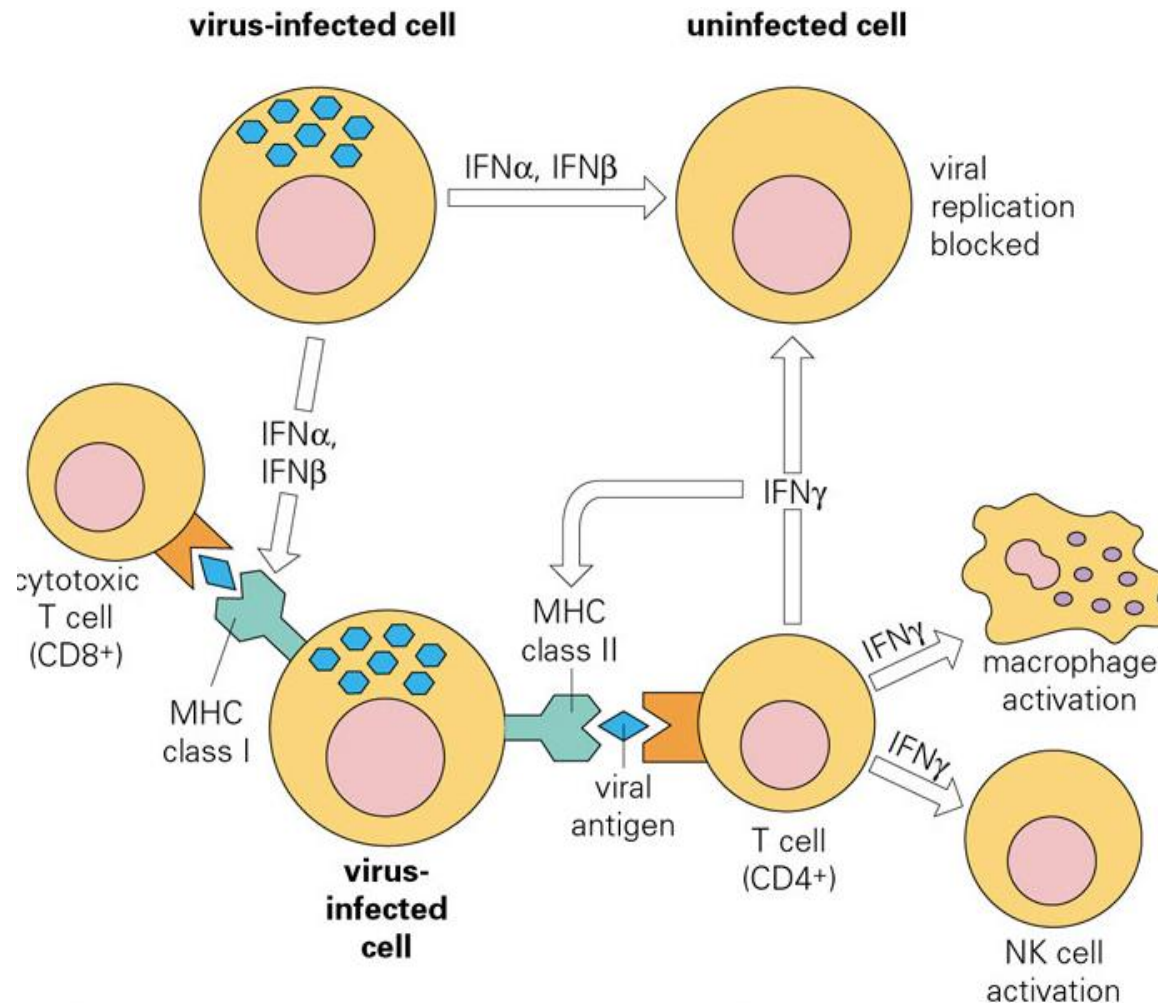
IFN α = prodotto da cellule dendritiche e linfociti B quando sono a contatto con cellule estranee (batteriche, tumorali, infettate da virus).

IFN β = Prodotto da cellule epiteliali, fibroblasti e macrofagi dopo contatto con acidi nucleici virali (soprattutto RNA a doppia elica)

IFN γ = prodotto da linfociti T sensibilizzati in seguito a contatto con antigeni e mitogeni. Necessaria la presenza di macrofagi.



Gli IFN α e β , prodotti dalle cellule infettate dal virus in scarsa quantità, reagiscono con recettori presenti sulle membrane citoplasmatiche o nucleari, inducendo le cellule non infettate a produrre mRNA per la sintesi di proteine antivirali (AVP). Queste proteine sono enzimi che interrompono diversi stadi della replicazione virale. Ad esempio, una di queste AVP è una oligoadenilato sintetasi che degrada l'mRNA virale; un'altra è una protein chinasi che inibisce la sintesi di proteine virali.



Gli IFN aumentano anche l'espressione degli antigeni di istocompatibilità (MHC) con conseguente aumento dell'attività dei linfociti citotossici ed attivazione di macrofagi e di cellule NK

L'IFN γ è prodotto dai linfociti stimolati da antigeni, mitogeni, agenti ossidanti. L'IFN γ ha un'attività antivirale più debole e più lenta rispetto agli IFN α e β , ma una maggiore attività immunomodulante. Inoltre è capace di potenziare l'azione degli altri IFN e di inibire altri tipi di microrganismi intracellulari, quali Rickettsie ed alcuni protozoi.

Gli IFN sembrerebbero le sostanze antivirali ideali.

In realtà gli IFN prodotti mediante biotecnologia:

- 1) hanno effetto solo per brevi periodi;**
- 2) bisogna somministrarne quantità abbastanza grandi, per cui si hanno diversi effetti collaterali.**

Comunque, vengono utilizzati nel trattamento di alcune infezioni virali (es. epatite C) e anche di alcune malattie non infettive (es. sclerosi multipla)

Profilassi e terapia delle infezioni virali

La lotta contro le infezioni virali può essere condotta attraverso varie strategie:

- 1) impedendo le infezioni mediante opere di bonifica che eliminino il virus dall'ambiente;**
- 2) contrastando la replicazione del virus nei soggetti infetti attraverso la somministrazione di farmaci antivirali;**
- 3) rendendo la popolazione resistente all'infezione ed alla malattia mediante immunoprofilassi passiva (immunoglobuline) o attiva (vaccini).**

FARMACI ANTIVIRALI

Paradosso: *gli organismi più semplici sono i più difficili da controllare*

Difficoltà maggiore: differenziazione fra meccanismi replicativi virali e cellulari

Farmaco ideale: interrompe la replicazione virale in un punto SPECIFICO ed ESSENZIALE del ciclo replicativo virale senza influenzare il normale metabolismo cellulare.

I bersagli migliori sono funzioni uniche del virus, che non hanno controparti cellulari.

Es. DNA polimerasi per herpesvirus (acyclovir); proteine virali per l'influenza (Tamiflu); retrotrascrittasi e proteasi per HIV (AZT); ecc
Comunque i virus possono mutare e sviluppare resistenza ai farmaci

La maggior parte dei farmaci antivirali approvati dalla Food and Drug Administration negli Stati Uniti sono analoghi nucleosidici che inibiscono le polimerasi virali.

Questi farmaci sono in genere attivati dalla fosforilazione da parte di chinasi cellulari o virali.

TABELLA 50-2. Alcune terapie con farmaci antivirali approvati dalla Food and Drug Administration degli Stati Uniti

Virus	Farmaco antivirale	Nome commerciale
Virus dell'Herpes simplex e virus della varicella-zoster	Aciclovir*	Zovirax
	Valaciclovir*	Valtrex
	Penciclovir	Denavir
	Famciclovir*	Famvir
	Iododeossiridina (idossiridina) [†]	Stoxil
	Trifluoridina	Viroptic
Citomegalovirus	Ganciclovir	Cytovene
	Valganciclovir	Valcyte
	Cidofovir	Vistide
	Fosfonoformato (foscarnet)	Foscavir
Virus dell'immunodeficienza acquisita		
Analoghi nucleosidici inibitori della trascrittasi inversa	Azidotimidina (zidovudina)	Retrovir
	Dideossinosina (didanosina)	Videx
	Dideossicitidina (zalcitabina)	Hivid
	Stavudina (d4T)	Zerit
	Lamivudina (3TC)	Epivir
	Nevirapina	Viramune
Inibitori non-nucleosidici della trascrittasi inversa	Delavirdina	Rescriptor
	Saquinavir	Invirase
	Ritonavir	Norvir
Inibitori delle proteasi	Indinavir	Crixivan
	Nelfinavir	Viracept
	Enfuvirtide	Fuzeon
Inibitore della fusione		
Virus dell'influenza A	Amantadina	Symmetrel
	Rimantadina	Flumadine
Virus dell'influenza A e B	Zanamivir	Relenza
	Oseltamivir	Tamiflu
Virus dell'epatite B	Lamivudina	Epivir
	Adefovir dipivoxil	Hepsera
Virus dell'epatite C	Interferone- α + ribavirina	
Papillomavirus	Interferone- α	
Virus respiratorio sinciziale, virus di Lassa	Ribavirina	Virazole
Picornavirus	Pleconaril	

*Attivo anche contro il virus della varicella-zoster.

[†]Solo per uso terapeutico.

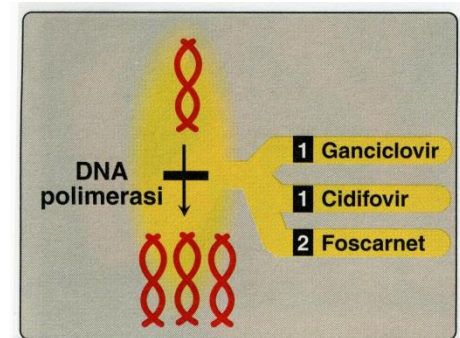


Figura 25.17

Terapia farmacologica nelle infezioni da citomegalovirus.

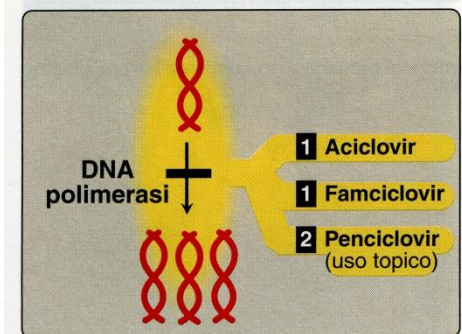


Figura 25.8

Terapia farmacologica nell'infezione da herpes simplex.

Meccanismo dell'azione selettiva di ACV su HSV e VZV:

1. fosforilazione specifica ad opera di una timidina chinasi (TKV) virale: la sola che è in grado di trasformare ACV in ACV-MP.

Sulla forma monofosforilata intervengono chinasi cellulari che formano ACV-TP

2. alta affinità per la DNA polimerasi virale
3. incorporazione di ACV-TP nella catena nascente di DNA virale e terminazione della catena di neosintesi (manca l' OH in 3')
4. inattivazione selettiva, irreversibile, della DNA polimerasi virale

ACV in circolo ha emivita breve: sono stati sviluppati diversi derivati (es: valaciclovir e famciclovir) con maggiore biodisponibilità e stabilità.

Sviluppo di ceppi resistenti (mutazione nella Timidina Chinasi virale)

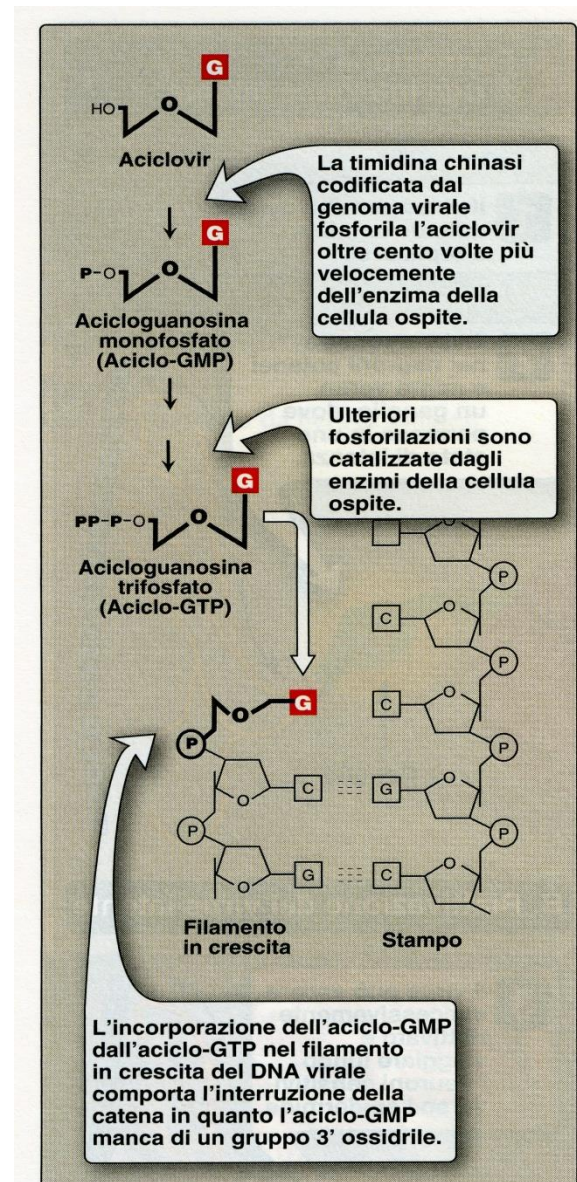
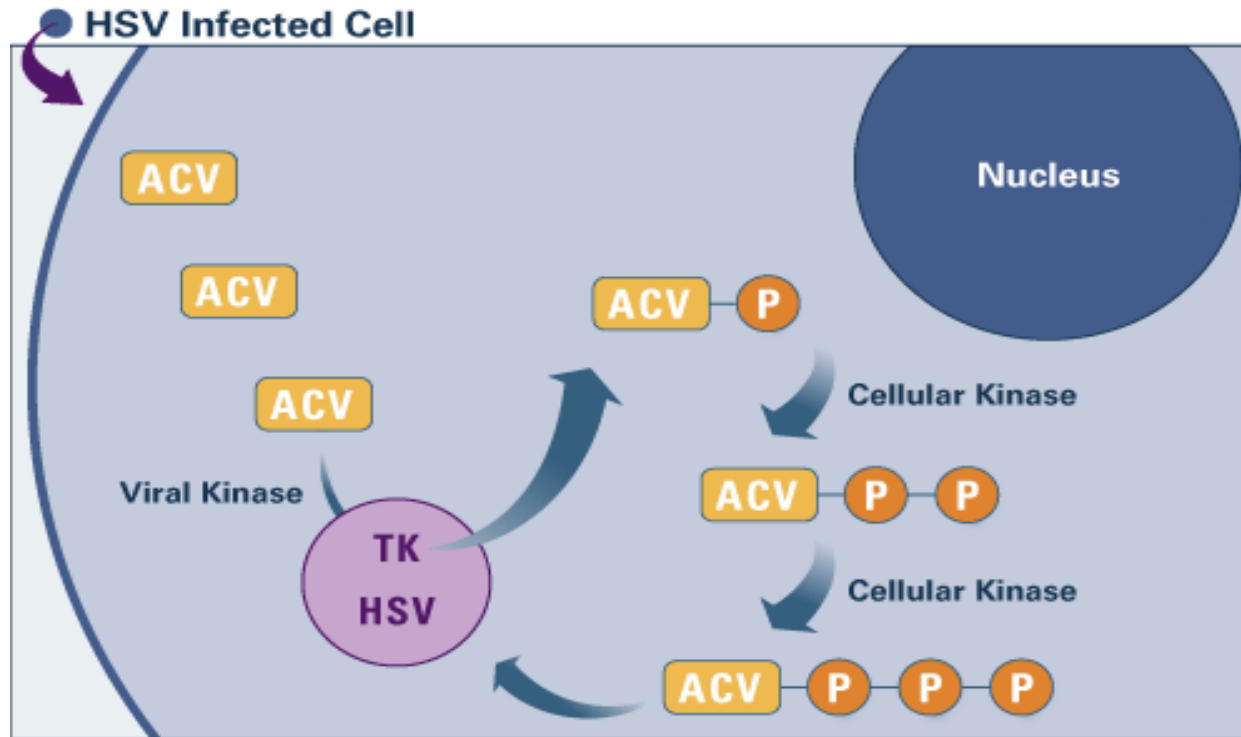


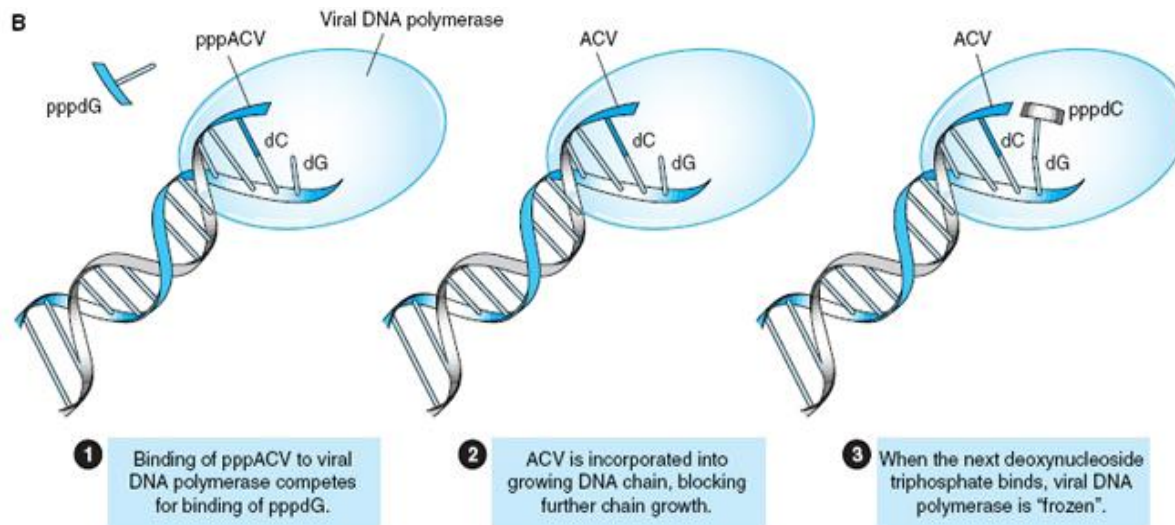
Figura 25.7
Meccanismo d'azione dell'aciclovir.

Inibizione replicazione



Meccanismo d'azione di acyclovir

Il farmaco è fosforilato dalla timidina chinasi del virus herpes simplex o varicella-zoster, formando ACV monofosfato. Enzimi cellulari intervengono sul monofosfato formando il trifosfato. L'ACV-ppp lega la citosina, con binding competitivo verso la guanina, viene incorporato nella catena nascente, rendendo impossibile l'elongazione (manca l'ossidril necessario). La polimerasi viene inibita irreversibilmente quando tenta di elongare la catena nascente.



NOTA BENE: Attività in vitro diversa da efficacia clinica

DETERMINAZIONE DELL'EFFICACIA CLINICA DI UN FARMACO ANTIVIRALE

Molte sostanze mostrano attività antivirale "in vitro", ma poi si rivelano inapplicabili dal punto di vista terapeutico.

- Valutazione attività antivirale "in vitro":
 - su diversi tipi cellulari
 - con inoculi e isolamenti diversi
 - con diversi trattamenti (es. continuo/intermittente)
- Valutazione della tossicità cellulare; indice terapeutico
- Paragone con altri composti; studio del meccanismo d'azione.

Studio in modelli animali:

- via di somministrazione: assorbimento e biodisponibilità
- farmacocinetica, escrezione, stabilità
- capacità di raggiungere l'organo bersaglio con concentrazioni adeguate
- tossicità e massima dose tollerata.



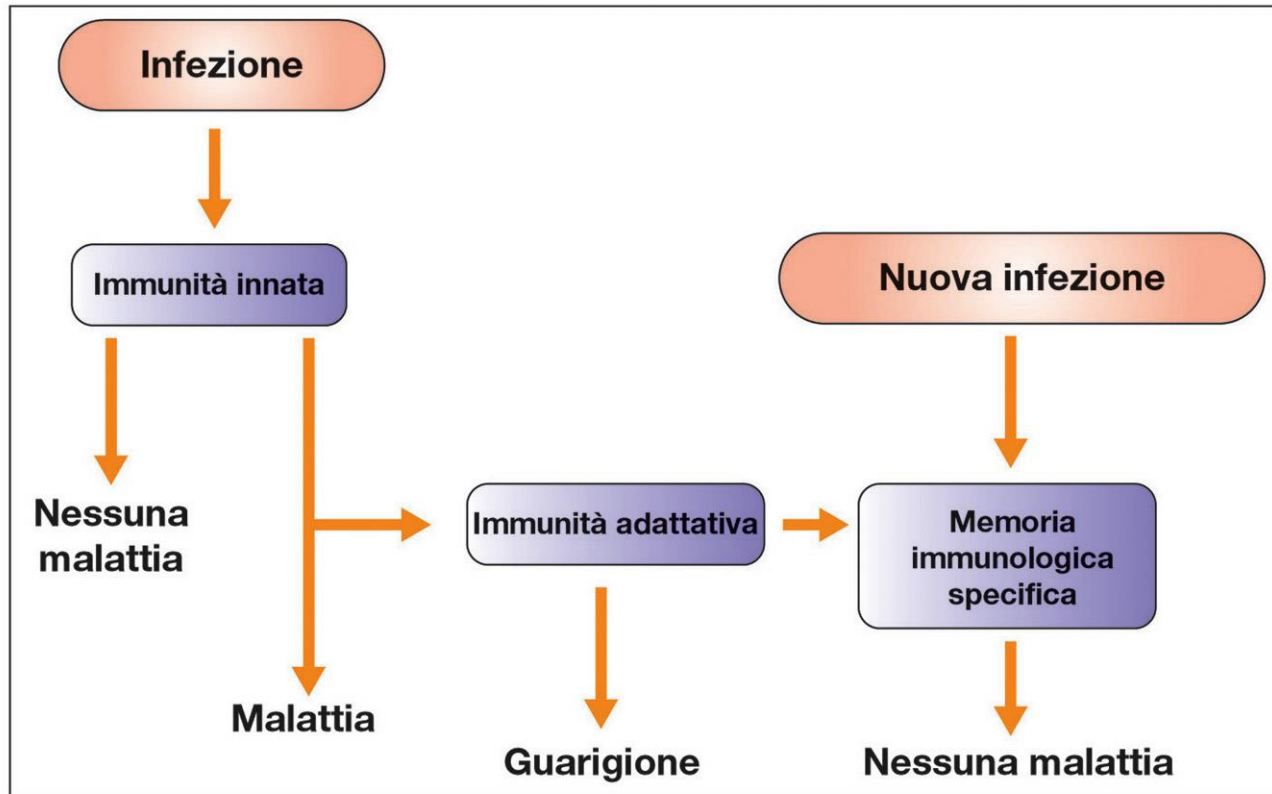
Pilot trials (fase 1)

Determinazione farmacocinetica, escrezione, tollerabilità, ecc. nell' uomo

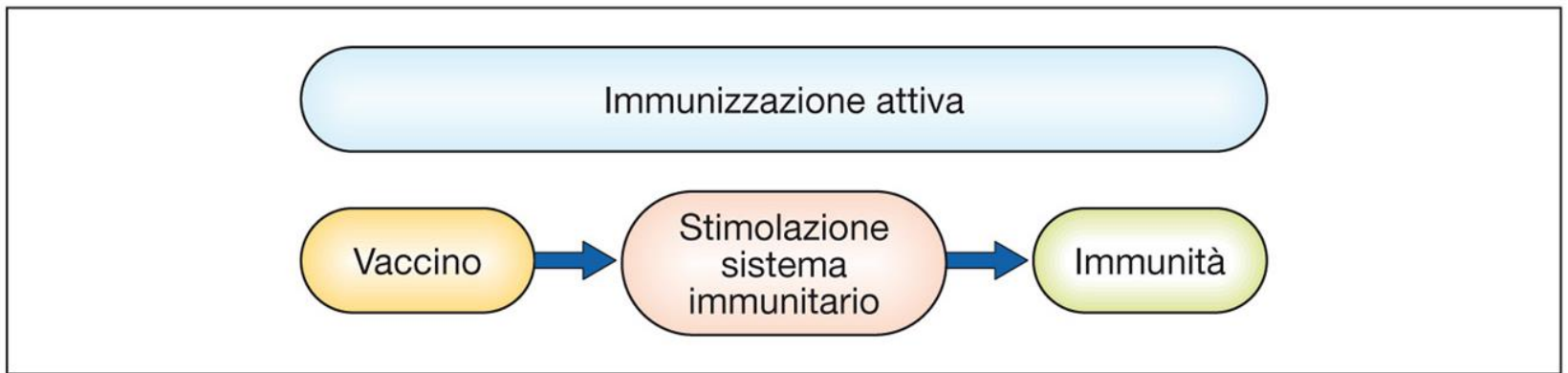


Trials clinici controllati, in doppio cieco

Immunizzazione da infezione naturale



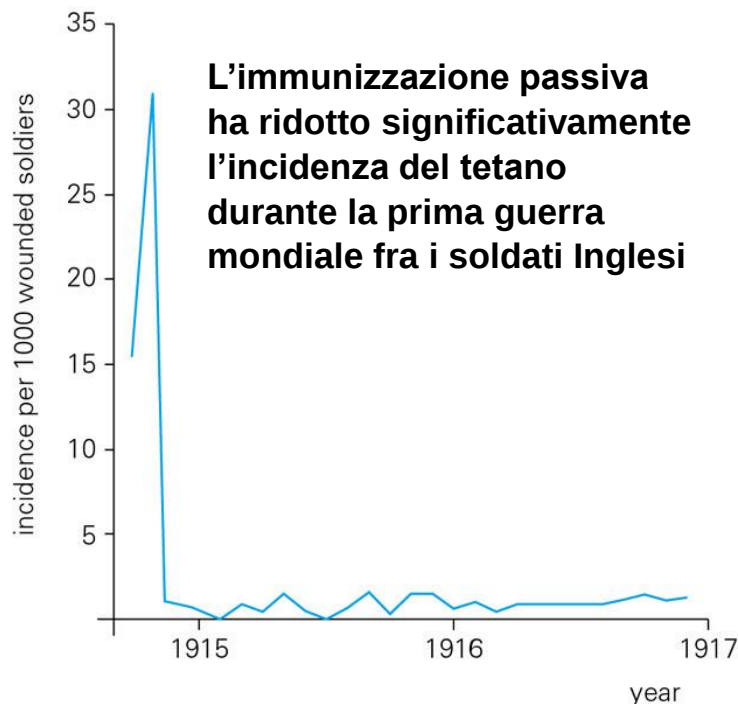
Immunizzazione in seguito a vaccinazione



Immunizzazione Passiva

Mediante sieri o anticorpi purificati. Si pratica a scopo terapeutico dopo l'esposizione all'agente patogeno, o in pazienti già malati; oppure a scopo protettivo (profilassi) in individui con alto rischio di infettarsi (es. turisti).

I neonati sono immunizzati passivamente, con gli anticorpi materni passati attraverso la placenta o presenti nel latte. Dura circa 6 mesi dalla nascita (a volte fino a 1 anno).



SPECIFIC PASSIVE IMMUNOTHERAPY WITH ANTIBODY		
infection	source of antibody	indication
diphtheria	human, horse	prophylaxis, treatment
tetanus	human, horse	
varicella-zoster	human	treatment in immunodeficiencies
gas gangrene	horse	post exposure
botulism		
snake bite scorpion bite		
rabies	human	post-exposure (plus vaccine)
hepatitis B	human	post-exposure
hepatitis A	pooled human immunoglobulin	prophylaxis (travel)
measles		post-exposure

Immunizzazione Attiva

Vaccini Inattivati = prodotti trattando i microrganismi col calore o con agenti chimici. Rimane la capacità di stimolare la produzione di anticorpi, ma non quella di infettare.

Vaccini vivi = con ceppi avirulenti o attenuati, che possono moltiplicarsi ma hanno perso la capacità di dare la malattia.

Anatossine = esotossine modificate (es. con formaldeide a caldo per diversi giorni), che mantengono il potere antigene ma perdono il potere patogeno.

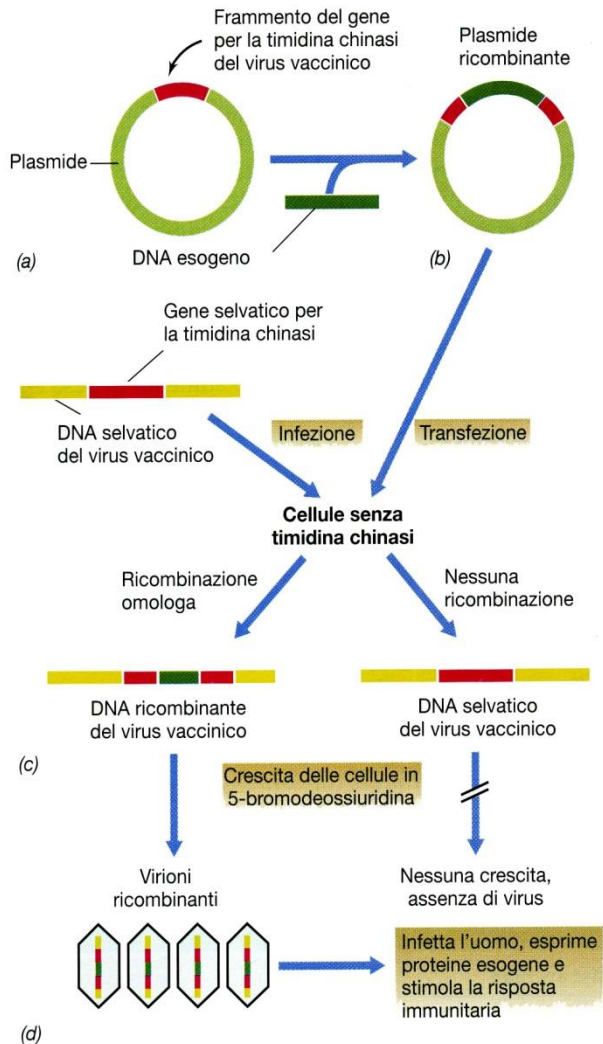
Vaccini coniugati: l'atg poco immunogeno del microrganismo viene coniugato (legato) a materiale proteico in modo da aumentare la risposta anticorpale.

Vaccini ricombinanti = vaccini prodotti per ingegneria genetica. E' possibile eliminare dal patogeno i geni responsabili della virulenza lasciando quelli che inducono una risposta immunitaria (vaccino ricombinante vivo attenuato) o inserire in vettori virali non patogeni qualunque gene di un patogeno verso il quale si vuole ottenere immunità (vaccini polivalenti)

Vaccini a subunità = contengono una o più proteine immunogene del microrganismo patogeno

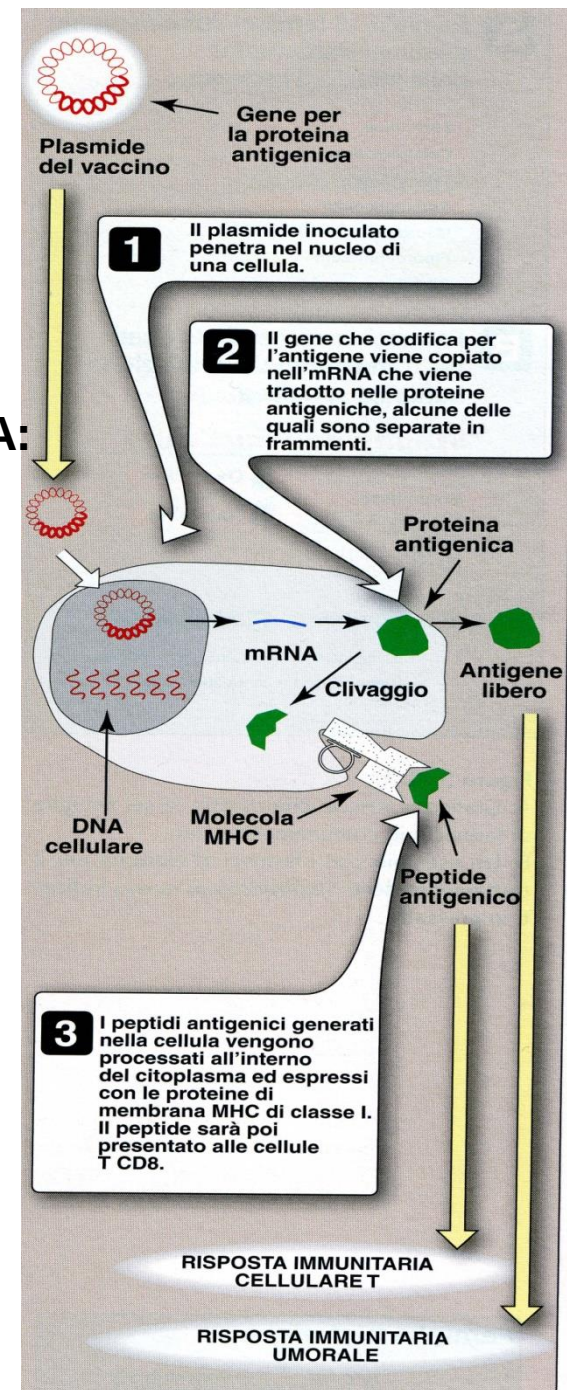
Vaccini a DNA: viene trasferito un gene codificante un Atg in particolari vettori che promuovono l'espressione nell'ospite di tale Atg inducendo una risposta immunitaria

Vaccini ricombinanti



• **Figura 15.12 Produzione e utilizzo del virus vaccinico ricombinante.** (a) Il DNA esogeno è clonato in un plasmide contenente un piccolo pezzo del gene per la timidina chinasi del virus vaccinico. (b) Il plasmide ricombinante completo. (c) Il plasmide ricombinante è quindi utilizzato per transfettare le cellule ospite già infettate con il virus vaccinico selvatico. Se avviene la ricombinazione, si ha produzione di DNA vaccinico ricombinante. (d) Le cellule sono quindi poste in presenza di 5-bromodeossiridina, composto tossico per le cellule che hanno una timidina chinasi attiva. Solamente i virioni ricombinanti si svilupperanno in queste condizioni. Se i virioni vaccinico ricombinanti contengono geni per altre proteine del rivestimento virale, anche queste potrebbero essere espresse.

Vaccini a DNA:



Vaccinazioni in Italia

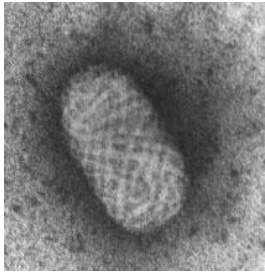
Sono il mezzo più efficace e conveniente per prevenire le malattie infettive e le loro complicazioni. Stimolano l'organismo a produrre attivamente una risposta immunitaria e lo rendono capace di resistere, così, alle infezioni.

Con le vaccinazioni vengono evitati nel mondo, ogni anno, non meno di tre milioni di decessi nei bambini di età inferiore a 5 anni, ed almeno 400.000 casi di polio paralitica, malattia di cui è prossima la totale eliminazione in tutto il mondo, al pari di quanto già avvenuto per il vaiolo.

Questi traguardi sono stati raggiunti grazie al “Programma Esteso di Immunizzazione” (EPI), dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS). Anche l'Italia, come stato membro dell'OMS, ha aderito al programma EPI e ne segue le raccomandazioni.

Ecco il calendario delle vaccinazioni offerte attivamente e gratuitamente a tutta la popolazione.

Vaccino	Nascita	3° mese	5° mese	6° mese	11° mese	13° mese	15° mese	5-6 anni	11-18 anni	> 65 anni	Ogni 10 anni
Difterite-Tetano-Pertosse		DTPa	DTPa		DTPa			DTPa ¹	dTpa		dT ²
Poliomielite		IPV	IPV		IPV			IPV			
Epatite B	HBV ³	HBV	HBV		HBV						
Haemophilus Influenzae b		Hib	Hib		Hib						
Morbillo-Parotite-Rosolia						MPR		MPR	MPR ⁴		
Pneumococco		PCV	PCV		PCV						
Meningococco C						Men C ⁵			Men C ⁵		
Infezione papillomavirus umano									HPV ⁶ (2 o 3 dosi)		
Influenza										Influenza	
Varicella									Var ⁷ (2 dosi)		



Vaiolo



**Testi Indù del 1000 a.C.
descrivono unguenti per la sua
cura**

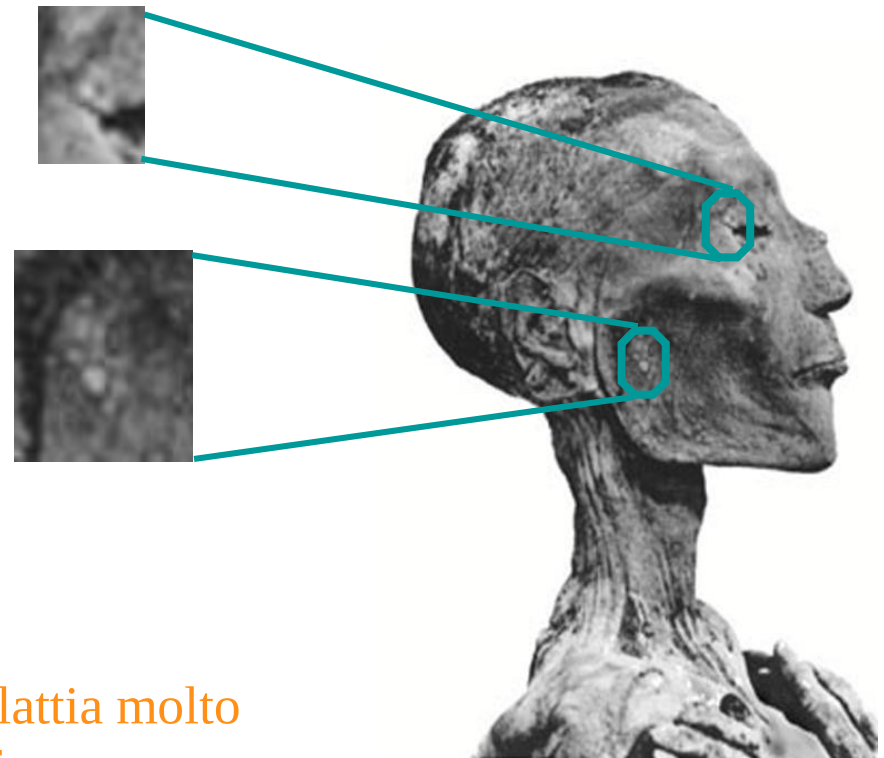
**Europa: prime epidemie nel 700
d.C.**

**1520: 3.5 milioni di Atzechi
morirono di vaiolo in due anni**

**nel 1700 il 25% di tutti i bambini
in Inghilterra moriva di vaiolo**

**N. America, 1763; utilizzato
come arma biologica contro gli
Indiani**

**nel 1950 in India più di 41.000
persone morte di vaiolo**



**Malattia molto
diffusa e grave,
presente già
nell'Antico Egitto**

**Mummia di Ramsete
V - 1157 a.C.**

**Disponibile un vaccino
efficace, scoperto da Jenner
(1796).**

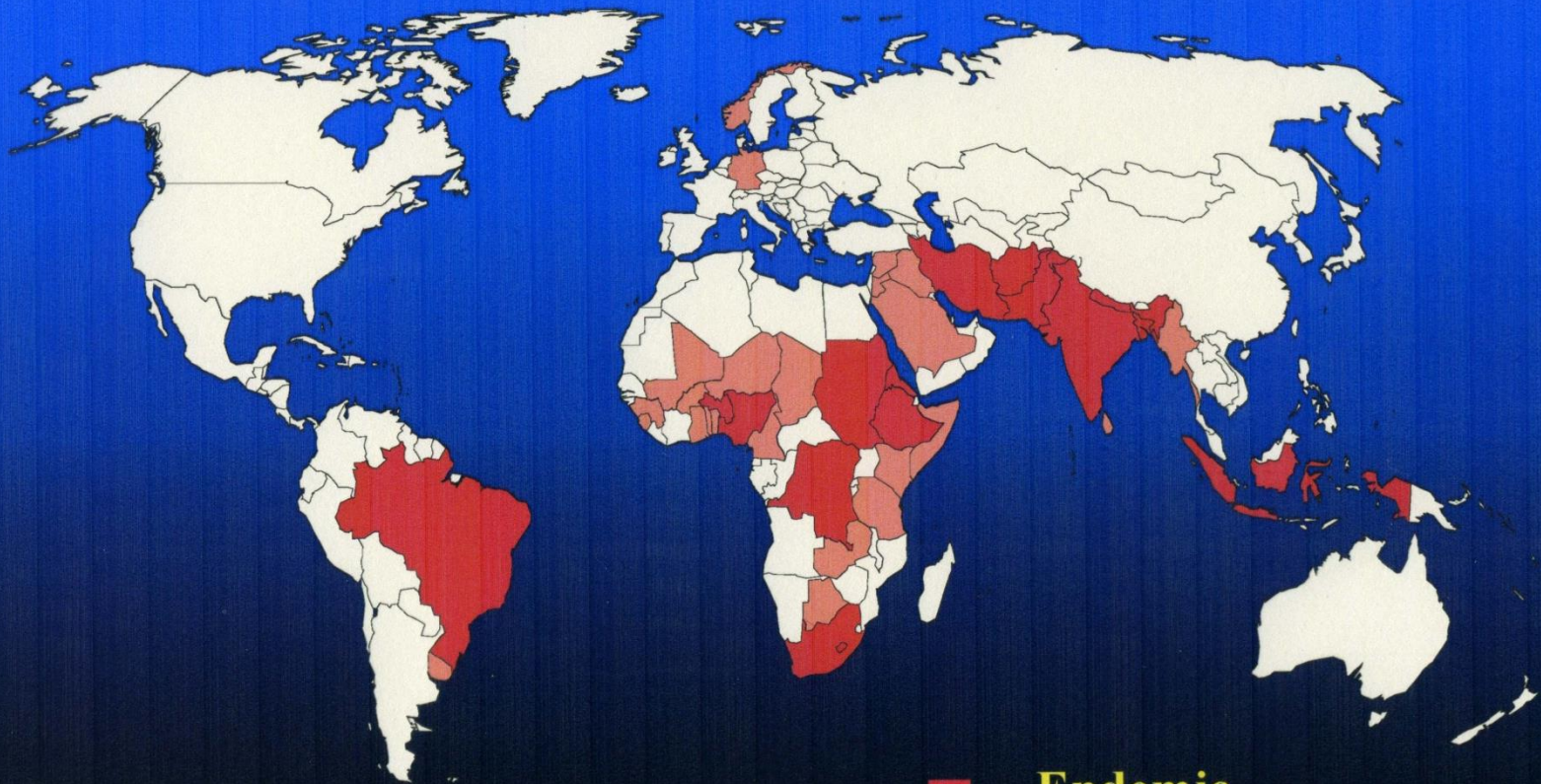


**Nel 1965 l'OMS ha lanciato la campagna di eradicazione.
Somalia, Ottobre 1977: ultimo caso registrato di infezione
naturale**

Inghilterra, 1978: 2 casi in laboratori, 2 morti

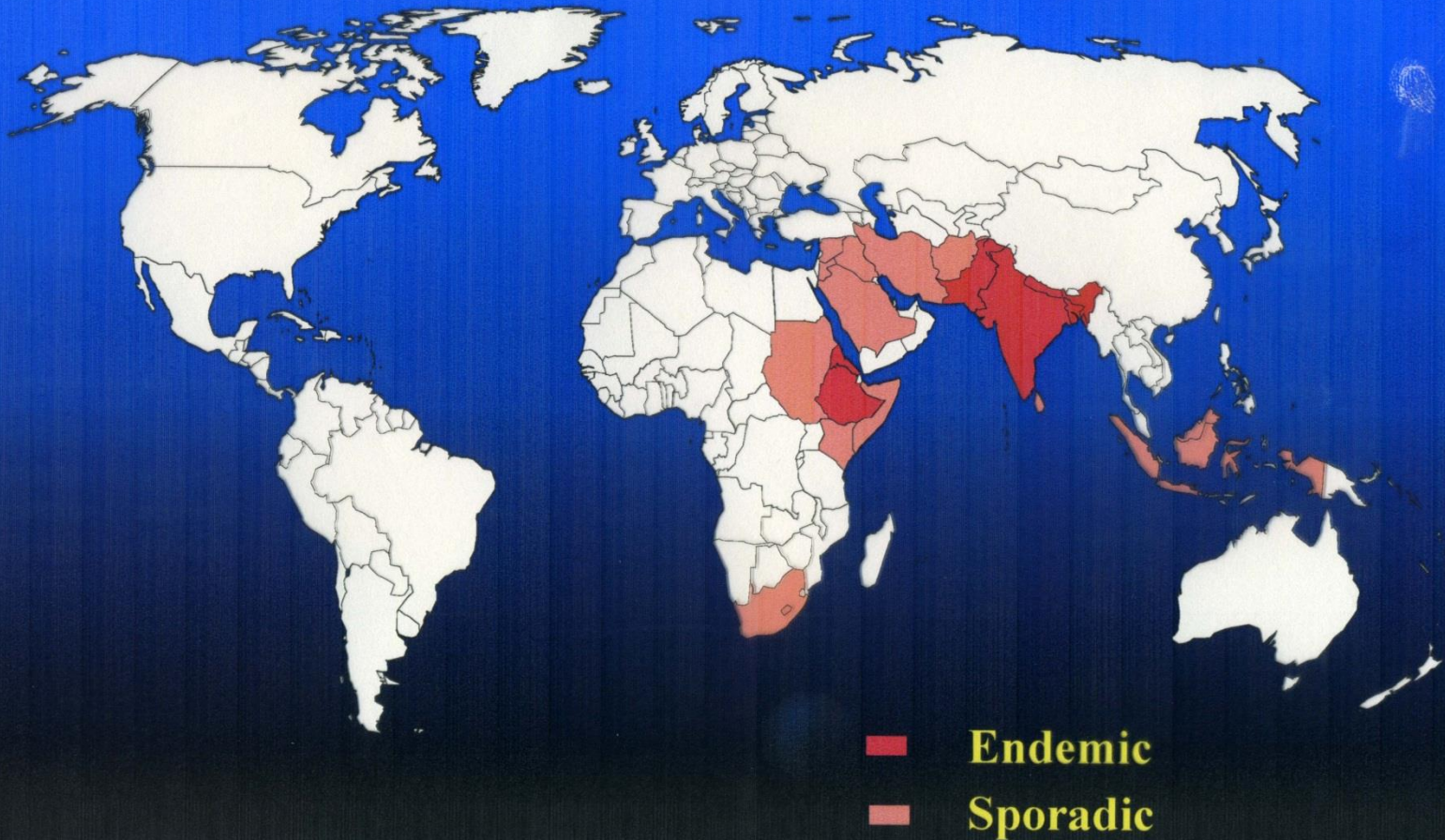
**1980: dichiarazione ufficiale di eradicazione
La malattia del vaiolo non esiste più!!**

SMALLPOX 1968

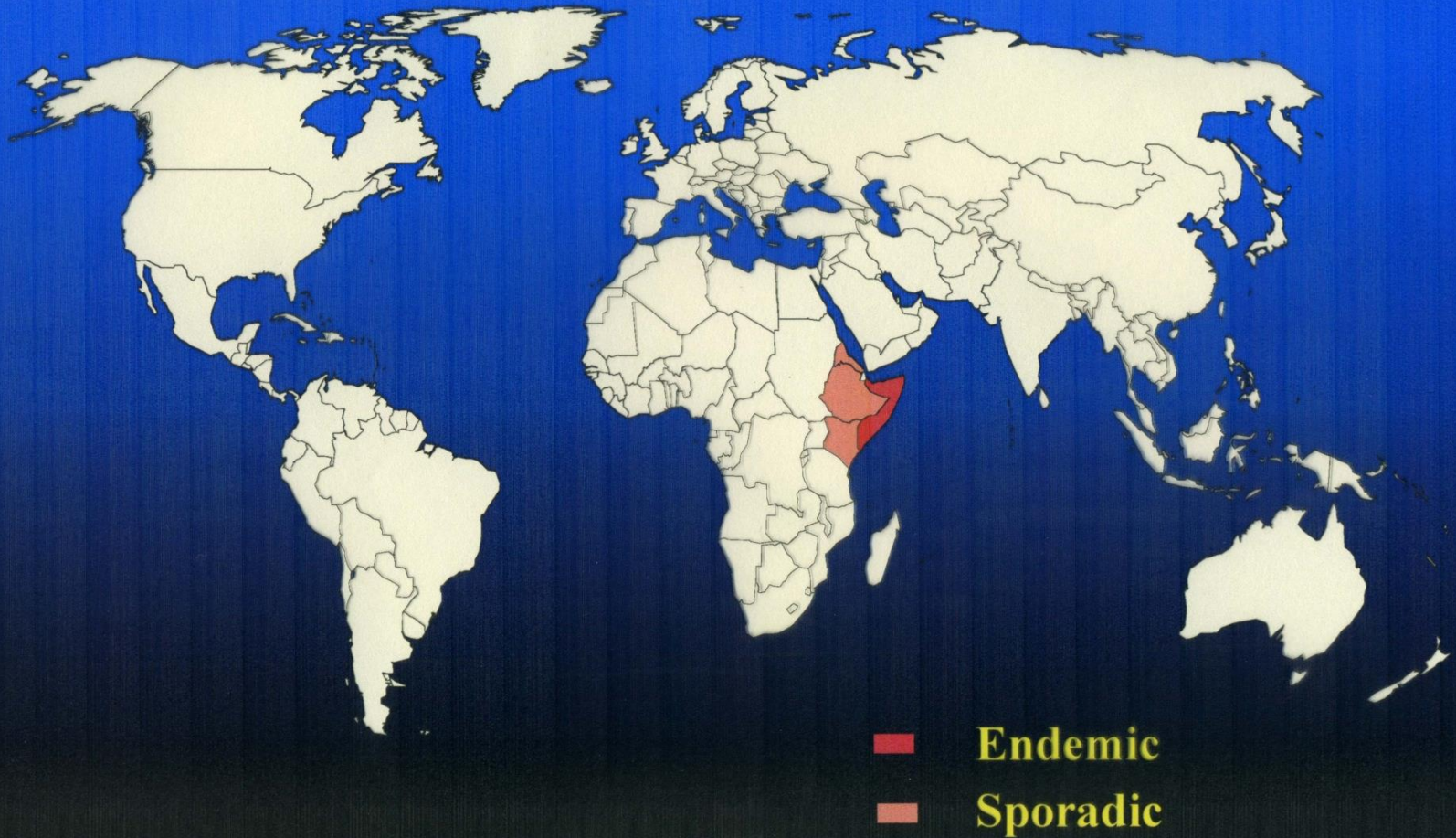


■ Endemic
■ Sporadic

SMALLPOX 1972



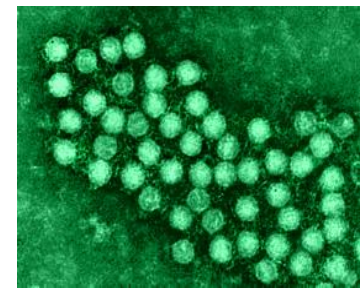
SMALLPOX 1976-1977



SMALLPOX 1978



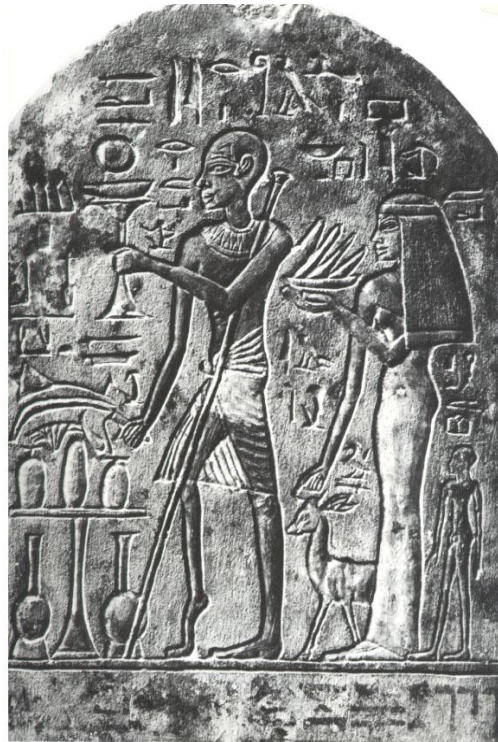
Poliomielite



Malattia antica



Mummy and clubfoot of 19th Dynasty
Pharaoh Siptah (c. 1300 B.C.)



Young man with withered leg characteristic
of polio (c. 1580-1350 B.C., 18th dynasty)

Due diversi tipi di vaccini

Eradicazione in corso

1988: 350,000 casi

1998: 35000 casi

2000: 702 casi

2001: 475 casi

2002: 1918 casi

2003: 784 casi

2004: 1255 casi

2005: 1979 casi

2006: 1997 casi

2007: 1315 casi

2008: 1651 casi

2009: 1604 casi

Dagli anni Settanta in poi, il programma di vaccinazione è stato esteso in tutto il mondo con l'obiettivo di controllare la diffusione della polio anche nei Paesi in via di sviluppo. Oggi la polio è endemica solo in 4 Paesi in tutto il mondo: Afghanistan, India, Nigeria e Pakistan.

Nel 1994, il continente americano è stato dichiarato *polio free*, cioè libero da poliomielite, grazie all'attività della Pan American Health Organization (Paho), seguito dalla Regione del Pacifico occidentale nel 2000 e dall'Europa nel giugno 2002. Nel 2010 tuttavia un'epidemia in Tajikistan ha rimesso in discussione lo status "polio free" della Regione europea dell'Organizzazione mondiale della sanità. Infatti, un Paese con una trasmissione indigena di polio resta "*polio free*" se nei sei mesi successivi all'ultimo caso non vi sono più casi; quindi, se questo avviene, a marzo 2011 si potrà confermare lo stato di polio free per l'Europa.

Pur riconoscendo i progressi sostanziali ottenuti dalla *Global Polio Eradication Initiative* negli ultimi 12 mesi, in particolare nel Nord della Nigeria, nel Nord dell'India e in molti Paesi sede di re-introduzione virale, il Sage ha ricordato le persistenti lacune esistenti in molti dei programmi subnazionali. Secondo il Sage, tra i principali ostacoli alla piena attuazione del Piano strategico 2010-2012, il finanziamento insufficiente costituisce la minaccia più grande alla buona riuscita degli sforzi globali. Ha quindi sollecitato una mobilitazione urgente per raccogliere i fondi mancanti per finanziare le attività di eradicazione della polio per il periodo 2010-2012: **1,4 miliardi di dollari**.

Immunization coverage with 3rd dose of polio vaccines in infants, 2009

