

ISTITUZIONI DI PATOLOGIA GENERALE E IMMUNOLOGIA (Parte 2)

APPUNTI revisionati dal docente delle LEZIONI 2018/19 (docente prof. Adriano Angelucci)

1. *Invecchiamento e senescenza cellulare*
2. *Sistema immunitario*
 - a. *Immunità innata*
 - b. *Immunità acquisita*
3. *Reazioni di ipersensibilità*
4. *Malattie autoimmuni*

1. Invecchiamento e senescenza cellulare

L'invecchiamento è un processo fisiopatologico che porta ad una progressiva perdita dell'integrità e funzionalità dell'individuo: l'organismo è meno attivo e riesce a fare meno cose rispetto a quelle che svolgeva quando era più giovane. L'invecchiamento va di pari passo con un generale fenomeno di senescenza dei tessuti e organi inteso come il risultato di un progressivo declino nella funzione e nella vitalità delle cellule. Non è così ovvio e facile definire un momento della vita in cui un organismo può essere considerato vecchio. Un primo ragionamento può essere fatto valutando la durata della vita. Possiamo individuare una frazione della vita, nell'ultimo periodo, prima della morte, che può essere definito come vecchiaia. Ma già qui c'è un problema poiché cambiando ambiente cambia la durata di vita, ad esempio molti animali tenuti in cattività hanno una durata di vita più lunga perché vengono curati e sono sottoposti a meno rischi. Quindi, nel momento in cui abbiamo a che fare con organismi che nascono in un determinato ambiente è meglio parlare di attesa di vita. L'attesa di vita è un concetto legato alle condizioni dell'ambiente in cui si vive, e quanto possa essere variabile è testimoniato in maniera eclatante dalla storia dell'uomo. L'attesa di vita dell'uomo in tutto il mondo nel 1950 era di 46 anni, con il passare del tempo (pochi decenni) è aumentata notevolmente (quasi raddoppiata). Tale fenomeno sta creando un dibattito nelle società scientifiche sulla necessità di aumentare l'età accettata finora per l'ingresso dell'uomo nella vecchiaia (65 anni) a 75 anni. Infatti le condizioni di vita fanno sì che un 65enne di oggi abbia la forma fisica e cognitiva di un 40-45enne di 30 anni fa. E un 75enne quella di uno nel 1980 aveva 55 anni.

Life expectancy at birth by world region, 1950–2000						
Area	Years					
	1950 –1955	1960 –1965	1970 –1975	1980 –1985	1990 –1995	1995 –2000
World	46	52	58	61	64	66
Developed Countries	67	70	71	73	74	74
Less Developed Countries	41	48	55	59	62	64
Africa	38	42	46	49	53	54
Asia	41	48	56	60	65	66
Latin America (and Caribbean)	51	57	61	65	69	70
Europe	66	70	71	72	73	73
North America (U.S. and Canada)	69	70	72	75	76	77

SOURCE: Yaukey, David, and Douglas L. Anderton. *Demography: The Study of Human Population*. Prospect Heights, IL: Waveland, 2001.

Una visione biologica del problema potrebbe far riferimento **all'età riproduttiva**, considerando la vecchiaia il periodo che segue questa fase. Più si diventa maturi in tarda età, più si vive a lungo (l'evoluzione va a favore della riproduzione). I determinanti dell'attività riproduttiva sono gli ormoni sessuali, quando si ha una diminuzione degli ormoni sessuali, si entra nella vecchiaia. Ad esempio, nella donna, la menopausa, in cui si ha l'atrofia dei tessuti sotto il controllo degli ormoni sessuali (perdita di funzionalità), può rappresentare un plausibile confine in cui si può iniziare a parlare di invecchiamento. Una riduzione sostanziale di ormoni, soprattutto quelli sessuali, gioca un ruolo chiave nella formazione di diverse patologie; la vecchiaia, infatti, rappresenta il periodo in cui è più probabile ammalarsi. Possiamo quindi capire che è importante studiare l'invecchiamento nell'uomo perché la probabilità di ammalarsi aumenta con l'aumentare dell'età del soggetto. Riuscire a scoprire i determinanti dell'invecchiamento rappresenta la chiave per prevenire molte patologie: I determinati sono:

-1 fattori genetici: Ogni individuo possiede un programma genetico che regola crescita e riparazione dell'organismo. L'individuo deve crescere e riprodursi, ma nello stesso tempo deve anche proteggersi dalle condizioni avverse ambientali (robustezza somatica). C'è una dicotomia tra il crescere, riprodursi e il fatto di essere abbastanza solidi per sopravvivere alle condizioni avverse (pleiotropismo antagonista)

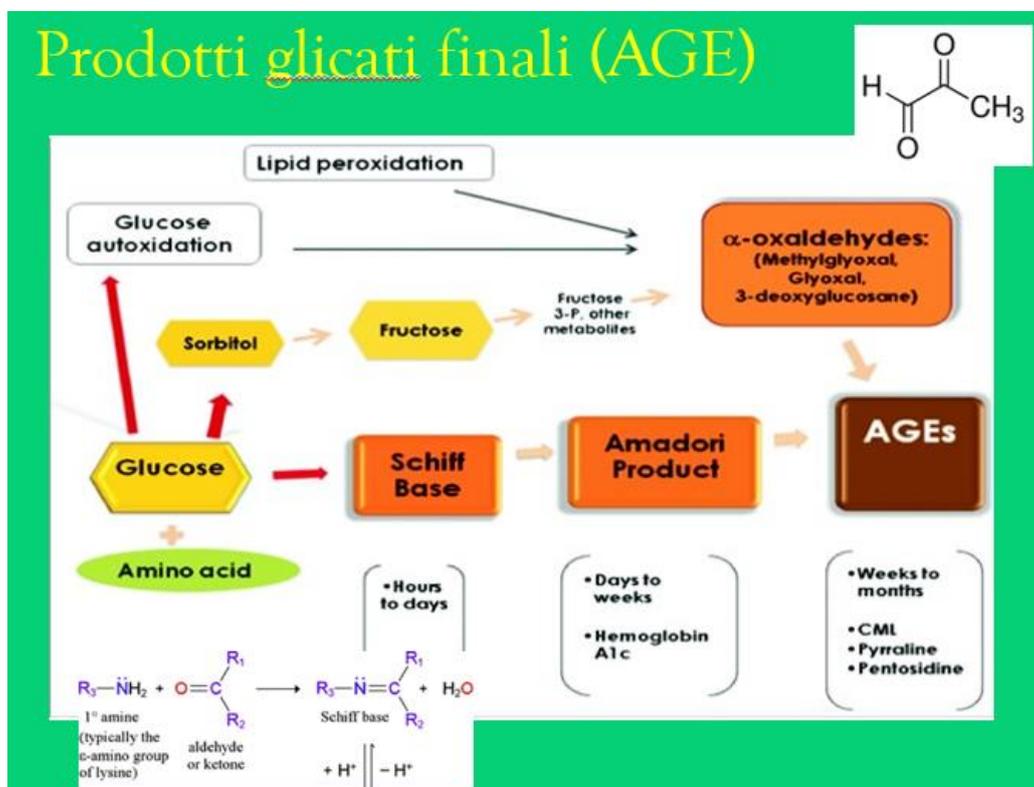
-2 invecchiamento cellulare: l'invecchiamento sistematico ha una base cellulare. Ci possono essere diverse cause che determinano senescenza cellulare, tra cui quelle genetiche (telomeri), e quelle legate a disfunzioni endogene che portano ad accumulo (proteine, AGE).

-3 fattori ambientali: le condizioni ambientali determinano i programmi di crescita e adattamento. Inoltre un ambiente può essere più o meno ricco di cause di malattia/ fonti di stress cellulare. Dobbiamo considerare sempre l'organismo in quale ambiente vive. Se le fonti di danno sono ripetute è più probabile che i segni dell'invecchiamento (e le patologie associate) si manifestino prima.

-4 dieta: bilancio energetico e qualità degli alimenti, elemento molto importante per l'uomo perché può scegliere la propria dieta. Rappresenta un determinante importante nella capacità dell'organismo di rallentare l'invecchiamento o migliorarne i segni.

Molti elementi ambientali sono causa di danno cellulare. Sostanze geno-tossiche, ammine aromatiche, idrocarburi policiclici, si legano al DNA portando alla rottura della struttura del DNA, oppure ad una variazione della struttura con formazione di dimeri di timina. Il DNA può essere danneggiato anche da agenti endogeni i radicali liberi, e le specie reattive dell'ossigeno. Benché la maggior parte dei danni del DNA sia riparata dai sistemi di riparazione del DNA, alcuni persistono e si accumulano con l'invecchiamento cellulare. A seguito di un evento che colpisce il DNA, la prima cosa che avviene nella cellula è l'azione dei sistemi di riparazione, ognuno riconosce un danno diverso a livello del DNA e attiva un apparato proteico che cerca di riparare il danno. L'attivazione dei sistemi di riparazione è associata al blocco del ciclo cellulare. Se il riparo non è possibile, come ad esempio nel caso dell'accorciamento dei telomeri, la cellula va in apoptosi o in senescenza. Fenomeni di senescenza cellulare tendono ad essere più frequenti nel tempo, e determinano una delle componenti l'invecchiamento di tutto l'organismo. Con questi meccanismi di morte e senescenza, le cellule, nel corso della loro vita, si proteggono anche dalle neoplasie. Infatti se ciò non avvenisse, con la propagazione dei danni al DNA non riparati, la probabilità di avere mutazioni oncogeniche in cellule proliferanti sarebbe molto più alta.

Un altro evento che avviene frequentemente nelle cellule è quello dell'accumulo di alcune sostanze chimiche dette AGE (prodotti di glicazione finale), una serie di prodotti abbastanza eterogenei che hanno come elemento comune la presenza di una catena glucidica. Tali catene tramite reazioni non enzimatiche si vanno a legare ad altre macromolecole, soprattutto proteine generando glicati (prodotto finale dell'azione chimica degli zuccheri). Si tratta di un fenomeno progressivo e che porta all'invecchiamento delle cellule.



Conosciamo due strade attraverso cui, partendo dal glucosio, abbiamo la formazione degli AGE:

-1 Il glucosio può dar vita, attraverso reazioni relativamente rapide, a basi di Schiff per la fusione di una ammina con un chetone o un'aldeide. Queste molecole costituiscono la base per una successiva reazione chimica e la formazione di intermedi reattivi.

-2 Il glucosio, attraverso reazioni di ossidoriduzione può legare i lipidi. I prodotti che si andranno a formare (ossaldeidi) sono prodotti di accumulo. Si assiste quindi ad un accumulo di prodotti glicati con una progressiva perdita di funzionalità. Spesso anche in molti protocolli sperimentali, per andare a vedere la fase di invecchiamento è sufficiente misurare la produzione dei prodotti glicati.

I prodotti glicati sono anche quelli che formano la crosta negli alimenti, sono zuccheri che legano le proteine ad alta temperatura. Un esempio non strettamente correlato all'invecchiamento cellulare è la formazione dell'emoglobina glicata, attraverso l'unione del glucosio con l'emoglobina. Nei soggetti diabetici la sua misurazione può darci varie informazioni. Andando a misurare i livelli di glucosio di un determinato individuo la mattina a digiuno, possiamo vedere se quel soggetto ha un cattivo controllo del glucosio. Noi sappiamo che questo zucchero non ha sempre la stessa concentrazione, dipende dalla distanza dai pasti e dal loro contenuto in zuccheri, per questo l'esame viene svolto a digiuno, per porre l'individuo in condizioni basali. Nei soggetti diabetici vengono controllati i livelli di glucosio anche attraverso la formazione esogena di prodotti glicati e in particolare dell'emoglobina glicata che è un marcatore della glicemia a lungo termine. Quindi, in conclusione, sappiamo che processo di glicazione è dovuto dall'accumulo di proteine e zuccheri e da uno stress ossidativo. Non è dato da una reazione enzimatica, ma è un evento che avviene nel tempo passando da reazioni rapide fino a reazioni che hanno bisogno di mesi per arrivare a termine. Le proteine perdono funzione, conformazione, precipitano e si accumulano.

L'accumulo di proteine può derivare da omeostasi proteica insufficiente: L'omeostasi proteica coinvolge due meccanismi: quello che mantiene le proteine nelle loro conformazioni correttamente ripiegate (mediante chaperoni) e quello che degrada le proteine mal ripiegate mediante il sistema lisosomiale. Esistono evidenze che sia la normale ripiegatura sia la degradazione delle proteine mal ripiegate si deteriorino con l'età. Un topo mutante con deficit di chaperoni invecchia rapidamente, viceversa, topi che esprimono un eccesso di chaperoni hanno lunga vita.

1.1 senescenza replicativa e progerie

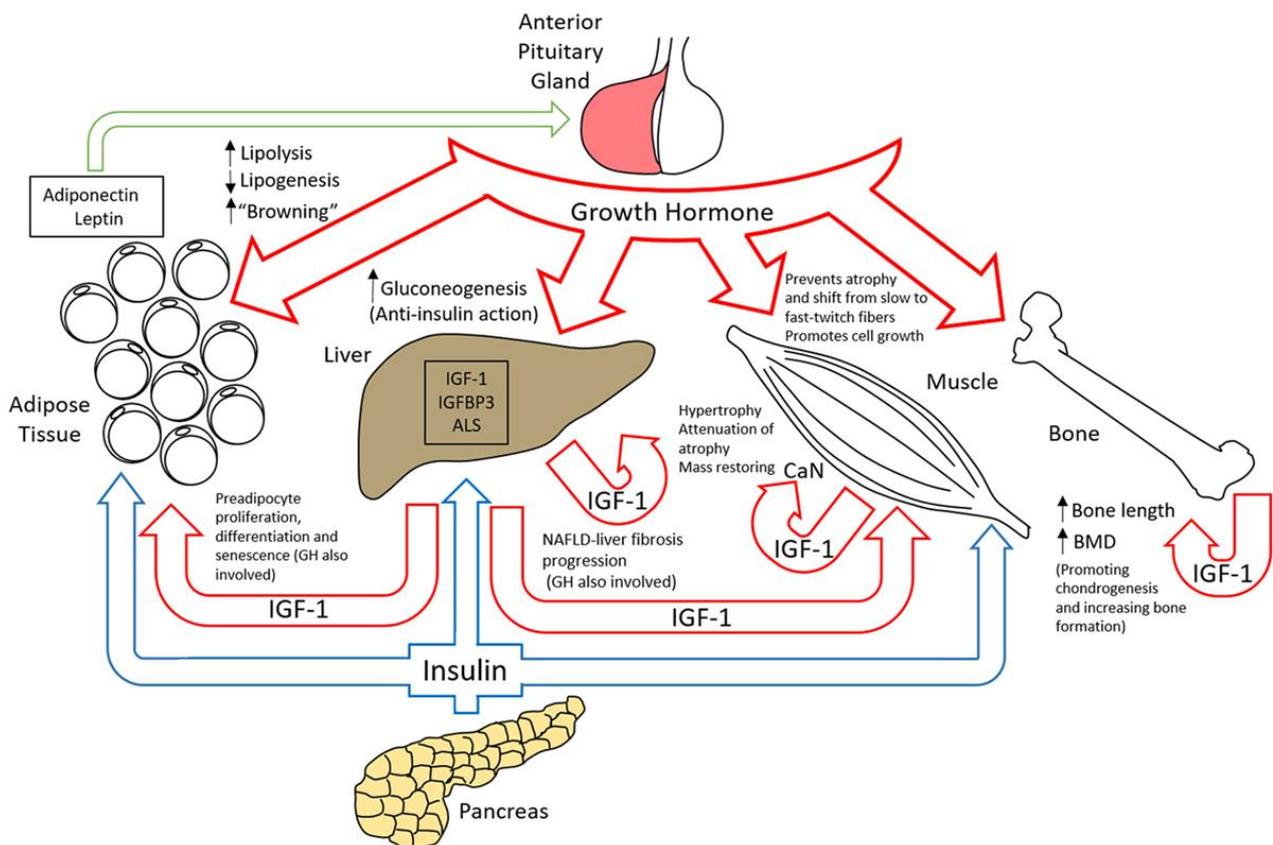
Ogni cellula sana possiede una capacità di replicazione limitata, quindi, dopo un certo numero di divisioni cellulari, si ferma in uno stato di assoluta impossibilità di divisione, conosciuto come **senescenza replicativa**. Le cellule dei bambini possiedono la capacità di realizzare più cicli di replicazione rispetto alle cellule delle persone anziane. La senescenza cellulare è determinata dalla **riduzione della lunghezza dei telomeri**. L'accorciamento dei telomeri è una causa genetica, un evento che porta invariabilmente in tutte le cellule del nostro organismo ad una senescenza, ad una impossibilità di duplicare oltre un certo limite (limite di Hayflick). I telomeri sono brevi sequenze ripetute di DNA presenti all'estremità dei cromosomi, la cui importanza consiste nel garantire la replicazione completa delle estremità del cromosoma e nel proteggere queste ultime dalla fusione e dalla degradazione. Se andiamo ad analizzare le sequenze terminali, vediamo che alcune sono altamente ripetute e il numero di volte in cui vengono ripetute vede una grossa differenza tra individui giovani e individui adulti o anziani. Negli individui giovani queste sequenze sono molto più lunghe, poiché l'accorciamento dei telomeri è dipendente dal numero delle replicazioni che ha svolto la cellula (più si è anziani, più le cellule in quell'individuo hanno svolto replicazioni). I telomeri non si autoriproducono, ma la loro struttura e lunghezza è mantenuta da un particolare sistema enzimatico, **la telomerasi**, un complesso specializzato di ribonucleoproteine che utilizza uno stampo di RNA per aggiungere nucleotidi alle estremità dei cromosomi. La telomerasi, quindi, gioca un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'integrità e della lunghezza dei telomeri. Il telomero, quindi, è un elemento importante nel decidere la senescenza cellulare, ogni volta che la cellula si divide diventa sempre

più corto e a lungo andare porta instabilità nei cromosomi e ad una situazione valutata dalla cellula come allarme. La cellula che presenta telomeri troppo corti va incontro a morte per apoptosi o entra in senescenza. Viceversa, nelle cellule cancerose o immortalizzate, la telomerasi di norma viene riattivata e la lunghezza dei telomeri ristabilizzata, consentendo alle cellule di proliferare ad oltranza. In generale il meccanismo del limite replicativo è presente in tutte le cellule degli organismi pluricellulari, ma perché esiste? Perché è un meccanismo di protezione, in buona parte efficace, che cerca di evitare la formazione di cellule non volute (neoplasie). Funziona anche in vitro, si possono contare il numero di replicazioni della cellula e ci si accorge, invariabilmente, che se mettiamo in coltura un fibroblasto, esso non andrà più avanti dopo un certo numero di replicazioni. Se noi prendiamo un fibroblasto da un neonato, possiamo aspettarci circa 70 replicazioni, invece, se lo prendiamo da un centenario, il numero di replicazioni sarà sicuramente minore. Questo non è un evento patologico, ma fisiologico che impedisce un'eccessiva proliferazione delle cellule. Possiamo però riscontrare anche degli effetti patologici, ad esempio ci sono delle sindromi di invecchiamento precoce che sono legate a instabilità nucleare e accorciamento precoce dei telomeri. Questa è una chiara dimostrazione di come l'invecchiamento cellulare possa avere effetto anche a livello sistemico. Ci sono diverse sindromi che vengono generalmente dette di progeria (invecchiamento precoce) come quelle di **HUTCHINSON-GILFORD** o di **Werner**. L'invecchiamento precoce può essere legato anche alla sindrome di **Down** per cause dovute ad una instabilità dei cromosomi. Questi soggetti invecchiano molto precocemente, non superano quasi mai i 50 anni. A questo punto è interessante constatare che le cause di morte di questi soggetti siano le patologie cardiovascolari e i tumori. Il tumore legato ad una sindrome di invecchiamento precoce ci dice due cose: 1 i tumori sono una patologia della vecchiaia, essendo questi organismi precoci nell'invecchiamento, presentano dapprima le classiche patologie della vecchiaia. 2 il limite di Hayflick ci protegge dai tumori in età giovanile. Le cause genetiche di queste sindromi vanno ritrovate in difetti, mutazioni di alcune proteine, in particolare c'è una mutazione a livello di una proteina che si chiama LMNA (Lamin A). Nella sindrome di Werner, invece, abbiamo un difetto della DNA elicasi, una proteina impiegata nella replicazione del DNA, ma anche in altre funzioni che richiedono uno svolgimento del DNA. Un difetto di questo enzima determina un rapido accumulo di danni cromosomici che può mimare i danni presenti normalmente durante l'invecchiamento. Comunque sono tutte mutazione e difetti che riguardano la stabilità del DNA. Ad esempio LMNA serve per il mantenimento della membrana nucleare, la laminina va a posizionarsi al di sotto della membrana nucleare e mantiene l'integrità. Nei soggetti con progeria c'è un difetto nella maturazione della proteina, che si va a posizionare in maniera anomala e porterà ad una membrana nucleare non perfettamente funzionale.

1.2 Restrizione calorica e invecchiamento

Sebbene il senso comune dica il contrario, paradossalmente mangiare meno aumenta la longevità. Studi hanno dimostrato che la restrizione calorica, studiata nei topi da laboratorio, è collegata ad un ritardo nell'invecchiamento e ad una minore sensibilità verso alcune patologie, tra cui i tumori. Negli esperimenti effettuati, i topi sono stati divisi in gruppi che ricevevano un'alimentazione diversa per quanto riguarda l'apporto calorico. I risultati dimostrano che i gruppi con maggiore restrizione calorica (50%) vivevano di più e avevano un'incidenza più bassa di tumori. Sull'uomo è più difficile indagare sperimentalmente questo aspetto, ma alcuni dati storici sembrano essere significativi. Ad esempio gli antichi egizi (ma anche i greci) usavano la "fame intermittente" più di 2.500 anni fa per ottenere una salute migliore e una durata prolungata della vita. Recentemente alcuni studi hanno dimostrato che il digiuno intermittente agendo sulle reti di controllo del metabolismo mitocondriale può far aumentare la durata di vita. In virtù di tali osservazioni, si è risvegliato un notevole interesse per la decifrazione del ruolo della percezione dei nutrienti nell'invecchiamento. La base di questa restrizione calorica ha fatto vedere tutta una serie di eventi legati ad un mantenimento del soma. L'omeostasi della componente somatica è mantenuta tramite diversi meccanismi di rigenerazione e riparo (energeticamente dispendiosi). Allo stesso tempo la "manutenzione" è inversamente proporzionale all'insorgenza di patologie: diabete, malattie cardiovascolari e tumori. Se la restrizione calorica funziona, vuol

dire che ci devono essere delle vie di segnalazione capaci di redistribuire le risorse energetiche tra crescita e manutenzione del soma. Una di queste vie è stata trovata ed è riconducibile a i fattori che vengono modulati dalle fonti caloriche fino a determinare la velocità di crescita, l'invecchiamento e le patologie nell'individuo. I due fattori principali neuro-ormonali che regolano il metabolismo sono la **l'ormone della crescita (GH)** e il fattore di crescita **IGF-1**, prodotto autonomamente in alcuni organi oppure in risposta alla secrezione di GH da parte dell'ipofisi. Questi fattori si controllano a vicenda tramite un feedback negativo. Il bersaglio dell'ormone della crescita e dell'IGF-1 è tutto l'organismo. **Alti livelli di IGF1** sono legati ad una ridotta durata della vita, alla crescita e alla riproduzione; **bassi livelli di IGF1** sono legati a funzioni di mantenimento e riproduzione ritardata. Questo schema è legato all'introito alimentare. Uno degli ormoni che regola l'alimentazione è la **grelina**, prodotta dallo stomaco e dal pancreas, in risposta all'alimentazione. Quando ci alimentiamo regolarmente e in maniera adeguata, la grelina stimola l'ipotalamo per la produzione dell'ormone della crescita.



Gli studi sull'invecchiamento negli ultimi anni hanno messo in evidenza che nell'arco della vita di un individuo, sono presenti delle finestre particolarmente sensibili all'ambiente, soprattutto nell'ambiente fetale e nei primi anni di vita. Proprio in queste finestre il controllo epigenetico si rivela particolarmente efficace nel determinare la crescita, l'invecchiamento e la suscettibilità alle malattie. La pressione ambientale è trasmessa dalla madre all'embrione già dall'inizio della gravidanza, tramite particolari segnali che permettono la modificazione epigenetica del DNA del feto per prepararlo all'ambiente esterno. Si realizzano quindi delle modifiche nella lettura del DNA per preparare il feto all'ambiente in cui nascerà. Nella riprogrammazione fetale ritroviamo anche la capacità di espressione del fattore IGF-1. A secondo dell'ambiente in cui si nasce quindi ci si può aspettare una strategia di sopravvivenza diversa:

Ambiente favorevole	Ambiente sfavorevole
Crescita rapida	Crescita lenta
Riproduzione precoce	Riproduzione dilazionata
Minore resistenza somatica	Resistenza somatica
Invecchiamento sfavorevole	Invecchiamento migliore

Tutto ciò in parte era già presente nelle conoscenze biologiche poiché sappiamo che gli animali adottano delle strategie di riproduzione diverse. In particolare due R e K:
 -R: animali piccoli, sviluppo rapido e progenie numerosa

-K: favorisce l'accumulo di massa, individui più grandi e longevi con progenie ridotta. Queste strategie sono legate anche a diversi adattamenti all'ambiente da parte dell'animale.

La strategia R è associata ad una maggiore variabilità nel numero degli individui, la strategia k invece è una strategia in cui il numero degli individui tende ad essere più stabile nel tempo. Questo chiaramente pone dei vantaggi e degli svantaggi a seconda se viviamo in ambienti più stabili o dinamici. Una particolarità la ritroviamo negli elefanti, animali grandi, che in teoria dovrebbero essere soggetti ad una maggiore suscettibilità alle malattie e soprattutto ai tumori (animali longevi e con grande massa cellulare), ma in realtà non è così. Uno dei motivi è che hanno un sistema di riparazione del DNA molto efficace, in cui, ad esempio, la proteina P53 funziona in maniera più efficace che in altre specie. Questo è determinato dall'evoluzione, individui più grandi hanno bisogno di una robustezza somatica maggiore rispetto ad individui più piccoli che vivono di meno.

1.3 Teorie biologiche sull'invecchiamento

Nel corso degli anni sono state sviluppate diverse teorie dell'invecchiamento
-Teoria della selezione di gruppo: è la più vecchia (1892). "l'invecchiamento è un processo che avviene quando l'individuo diventa più debole per fare spazio agli individui più giovani. Una pressione selettiva per far avvenire il passaggio degli individui." Ad oggi non è più accettata poiché non esistono evidenze di un programma genetico che possa giustificare questa teoria

-Teoria dell'accumulo di mutazioni: è stata elaborata nella metà del 900. Parla di un evento inevitabile associato alla vita, cioè l'accumulo di mutazioni. Possiamo espandere questo concetto dicendo che non solo le mutazioni somatiche, ma anche altri accumuli possono contribuire all'inevitabilità dell'invecchiamento (vedi paragrafo 1). Inoltre le mutazioni si accumulano più facilmente in vecchiaia perché non c'è pressione selettiva contraria: non c'è pressione in vecchiaia perché non ci riproduciamo più.

-Teoria del pleiotropismo antagonista: è una delle più recenti, sviluppata da George C. Williams. Espande il concetto delle mutazioni. Il pleiotropismo, fenomeno legato al fatto che un determinato gene può influenzare tratti fenotipici multipli. È antagonista perché l'espressione del gene facilita un processo biologico a scapito di

un altro. IGF e GH sono geni pleiotropici antagonisti nel senso che facilitano la crescita, ma in vecchiaia sono collegati a maggiore suscettibilità e fragilità dell'individuo. I geni utili alla riproduzione diventano inutili e dannosi alla vecchiaia. La pressione selettiva serve per favorire la riproduzione.

2. Sistema immunitario

Il sistema immunitario è essenziale per la sopravvivenza degli organismi poiché protegge dagli agenti patogeni infettivi presenti in abbondanza nell'ambiente. Attuare ciò è difficile, poiché gli organismi da cui deve difendere sono numerosi e anche molto diversi tra loro (batteri, virus, funghi, protozoi, nematodi). Nel nostro corpo in realtà sono due i sistemi che permettono di "conoscere" il mondo esterno: il sistema nervoso e il sistema immunitario, ma quest'ultimo ha una conoscenza molto più precisa dell'ambiente, poiché possiede la sorveglianza d'identità: la capacità di saper riconoscere tutte le proteine e le cellule del nostro organismo, da quelle provenienti dall'ambiente esterno. Non solo riesce a distinguere tra proteine self/non-self, ma riesce anche a capire se una proteina self è stata modificata a causa di una mutazione. Un tumore, ad esempio, produrrà proteine mutate. Il sistema immunitario potenzialmente riesce a riconoscere queste proteine mutate e a combatterle. Questo fenomeno si chiama **Immunosorveglianza**: sorveglianza costante dell'integrità biochimica dell'organismo e della normale omeostasi dei tessuti. Il sistema immunitario elimina le cellule dell'organismo modificate, o danneggiate tramite morte innocua (apoptosi). A seguito di una ferita il sistema immunitario oltre a sterilizzare il tessuto tramite i neutrofili contribuisce a prepararlo per la successiva riparazione.

Il sistema immunitario di tutti gli organismi ha bisogno di recettori, che permettano il riconoscimento degli agenti patogeni. Ne possiamo distinguere due categorie:

-Recettori preformati: rappresentano il sistema di difesa più arcaico (usato anche dagli invertebrati). Presentano un funzionamento canonico, riconoscono solo un ligando, sono invariabili e vengono tramandati per via germinale.

-Recettori variabili: sono presenti solo nei vertebrati e nella forma più complessa nei mammiferi e negli uccelli. Il loro vantaggio è che non sono in numero limitato e costante, ma sono molti e potenzialmente capaci di riconoscere qualsiasi struttura. Il salto in avanti del sistema immunitario, a livello filogenetico, è stato proprio questo: da recettori fissi, preformati a recettori variabili che lavorano in associazione. Un tipo di strategia di riconoscimento dal self al non-self si può realizzare nel migliore dei modi utilizzando recettori modulabili a livello genetico, cioè l'organismo è capace di produrre una grande varietà di recettori diversi ricombinando il genoma. I recettori variabili sono gli anticorpi, i recettori dei linfociti T (TCR) e i recettori dei linfociti B (BCR). Questi recettori lavorano in associazione con un'altra classe di recettori ad alta variabilità, il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC), che però raggiunge la variabilità tramite polimorfismo.

Il sistema immunitario è molto complesso, un primo schema a cui bisogna far riferimento è la distinzione tra l'immunità innata e l'immunità adattativa/acquisita. Questa distinzione viene fatta solo a scopo didattico, poiché, in realtà, le due immunità si sovrappongono largamente e collaborano tra di loro. L'aspetto che le distingue meglio è la tempistica con cui funzionano, infatti, con l'ingresso di un patogeno nell'organismo, si ha prima l'intervento dell'**immunità innata** che comprende barriere fisiologiche e tutta una serie di meccanismi che si sono evoluti per riconoscere e contrastare in modo specifico i microrganismi. Questi processi entrano in gioco ancora prima che le infezioni si manifestino. Soltanto in un secondo tempo si ha anche l'intervento dell'**immunità adattativa**, la più potente, che comprende le risposte immunitarie indotte dai germi che sono in grado di riconoscere molecole di origine microbica o di diversa provenienza. Come traguardo dell'immunità adattativa vediamo la produzione degli anticorpi, lo strumento più potente che ha il sistema immunitario. Quando si riescono a produrre anticorpi di un certo tipo, soprattutto con una specificità elevata per l'agente

patogeno, il sistema immunitario ha raggiunto il massimo livello di efficienza e protezione disponibile. Produrre anticorpi potenti e specifici è però un processo complesso, lungo e dispendioso, quindi avviene solo quando è necessario.

Uno schema a cui possiamo fare riferimento per la comprensione dei processi del sistema immunitario è quello che descrive quali siano i principali meccanismi di difesa utilizzati e le cellule appartenenti a questi due tipi di immunità:

Immunità innata	Immunità adattativa
Barriere fisiche (cute, epiteli e mucose)	Immunoglobuline (anticorpi)
Barriere fisiologiche (enzimi antimicrobici, peptidi antimicrobici, pH che scoraggia la crescita di alcuni batteri)	Cellule: Linfociti B, Linfociti T
Sistema del complemento (cellule NK)	
Cellule: Granulociti, mastociti, macrofagi e cellule dendritiche	

La risposta innata è una risposta che avviene nell'arco di minuti, ore e giorni. L'immunità adattativa, invece, per arrivare a completezza, cioè alla produzione di immunoglobuline (anticorpi), ha bisogno anche di 10 giorni. Il virus dell'influenza non viene combattuto soltanto dall'immunità innata, ma necessita anche di quella adattativa, produce le immunoglobuline e si completa nell'arco di 10 giorni. Questo è il motivo per cui, se ci ammaliamo di influenza, i segni della malattia durano per diversi giorni. Le cellule si possono distinguere in mieloidi e linfoidi. La maggior parte delle cellule della **linea mieloide** sono capaci di fagocitosi e possiamo largamente definirle, i principali autori delle prime difese dell'immunità innata. I **macrofagi** sono cellule a vita molto lunga e possono sia già derivare dallo sviluppo fetale, sia si possono riformare nell'adulto partendo dal monocita, precursore sia dei macrofagi, sia delle cellule dendritiche. **La fagocitosi** è quel meccanismo che a seguito del riconoscimento di un microrganismo, lo circonda, forma un vacuolo di endocitosi, un fagosoma e lo intrappola. Successivamente questo fagosoma all'interno del citoplasma viene fuso con il lisosoma che, tramite potenti enzimi digestivi, degrada qualsiasi cellula al suo interno. Il processo di fusione tra fagosoma e lisosoma è una fase chiave che se non avviene mantiene vivo l'agente patogeno. Questa, infatti, è una tecnica di difesa, un modo che hanno adottato alcuni agenti patogeni (micobatteri, batteri particolarmente indigesti) per nascondersi nei macrofagi e sopravvivere nell'organismo. I residui del fagolisosoma in parte vengono riciclati dalla cellula stessa, altri vengono rilasciati in forma di escrezione che verrà veicolata nel fegato, il quale provvederà ad eliminarli tramite le urine o la bile. Ciò è quindi fondamentale per riuscire a riconoscere sostanze estranee, intrappolare, fonderle con il lisosoma e degradarle. Questo metodo appena descritto è un processo ancestrale adottato già da molti organismi anche invertebrati. Un altro protagonista della fagocitosi è il **neutrofilo**, il leucocita più abbondante nel sangue, circa il 60%, ed è il primo che arriva in grande quantità nella ferita per disinfettarla. Le differenze fondamentali tra macrofago e neutrofilo sono: il macrofago lo ritroviamo nei tessuti e ha lunga vita; il neutrofilo, invece, lo ritroviamo nel sangue e ha un'emivita breve in circolo e poco più lunga quando è nel sito di lesione. In generale, la vita dei neutrofili è breve poiché sono cellule letali, hanno un'alta capacità ossidante e contengono molti peptidi antimicrobici. Ciò li rende molto potenti, ma anche molto pericolosi, per questo devono essere sempre rimpiazzati. Il meccanismo che utilizzano i neutrofili per disinfettare la ferita e proteggere l'organismo da eventuali agenti patogeni è lo **scoppio respiratorio**, la capacità di produrre, partendo da O₂, tramite NADPH ossidasi, varie idrolasi e soprattutto un enzima tipico dei neutrofili, la mieloperossidasi, specie reattive dell'ossigeno (anione superossido, H₂O₂, anione ipoclorito). Queste sono molecole chimicamente molto reattive perché instabili, pericolose per la cellula che le produce, perché sono molecole che vanno a scaricare il potere ossidante su altre molecole modificandole. Questo è uno dei pochi casi in cui il nostro organismo le utilizza a proprio favore. Chiaramente questo è un processo controllato, ma può sfuggire a ciò, per questo motivo i granulociti neutrofili hanno un'emivita limitata. Recentemente si è scoperto che vi sono più

sottopopolazioni di neutrofili ed alcune di queste hanno una vita più lunga potendo avere un ruolo nella attivazione dei linfociti della memoria.

a) IMMUNITA' INNATA (RISPOSTE RAPIDE)

L'immunità innata è sempre presente ed è pronta a difendere l'organismo dagli attacchi di germi e ad eliminare le cellule danneggiate. I recettori e le componenti dell'immunità innata si sono evolute per adempire questo duplice compito. L'azione dell'immunità innata si suddivide in diverse fasi: ***prevenzione***, ***riconoscimento*** dei microrganismi e delle cellule danneggiate, ***attivazione*** di vari meccanismi ed ***eliminazione*** delle sostanze di scarto.

Le zone anatomiche che ritroviamo a fronteggiare questa immunità sono le zone di confine del nostro organismo con l'ambiente esterno: la cute che copre tutto il perimetro, il canale alimentare, il sistema respiratorio ed escretorio. Già a questo livello sono presenti delle difese perché è la zona in cui è massima la probabilità di incontrare i patogeni (***prevenzione***). Queste sono le **prime barriere immunologiche** e vengono divise in meccaniche, chimiche o biologiche. **-Meccaniche:** le cellule che compongono questi epitelii sono unite in maniera serrata, non offrono dei varchi. La **cute** per questo è la più specializzata, offre un ambiente non solo fatto di cellule molto serrate, ma che hanno anche la capacità di desquamarsi ed essere rimpiazzate con un veloce turnover: ciò che rimane nella parte superficiale della cute viene perso con le cellule morte. Le cellule epiteliali producono inoltre molecole antimicrobiche, come le defensine, che hanno attività antimicrobica. Anche nelle **mucose**, che possiamo ritrovare nell'apparato vaginale o nell'apparato respiratorio, esistono delle strategie di difesa. Tra queste non ritroviamo la desquamazione poiché in realtà le mucose, oltre alla protezione dagli agenti patogeni, hanno anche altre funzioni, come quella di trasporto e secrezione; quindi utilizza altre strategie meccaniche, come la secrezione di muco, una sostanza formata da glicoproteine che vengono rilasciate all'esterno, la cui funzione principale è di creare una barriera appiccicosa per i microrganismi, polveri e tutte le sostanze estranee che potrebbero danneggiare l'epitelio. Il muco viene continuamente prodotto da cellule specializzate, mantenuto in movimento tramite le ciglia della mucosa, lavato e questo fa sì che sia sempre pulito, poiché anche lui potrebbe costituire parte abitabile dai batteri. Esistono molti altri fattori che costituiscono le prime barriere fisiologiche come tossire, una difesa che mira ad eliminare sostanze o lacrimare, un modo per mantenere continuamente pulita la superficie dell'occhio. **-Chimiche:** Spesso all'interno di questi fluidi rilasciati sulla mucosa o sulla cute, ci sono anche degli agenti chimici (difesa chimica). Nella cute ritroviamo il sebo, gli acidi grassi, che se rilasciati possono fornire una protezione verso la crescita di alcuni batteri, l'acido lattico e il lisozima, un antibatterico che scoraggia la proliferazione. Nel tratto gastro intestinale avremo l'acidità nello stomaco o il rilascio di alcuni enzimi, proteasi. L'acidità la ritroviamo anche nelle secrezioni vaginali. Il lisozima non è presente solo sulla cute, ma anche nei polmoni, nella saliva e nelle lacrime. Qui ritroviamo un'ulteriore sovrapposizione tra le due immunità: le lacrime non contengono solo agenti chimici come il lisozima o altri agenti antibatterici, ma possiedono anche anticorpi. Infatti soprattutto a livello di mucose, le prime difese comprendono anche il rilascio di immunoglobuline. In particolare sono presenti quelle di secrezione: Immunoglobuline-A (IgA), funzionalmente determinate per andare a proteggere le mucose. **-Biologiche/Microbiologiche:** la presenza di una flora positiva, cioè di un microbiota favorevole (la flora intestinale), ma non esiste solo questa, l'intestino contiene una quantità di batteri enormi necessari per fornirci fondamentali sostanze come vitamine e acidi grassi. Non sono patogeni ed è bene che il nostro organismo sia evolutivamente adattato ad ospitare questa flora. Esistono più popolazioni di batteri simbiotici in vari distretti della mucosa che impediscono la crescita di batteri patogeni: dove sono loro, non ci sono altri batteri. Tramite la competizione scoraggiano la crescita di altri agenti patogeni.

Questa appena descritta è la prima linea di difesa che ci protegge in maniera sufficiente. Il problema sorge quando uno di questi sistemi non funziona come dovrebbe, anche soltanto per una ferita che rappresenta l'ingresso di agenti potenzialmente patogeni. In questo caso si passa ad una seconda linea di difesa che fa sempre parte dell'immunità innata e comprende: fagocitosi, azione del complemento, interferone,

infiammazione. L'infiammazione è il campanello di allarme. Questa seconda trincea è altrettanto efficiente e in molti casi la difesa immunitaria non viene attivata oltre. **La fagocitosi** è il sistema di difesa adottato in tutti gli organismi. È il più antico evolutivamente e a volte anche l'unico negli organismi inferiori (molluschi, nematodi) Questa viene adottata come seconda barriera ed è anche anatomicamente disegnata per funzionare così, infatti abbiamo molte cellule con capacità fagocitica che si trovano al di sotto della cute e delle mucose per funzionare proprio come una seconda linea di difesa (sistema reticolo-endoteliale). Spesso le cellule con funzione fagocitica assumono nomi specifici a seconda del tessuto in cui si trovano, ma sono comunque cellule che svolgono la stessa funzione, ad esempio il macrofago alveolare si trova nei polmoni, l'istiocita è diffuso nei vari connettivi, cellule di Langerhans si trovano all'interno della cute.

riconoscimento: la fagocitosi avviene a seguito del riconoscimento dei patogeni da parte di specifici recettori, tali recettori sono detti **scavenger**. Per comprendere il ruolo di questi recettori nel sistema immunitario, dobbiamo introdurre il concetto di **recettore preformato (PRR)**. L'immunità innata funziona grazie alla presenza di recettori preformati, proteine trasmesse per via germinale, che riconoscono alcune strutture molecolari di "pericolo". Tutti condividiamo gli stessi recettori preformati che riconoscono i **PAMP** (Pathogen Associated Molecular Pattern: strutture molecolari associate a molti agenti patogeni). A questo livello di difesa serve riconoscere una potenziale classe di agenti patogeni, tramite **strutture condivise da agenti diversi e che vengono espresse superficialmente**. Vediamo due esempi: Struttura della parete di Gram negativi e Gram positivi. La differenza sostanziale, che poi ne determina anche la colorabilità GRAM, è che la parete esterna dei gram negativi è formata da due strati di peptidoglicani, mentre nei gram positivi abbiamo un unico strato. A livello immunologico, ciò che viene riconosciuto all'esterno dei gram negativi, è una particolare struttura, il lipopolisaccaride (LPS, un'endotossina), formato da una catena molto lunga polisaccaridica, legata ad un core-glicolipidico. La parte esterna, la catena polisaccaridica, può essere specifica per il tipo di batterio, mentre quello che rimane quasi sempre costante è il cuore glicolipidico. È una struttura sempre presente e che caratterizza i batteri Gram negativi. Nei Gram positivi non è presente LPS, ma per riconoscerli, viene usata un'altra classe di PAMP, gli acidi teicoici. Questi non sono gli unici PAMP che vengono riconosciuti, altre proteine associate ai batteri sono la pilina e la flagellina. Sono riconosciute tramite PRR anche alcune catene zuccherine, poiché spesso, altri organismi (batteri, funghi) esprimono zuccheri che sono diversi dai nostri. Possono essere riconosciuti come PAMP anche gli acidi nucleici che possono differire nei microrganismi per delle particolarità, ad esempio un RNA a doppio filamento non è una specie frequente nelle nostre cellule, ma è presente nei virus e la capacità di riconoscerlo è importante per riuscire a identificare il virus e una potenziale infezione virale. Nel DNA, invece, si fa riferimento alle isole CpG che nei sistemi eucariotici che sono frequentemente metilate, nei batteri e nei virus non sono mai metilate, quindi riconoscere isole GPC nude può permettere di identificare la presenza di un'infezione virale. Questo tipo di strategia di identificazione di segnali pericolosi non è ristretto soltanto ai microrganismi, ma insieme ai PAMP ritroviamo un'altra categoria di ligandi generici di segnalazione, i **DAMP** (Danger Associated Molecular Pattern: strutture molecolari associate a pericolo). I recettori preformati devono non solo saper riconoscere le strutture associate agli agenti patogeni, ma anche uno stato di stress di un tessuto. Il macrofago o la cellula dendritica quando arriva nel sito di infiammazione, oltre a inglobare e a fagocitare il batterio o il virus, riesce a capire se l'ambiente è in uno stato di stress, grazie al riconoscimento di DAMP, **molecole rilasciate da cellule danneggiate e necrotiche**. Questo è un concetto molto importante e permette di comprendere il punto iniziale del percorso che determina anche l'immunità acquisita. Chiaramente non tutti gli eventi associati a batteri, virus o ad una ferita devono necessariamente stimolare la risposta immunitaria, perché è possibile che l'agente sia innocuo o non proliferante, quindi è importante che insieme al segnale associato all'agente patogeno ci siano dei segnali che facciano riconoscere la gravità della situazione (DAMP). Una quantizzazione della pericolosità del danno la possiamo riscontrare nelle cellule infettate da microrganismi che producono a loro volta altre proteine di segnalazione di stress come le Heat Shock Protein (HSP). Queste possono essere riconosciute da alcuni dei citati recettori preformati. Anche l'acido urico, che viene rilasciato a livello di tessuto danneggiato, o alcune

proteine nucleari segnalano una situazione di stress del tessuto, così come l'alto livello di HMGB1 (anfoterina), prodotto nel momento in cui il macrofago va ad eliminare alcune cellule, situazione di stress che provoca l'attivazione del sistema immunitario. I recettori preformati si trovano in tutti i compartimenti cellulari in cui i microorganismi possono essere presenti. I recettori sulla membrana plasmatica individuano i germi extracellulari, i recettori endosomiali i microorganismi fagocitati. I recettori citosolici, invece, individuano i microorganismi contenuti nel citoplasma.

Sono state individuate diverse classi di recettori:

-Recettori toll-like (TLR): Sono i recettori più noti. Nei mammiferi esistono dieci TLR, ciascuno dei quali riconosce una serie diversa di molecole microbiche. I TLR sono presenti nella membrana plasmatica e nelle vescicole endosomiali. In questi ultimi la parte recettoriale è rivolta verso l'interno in modo da individuare ciò che è stato fagocitato, infatti nel momento in cui avviene la fagocitosi, il TLR presente nell'endosoma può produrre un segnale aggiuntivo di attivazione. Ad esempio un acido nucleico di un virus non è libero nell'ambiente extracellulare, ma diventa disponibile nel momento in cui il virus è stato fagocitato dal macrofago, viene digerito il capsido e libera l'acido nucleico. A questo punto diventa possibile il legame con il TLR specifico. I TLR presenti, sia sulla membrana plasmatica che nelle vescicole endosomiali, inviano un segnale comune che culmina nell'attivazione di due fattori di trascrizione: **-NFκB:** fattore di trascrizione tipico dell'infiammazione che provoca uno stimolo pro-infiammatorio. È il master di questo processo. Stimola l'espressione di molecole di adesione, la sintesi e la secrezione di citochine, tutte essenziali per il reclutamento e l'attivazione dei leucociti. I TLR sono formati da due subunità, che si possono associare come omodimeri o eterodimeri. Quello che cambia tra i vari membri della famiglia è ciò che riescono a legare, ognuno di questi dimeri può riconoscere qualcosa di diverso a livello di PAMP o di DAMP. Ad esempio il lipopolisaccaride viene legato dal dimero TLR-4, il dimero TLR-5 lega, invece, la flagellina. Sono recettori preformati che coprono in maniera molto ampia un gran numero di potenziali batteri e virus patogeni.

-Recettori NLR e RLR: sono recettori citosolici. Rispondono ad una grande varietà di stimoli, tra i quali i prodotti delle cellule necrotiche, e alcuni prodotti microbici

-Recettori degli zuccheri (lectine): proteine in grado di riconoscere i polisaccaridi che successivamente legano tramite i numerosi domini che possiedono (In questa categoria appartengono anche i surfactanti, molecole rilasciate a livello degli alveoli polmonari). Le lectine possono avere anche altre funzioni, come quella di segnalazione, grazie ad un dominio intra-citoplasmatico di segnalazione, riescono a facilitare la fagocitosi dei macrofagi ed infine hanno l'importantissima funzione di opsonizzazione, soprattutto per quelle in forma solubile. Le lectine, infatti, si conoscono anche in forma solubile come collectine, proteine in grado di legare il mannosio o residui di mannosio ripetuti, spesso associati a batteri e/o funghi. Il vantaggio di produrre lectine in forma solubile è che queste si vanno ad appiccicare sulla superficie dell'agente patogeno e lo rivestono in modo da inibire la sua azione, in modo che il batterio non abbia più la capacità di legare il tessuto ed inoltre rendono l'agente patogeno più facilmente riconoscibile ai macrofagi. Una categoria molto importante di lectine sono le pentrassine, proteine prodotte dal fegato, rilasciate in circolo sotto il controllo delle citochine pro-infiammatorie, soprattutto in fase di infiammazione sistemica. Una di queste proteine è la proteina C reattiva (CRP), detta anche proteina della fase acuta. Se con le analisi del sangue la CRP ha valori maggiori o uguale a 3, significa che nell'organismo c'è uno stato infiammatorio. A livello funzionale biologico, il rilascio di proteine della fase acuta ha un ruolo fondamentale per la pulizia del sangue, in quanto riescono a legare eventuali agenti patogeni, li neutralizzano e ne facilitano l'eliminazione.

Funzione dei PRR (*attivazione*): Tra i vari meccanismi che si attivano, grazie al riconoscimento degli agenti patogeni da parte dei PRR, ritroviamo l'attivazione del sistema del complemento, la trasmissione del segnale intracitoplasmatico e la fagocitosi.

-Infiammazione (*attivazione*): L'infiammazione è alla base della fase di attivazione dell'immunità. L'infiammazione può essere scatenata da una ferita, dalla morte necrotica di cellule, può essere associata

all'infezione anche se questa non ha ancora procurato dei danni cellulari importanti. In questo caso le cellule che danno l'allarme e che mediano la risposta infiammatoria possono essere diverse. Tra le più importanti troviamo: i mastociti, cellule che non hanno capacità fagocitica, ma fungono da sentinella, primi sensori del pericolo, e i granulociti, cellule fagocitiche che riconoscono l'agente patogeno e sono in grado di scatenare una risposta infiammatoria tramite i mediatori dell'infiammazione. A valle di questo riconoscimento possiamo descrivere tre principali modalità di attivazione della risposta infiammatoria, distinte anche in base alla tempistica e alla velocità con cui si attivano e si realizzano:

1 Degranulazione: è la via più rapida associata al rilascio di granuli di secrezione. Nei mastociti, ad esempio, i granuli contengono istamina, proteasi e citochine, in particolare la citochina pro-infiammatoria TNF, tutti stimolatori dello stato infiammatorio. L'istamina agisce sull'endotelio aumentandone la permeabilità e il TNF, invece, è una citochina legata a diversi processi pro-infiammatori. Questo tipo di reazione è immediata, avviene nell'arco di pochi secondi a seguito della stimolazione.

2 Mediatori lipidici: hanno bisogno di più tempo per essere prodotti, ma è comunque una reazione rapida. Si parte da componenti della membrana, in particolare acido arachidonico, che tramite una via metabolica coinvolge ciclo-ossigenasi e lipo-ossigenasi per la produzione di metaboliti pro-infiammatori (prostaglandine, leucotrieni). Questa via è molto importante, infatti, è anche il bersaglio farmacologico più usato contro l'infiammazione. La maggior parte dei farmaci antinfiammatori vanno a bersagliare proprio questa via, in particolare le ciclo-ossigenasi.

3 citochine: hanno bisogno di più tempo per attivarsi, ma rappresentano la via che riesce a mantenere più a lungo lo stato infiammatorio, anche per giorni. Tra questi ritroviamo le citochine pro-infiammatorie: TNF, interleuchina-1 e interleuchina-6, che devono essere trascritte ex-novo, prodotte localmente, ma a differenza delle altre due vie sono anche rilasciate in abbondanza nel sangue in modo da riuscire a mediare anche gli effetti sistemici dell'infiammazione (es: aumento della temperatura, rilascio di proteine della fase acuta).

Da ciò deduciamo che l'immunità innata, oltre a rappresentare il primo processo fisiologico che si attiva contro gli agenti patogeni, ha anche l'importante funzione di mediazione dello stato infiammatorio, potendolo attivare e terminare. Un aspetto esemplificativo legato a questo concetto è quello dell'infiammazione cronica, la trasformazione patologica dell'infiammazione, che vede partecipare sia cellule dell'immunità innata che acquisita. Ne vediamo un esempio. La tubercolosi è una malattia infettiva contagiosa associata ad un batterio patogeno che potenzialmente dovrebbe essere eliminato tramite fagocitosi. Questo batterio, riesce a essere fagocitato, entra nel fago-lisosoma, ma il processo non si conclude in quanto il batterio mette in atto una serie di protezioni che lo rendono immune alla risposta del macrofago. Si andrà così a formare una struttura macroscopicamente più rilevante che prende il nome di granuloma, una tipologia di infiammazione non risolta che sfocia nell'infiammazione cronica. Il granuloma ha una struttura istologica ben precisa, può avere al centro una zona necrotica (necrosi caseosa) e tutta un'altra serie di cellule che si dispongono a cipolla. Già così si può intuire che questo aspetto gli permette di contenere l'infezione. All'interno di questo granuloma troviamo le cellule epitelioidi, cellule macrofagiche di forma allungata che hanno già fagocitato il batterio, ma che non riescono a distruggerlo (motivo per cui cambiano di morfologia e diventano cellule allungate). Il processo raggiunge uno stato stazionario, una cronicità che può non dare segni clinici, molti soggetti infetti da questo batterio, nelle fasi iniziali, non se ne accorgono, infatti, il test della tubercolosi viene eseguito su individui asintomatici. Il granuloma è però una formazione che può evolvere nel tempo distruggendo il tessuto e portando alla fibrosi. Possiamo così definire l'infiammazione granulomatosa una malattia di immunodeficienza, in cui il deficit appartiene all'immunità innata, che non risolve lo stato infiammatorio. Anche il virus dell'HIV genera immunodeficienza poiché debilita le difese ospite, ma in questo caso abbiamo un deficit dell'immunità acquisita. I granulomi li troviamo anche non associati ad agenti patogeni, ma in situazioni in cui c'è impossibilità nel degradare una determinata sostanza. Nelle patologie note come pneumoconiosi, partiamo dalla formazione di granulomi a livello polmonare a seguito di una digestione non degradabile di

particelle di varia natura, come talco o carbone e in ognuno di questi casi la patologia prende un nome specifico. Si tratta di sostanze chimiche particolarmente difficili da degradare che formano granulomi e conseguente infiammazione cronica. Se questa infezione si protrae nel tempo e si formano tanti granulomi, il corpo ne risente in maniera negativa e lungo tempo, anche nell'arco di 10/20 anni, si può avere displasia del tessuto e l'insorgenza di tumore al polmone.

-Fagocitosi (*eliminazione*): ne esistono di diversi tipi, per estroflessione, introflessione e macropinocitosi. La macropinocitosi è un processo aspecifico in cui il macrofago fagocita sostanze di grandi dimensioni (>5µm) senza la mediazione di recettori specifici. Negli altri casi di fagocitosi è necessaria, invece, l'azione dei recettori che legano ciò che deve essere fagocitato. Il riconoscimento può essere facilitato da lectine, che riconoscono una catena zuccherina presente su un batterio, da integrine, oppure da recettori che riconoscono i fattori opsonizzanti. Elementi che fungono da opsonina, sono importanti poiché vanno a ricoprire l'agente patogeno in modo tale da essere riconosciuto dal macrofago. Una volta che il fagosoma si è formato si fonde con il lisosoma in modo da degradare qualsiasi molecola inglobata tramite enzimi digestivi, come lipasi, glicosidasi, proteasi e nucleasi. La digestione enzimatica non è l'unico processo che può avvenire per la distruzione dell'agente fagocitato, ma esistono anche altri sistemi come lo scoppio respiratorio per i neutrofili o l'abbassamento del pH. Tutto ciò che viene digerito continua ad essere necessario per il sistema immunitario, non costituisce solo un prodotto di scarto, bensì può essere utilizzato per attivare l'immunità acquisita.

-Sistema del complemento (*eliminazione*): è un sistema di proteine solubili presenti nel sangue che svolgono un ruolo importante nell'immunità innata e acquisita. Le varie proteine si indicano con la lettera C seguita da un numero (C3). Se esaminiamo la concentrazione sierica dei vari fattori del complemento ci possiamo accorgere di un'anomalia: tra i vari fattori è presente una proteina espressa molto di più rispetto alle altre. In generale, infatti, i fattori del sistema del complemento si esprimono in µg/ml, l'unico che supera il mg è il fattore C3 (1400µg/ml). Ovviamente non è un caso, infatti, il **C3** è il fattore centrale del sistema del complemento verso cui convergono tutte le vie di attivazione ed è quello che determina il funzionamento a valle. Il sistema del complemento è un sistema a cascata in cui l'attivazione a monte regola, per propagazione, quella a valle. La maggior parte delle proteine del complemento dopo attivazione (cioè taglio enzimatico) genera due subunità "a" e "b". La subunità a solitamente è la più piccola, la b è la più grande e in più possiede una capacità proteolitica attraverso cui attiverà i successivi substrati nella catena, sempre nella stessa maniera, tagliando a da b. Anche la subunità a ha delle funzioni, ma non enzimatiche. Il punto di partenza di questo processo è il taglio proteolitico in cui si producono frammenti di a e b che formano i vari complessi, stimolano la propagazione del segnale, fino ad arrivare al punto chiave della cascata che è la **digestione del C3**. Questo è il punto in cui convergono i vari segnali di attivazione e dopo il quale le cose vanno sempre nella stessa maniera, quindi mentre a monte del C3 ci possono essere diverse strade, a valle si realizza sempre la stessa. Con la digestione del C3 abbiamo la sua idrolisi, si forma il C3b e il C3a. Come già anticipato, a monte del C3 le strade possono essere diverse. In particolare sono tre le vie di attivazione:
1 Via classica: è la via che viene attivata a seguito del legame tra anticorpo e antigene. (Qui è presente evidenza che dimostra come le due immunità si sovrappongono)

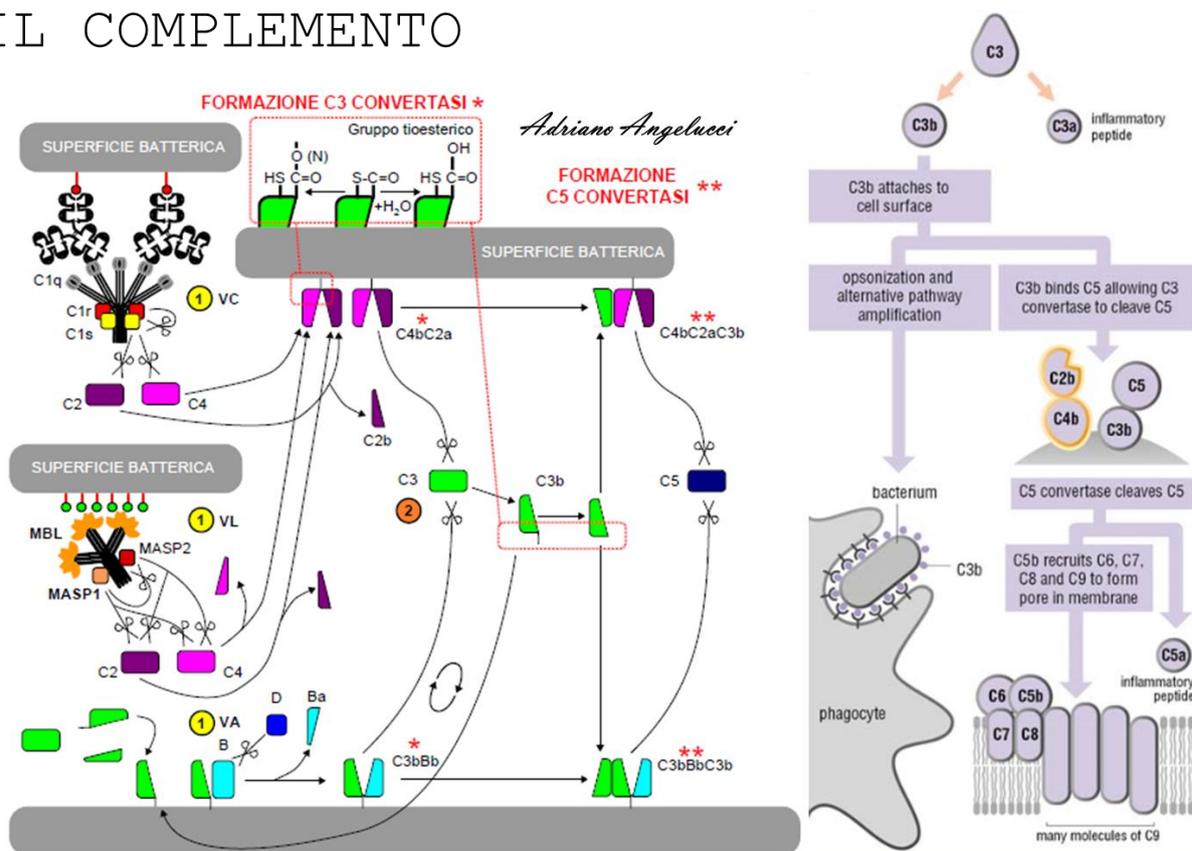
2 Via della lectina: si basa su un recettore preformato. La lectina si lega con il mannosio, riconosce direttamente il patogeno senza bisogno di anticorpi, ed è capace grazie ad altri intermedi di attivare la C3.

3 Via alternativa: è la via meno specifica, non ha bisogno di particolari recettori, ma è in grado di attivarsi direttamente mediante la superficie di alcuni agenti patogeni. In realtà questa non è una strada di attivazione, ma è più una strada di mantenimento: nel momento in cui il sistema del complemento si è attivato, la presenza di batteri o di altre superfici patologiche può amplificare l'attivazione.

Il punto nodale del sistema del complemento è l'attivazione del C3 con la formazione delle due subunità, C3a e C3b. Il C3a insieme ad un altro componente che si trova a valle, C5a, fungono da peptidi pro-infiammatori e

sono necessari per il reclutamento di fagociti o leucociti nella zona infiammatoria. IL C3b, invece, oltre ad essere un enzima che continua l'ulteriore propagazione della catena tramite taglio enzimatico, diventa esso stesso un'opsonina capace di legarsi ad un batterio e favorirne la fagocitosi (iC3b). A questo punto del processo si formano dei complessi di attacco alla membrana C5b, C6, C7, C8 e molti C9 che vanno a bucare la membrana dell'agente patogeno e la rendono permeabile in modo tale da poter lisare il batterio. Quindi, in conclusione, le strade a valle sono sempre uguali indipendentemente dalla partenza e prevedono induzione dell'infiammazione tramite C3a e C5a, la formazione di potenti opsonine iC3b, oppure la formazione di complessi di attacco alla membrana. Il nome "Sistema del complemento" deriva da una evidenza sperimentale specifica. Come abbiamo detto, i fattori del complemento sono presenti nel sangue e quindi si possono isolare dal siero. Nei primi esperimenti, quando ancora non si conosceva la funzione di questo sistema, si era notato che mettendo anticorpo e antigene in una provetta, in presenza di siero, questo facilitava l'azione litica delle cellule legate dall'anticorpo: il siero quindi era di "complemento" all'azione dell'anticorpo.

IL COMPLEMENTO



b. IMMUNITA' ACQUISITA

L'immunità acquisita o adattativa è l'espressione evolutiva massima del sistema immunitario. È la massima specializzazione per proteggersi dai parassiti. Per capire meglio questo aspetto dobbiamo sempre far riferimento al concetto che il sistema immunitario è basato sulla conoscenza dell'ambiente. Già nell'immunità innata tale concetto di conoscenza è sviluppato come recettori limitati e costanti che legano PAMP e DAMP. L'immunità acquisita, invece, estremizza tale strategia potendo produrre **recettori variabili** adatti potenzialmente a qualsiasi molecola pericolosa. L'altra caratteristica fondamentale che ritroviamo solo nell'immunità acquisita è la **memoria immunologica**: nel momento in cui incontra un agente patogeno e lo sconfigge, in caso di un successivo contagio da parte dello stesso batterio, non svilupperà più la malattia, ma tramite la memoria è in grado di ricordare le sue caratteristiche molecolari e di combatterlo rapidamente. Un aspetto negativo è che questa memoria muore con l'organismo e non si trasmette per via germinale. La potenza dell'immunità acquisita, quindi, si basa su questi due concetti: recettori variabili e memoria immunologica. Si tratta di una strategia molto efficace ma anche molto estrema che se non ben controllata può portare all'attivazione verso molecole innocue, ad esempio proteine self, generando così malattie auto-immuni. L'altro svantaggio è che per generare una risposta efficace basata su un recettore variabile ci vuole tempo (giorni), a meno che quel parassita non sia già stato incontrato, in questo caso entra in gioco la memoria immunologica.

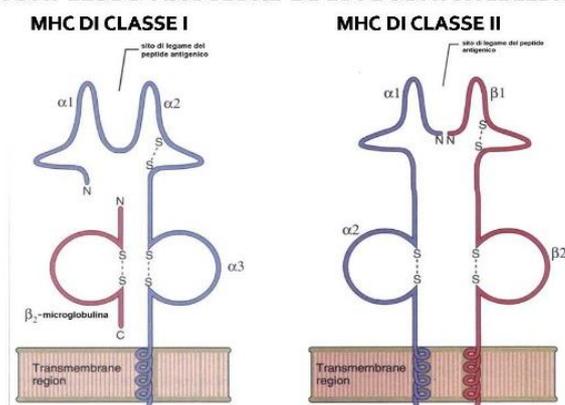
Il sistema immunitario acquisito è costituito nella parte cellulare dai linfociti T e B e nella parte umorale dagli anticorpi. I linfociti dell'immunità acquisita utilizzano tre categorie di recettori altamente diversificati, la cui variabilità per l'antigene è generata dal riarrangiamento somatico dei geni che codificano le proteine recettoriali:

***Recettori BCR (B-Cell Receptor) dei linfociti B:** Non sono altro che anticorpi legati alla membrana tramite una breve sequenza aminoacidica. Hanno due tasche di legame per l'antigene. Gli anticorpi sono una classe di glicoproteine formate quattro catene, due pesanti (H, heavy), e due leggere (L, light), ognuna ripetuta due volte. I domini di legame variabili sono due e sono formati dal contributo delle catene leggere e pesanti.

***Recettori TCR (T-Cell Receptor) dei linfociti T:** sono recettori formati da due catene (alfa e beta) che partecipano alla formazione di un'unica tasca di legame

I recettori TCR non riconoscono gli antigeni solubili bensì i peptidi legati ad un'altra categoria di proteine di membrana che sono fondamentali per l'attivazione dell'immunità acquisita, le proteine di membrana MHC

COMPLESSO MAGGIORE DI ISTOCOMPATIBILITA'



(Major Histocompatibility Complex). Le proteine MHC sono anch'essere espresse in centinaia di forme diverse, ma la loro variabilità non è ottenuta tramite ricombinazione somatica (vedi oltre).

***Recettori MHC/(HLA nell'uomo):** Le molecole di MHC sono glicoproteine di membrana la cui funzione è quella di legare e presentare peptidi alle cellule T, che li riconoscono tramite TCR.

Esistono due classi differenti di molecole dell'MHC (differenti per struttura, funzione e localizzazione):

-MHC di classe 1 (MHC-I), formato da una catena α polimorfica, unita da legami non covalenti a una proteina detta β 2-microglobulina che ha solo funzione strutturale. La regione extracellulare della catena α è divisa in 3 domini, α 1, α 2, α 3. I domini α 1 e α 2 formano una fenditura che corrisponde al sito di legame del peptide. Ogni MHC-I viene espresso solo se associato con un peptide.

-MHC di classe 2 (MHC-II), formato da due catene, α e β , entrambe polimorfiche, unite da legami non covalenti. Le porzioni extracellulari delle due catene sono formate da due domini α 1, α 2 e β 1 e β 2. Come nell'MHC-I, anche nell'MHC-II è presente una tasca di legame per i peptidi, formata dall'interazione di α 1 e β 1. Ogni MHC-II viene espresso solo se associato con un peptide. Ciò che accomuna più di tutto questi recettori è che possiedono una o più tasche di legame terminali, in cui si trova parte dell'antigene. Nel caso nell'MHC è la diversità della tasca che determina la possibilità di legame peptidi diversi. La strategia, quindi, sta nel fatto di avere MHC diversi per riconoscere peptidi differenti. Questa variabilità viene acquisita, a livello biologico, attraverso due meccanismi:

1 Poligenia: rappresenta il risultato sommativo dell'espressione di due o più geni che determinano un unico carattere fenotipico. L'MHC-I possiede una catena α che può essere espressa da tre geni che hanno co-dominanza: HLA-A, HLA-B e HLA-C e sono presenti sia sul cromosoma materno che su quello paterno, quindi in tutto ho 6 possibilità di trascrizione.

2 Polimorfismo: Per raggiungere la variabilità ho bisogno di più alleli. Il sistema HLA/MHC è uno dei più alti polimorfismi conosciuti, diverse centinaia di alleli. Ciò significa che potenzialmente ognuna di queste 6 posizioni, nella catena dell'MHC-I, può essere occupata da un allele diverso. Per l'MHC-II la situazione è più complessa, in quanto, sono due le catene che partecipano alla formazione del recettore sulla membrana, ognuna delle quali deriva da 3 regioni di espressione (HLA-DR, HLA-DQ e HLA-DP), e a volte anche in poligenia. È un livello di complessità ancora più vasto, perché un DR α materno si può combinare con un DR β paterno donando un ulteriore aumento della variabilità (assortimento trans).

L'MHC-I è espresso da tutte le cellule, esclusi gli eritrociti, l'MHC-II, invece, è espresso solo da alcune cellule del sistema immunitario: linfociti B, macrofagi, le cellule dendritiche e le cellule epiteliali del timo, in cui, la sua espressione è in funzione della maturazione dei linfociti T (tolleranza centrale). Affinché la classe recettoriale degli MHC venga espressa sulla membrana, deve essere associata ad un peptide di circa 8/9 amminoacidi, tramite il quale riescono a presentare l'antigene ai recettori TCR e di conseguenza al linfocita T. L'MHC di classe 1 viene associato al peptide prodotto dalla degradazione proteica del citoplasma: proteine citoplasmatiche sono degradate nei proteasomi e i peptidi derivati sono convogliati nel RE dove si legano alle molecole dell'MHC-I neosintetizzate. A questo punto le molecole dell'MHC-I si associano alla β 2-microglobulina formando un trimero stabile che viene trasferito sulla membrana cellulare. Questo passaggio è fondamentale, è importante che una cellula porti fuori pezzi di proteine prodotte dal citoplasma, in modo tale che il sistema immunitario controlli continuamente lo stato proteico all'interno della cellula, in quanto se questa fosse infettata da un batterio o da un virus, esprimerà proteine batteriche o virali che poi saranno degradate e caricate su MHC-I. Quindi la funzione dell'MHC di classe 1 è quella di valutare lo stato antigenico di tutte le cellule. Diversa è la situazione dell'MHC di classe 2, il peptide ad esso collegato deriva a seguito di endocitosi, fagocitosi: i peptidi derivati dalla digestione proteolitica si associano agli eterodimeri MHC-II all'interno delle vescicole e i complessi stabili peptide-MHC-II sono quindi trasferiti sulla membrana. In questo caso, oltre ad avere la funzione di presentare l'antigene al linfocita T, l'MHC-II riesce anche a vagliare quello che c'è

nell'ambiente extracellulare. Quando abbiamo parlato della fagocitosi abbiamo detto che in realtà a valle della formazione del fagolisosoma non c'è semplicemente un'escrezione dei prodotti di scarto, ma parte di essi possono essere espressi dalla membrana attraverso l'MHC di classe 2. Questo è un modo molto efficace per mostrare ai linfociti T quello che è stato fagocitato dai macrofagi. Tale processo è svolto in primis dalle cellule dendritiche che inoltre possono fare anche presentazione crociata: possono veicolare i prodotti degli endosomi e fago-lisosomi attraverso ambedue le classi MHC (vedi attivazione linfociti T citotossici). L'MHC-II è specializzato nell'attivazione dell'immunità acquisita. Nel momento in cui c'è un'infezione, un agente patogeno entra nell'organismo, viene fagocitato dai neutrofili e dalle cellule dendritiche. I linfociti non intervengono a questo livello poiché non si trovano sotto la cute, ma sono, in gran numero, negli **organi linfoidi periferici** come i linfonodi, la milza, l'appendice, le tonsille e le placche di Peyer. Questi tipi di organi sono strutturati in tre regioni: una regione follicolare in cui risiedono i linfociti B, un centro germinale all'interno della follicolare, e una regione distinta ma contigua in cui si trovano i linfociti T. Quindi nella regione follicolare dove risiedono i linfociti B c'è un'ulteriore specializzazione del tessuto detto centro germinale che è sicuramente presente a seguito di attivazione dell'immunità acquisita. Un organo linfoide periferico è normalmente ben collegato al resto del corpo tramite la rete linfatica e sanguigna per permettere l'entrata e l'uscita dei linfociti con grande efficienza e l'arrivo degli antigeni. Quest'ultimi possono giungere negli organi linfoidi per essere riconosciuti, passando forzatamente nelle due regioni, da soli, oppure veicolati da cellule che presentano l'antigene, cioè cellule dendritiche. All'interno del nostro corpo c'è una migrazione continua (ricircolo) di linfociti T e B, e in particolare, un linfocita naïve va in circolo tra i vari organi linfoidi pronto per essere attivato e diventare cellula effettrice. Ogni linfocita esprime un solo TCR (dominio variabile unico) quindi quando un antigene penetra nell'organismo attiva selettivamente sole le cellule che hanno un TCR specifico per quell'antigene. Questo concetto fondamentale è definito **attivazione clonale**. Seconda questa ipotesi, i linfociti esprimono recettori specifici per gli antigeni e maturano in cellule funzionalmente competenti prima dell'esposizione all'antigene. I linfociti che hanno la stessa specificità costituiscono un clone. Ne consegue che il numero di cellule specifiche per un antigene è molto esiguo, per questo motivo, per far sì che la risposta immunitaria riesca a svolgere la sua funzione formando un numero di linfociti effettori sufficiente, in seguito al riconoscimento, ci dovrà essere una fase di proliferazione clonale, che nei linfociti T è sostenuta dall'interleuchina 2 (IL-2).

Linfociti T: Tutti i linfociti T si sviluppano nel timo da precursori derivati dal midollo osseo. Esistono in due principali popolazioni di linfociti T che assolvono funzioni distinte. I Linfociti T helper svolgono una funzione di aiuto per l'attivazione di altre cellule del sistema immunitario. Ne esistono diverse sottopopolazioni (Th1, Th2, Tfh, Th9, Th17, Th22, Treg) che possono originare da un unico linfocita T naïve precursore (il fenomeno attivazione in una delle sottopopolazioni prende il nome di **polarizzazione**). I linfociti Tfh (T helper follicolari) sono quelli che aiutano i linfociti B nell'attivazione in plasmacellule secernenti anticorpi. I linfociti Th1 sono specializzati nell'assistenza dei macrofagi per stimolare maggiormente la fagocitosi. I linfociti T regolatori (anche detti T soppressori) sono una popolazione molto particolare in quanto sono immunosoppressivi e prevengono le reazioni contro gli antigeni self. Per i Treg è stata proposta una derivazione da linfociti T naïve che esprimono un TCR in grado di riconoscere, almeno parzialmente, autoantigeni. Tutti i linfociti Th hanno un corecettore associato al TCR che si chiama CD4 e che ne determina la possibilità di legame con l'MHC-II (ma non MHC-I, restrizione per MHC-II). Per questo motivo i linfociti Th sono anche denominati linfociti CD4+ (o CD4 positivi). Una modalità attraverso cui i linfociti effettori svolgono la loro funzione è tramite il rilascio di specifiche citochine. Questo tipo di risposta è la più potente tra quelle associate a linfociti Th ed è anche quella legata ad una maggiore aggressività verso i tessuti. Viene spesso associata alle reazioni di ipersensibilità. La polarizzazione T helper-1 esclude la polarizzazione di una cellula T naïve verso un T-helper-2, e tale polarizzazione errata (**immunodeviazione**) potrebbe essere una delle cause di danno da ipersensibilità. I linfociti Th2 producono IL-4 che favorisce la formazione di plasmacellule e anticorpi e di altre citochine (IL-5, IL-13) che attivano gli eosinofili. I linfociti Th17 secernono la citochina 17 (IL-17, da qui deriva il loro nome) che è in grado di reclutare neutrofili e monociti che distruggono alcuni batteri extracellulari, funghi e svolgono un

ruolo in alcune malattie infiammatorie. I linfociti Treg rilasciano le citochine anti-infiammatorie TGF-beta e IL-10.

Ben diversa invece è l'altra principale popolazione di linfociti T, i linfociti T citotossici (killer), che uccidono direttamente le cellule bersaglio (sempre dopo attivazione) e che riconoscono solo l'MHC-I grazie all'espressione del corettore CD8 (sono anche detti linfociti CD8+)

Ogni volta che c'è la necessità di avere una risposta specifica adattativa, c'è inevitabilmente bisogno dell'intervento dell'MHC. Nella prima presentazione dell'APC c'è bisogno dell'MHC-II, come c'è bisogno dello stesso recettore, insieme alle cellule T, per l'attivazione dei linfociti B. Eccezione fanno solo i linfociti T citotossici/killer poiché funzionano tramite un TCR che riconosce solo peptidi portati da MHC-I (si dice che sono ristretti per MHC-I). Questo perché il linfocita T citotossico deve andare a riconoscere le cellule bersaglio infettate da virus e l'unico MHC espresso su tutte le cellule è quello di tipo 1.

Linfociti B: sono le uniche cellule dell'organismo in grado di produrre gli anticorpi, i mediatori dell'immunità umorale. Il recettore BCR è rappresentato dagli isotipi anticorpali IgM e IgD. Le cellule B originano da precursori midollari. I linfociti B vengono attivati a plasmacellule negli organi linfoidi periferici, tramite un processo complesso che prevede sia il riconoscimento diretto degli antigeni patogeni che l'aiuto dei linfociti Th.

Presentazione dell'antigene:

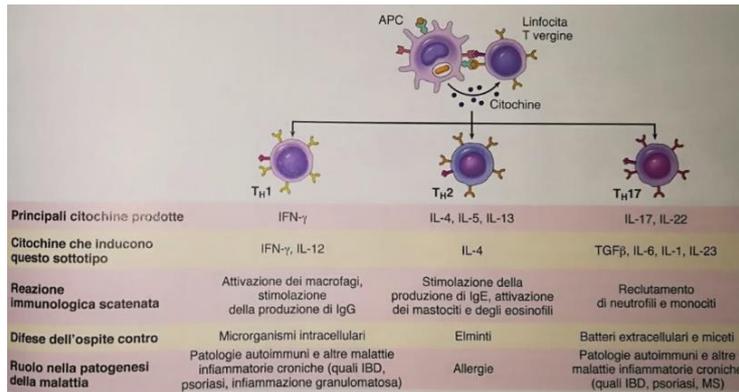
L'attivazione dell'immunità acquisita prende spunto dal contatto tra cellula dendritica e linfocita T negli organi linfoidi secondari. Tale processo prende il nome di presentazione dell'antigene e si realizza in diverse fasi.

1- Legame TCR-peptide-MHC-II: il primo e indispensabile evento è la formazione di un legame forte tra MHC-II/peptide (sulla cellula dendritica) e il TCR complementare (linfocita T).

2- Co-stimolazione: il solo legame TCR-MHC non è sufficiente e tra le due cellule si crea un contatto fisico molto stretto che prende il nome di "sinapsi immunologica", zona di contatto tra le membrane tenuto serrato dal legame tra integrine e ICAM, e che permette un fitto colloquio tra la cellula che presenta l'antigene e la cellula che deve essere attivata. Sono presenti tutta una serie di recettori e co-recettori per dare la conferma dell'attivazione. I principali co-stimolatori dei linfociti T sono le proteine B7 (CD80 e CD86), espresse da cellule che presentano l'antigene e riconosciute dal recettore CD28 dei linfociti T vergini. Questo tipo di comunicazione può durare anche ore, e deve essere efficiente perché poi a valle dell'attivazione è difficile tornare indietro.

3- segnalazione di citochine. I linfociti T vergini attivati dall'antigene e dai co-stimolatori negli organi linfatici periferici, proliferano e maturano, differenziandosi nelle varie cellule effettrici (polarizzazione). Una delle risposte precoci dei linfociti T helper consiste nella secrezione dell'interleuchina 2 (citochina=interleuchina), un fattore di crescita che agisce su queste cellule-T vergini e ne stimola la proliferazione, aumentando così il numero di linfociti antigene-specifici. La polarizzazione dei linfociti T effettrici serve per attivare la migliore risposta contro l'agente patogeno presente. La polarizzazione viene indirizzata dalle citochine presenti nel microambiente di attivazione ed eventualmente prodotte dalla cellula dendritica in modalità paracrina. ES: IL-12 polarizza verso Th1; IL-4 verso Th2; IL-6 verso Tfh; TGFb verso Treg .

Il microambiente in cui avvengono queste reazioni, quindi, permette la prevalenza di un certo tipo di citochina che orienta verso una determinata risposta. Una cellula APC in uno stato stazionario che presenta l'antigene, senza co-stimolazione non può attivare il linfocita. Al contrario induce uno stato di quiescenza nel linfocita che riceve questo segnale. Tale stato si chiama **anergia** ed è uno dei più importanti meccanismi di tolleranza periferica: è un meccanismo di difesa da parte dell'organismo per evitare attivazioni non volute. L'anergia viene superata solo nel momento in cui c'è una co-stimolazione adeguata, ad esempio, tramite l'espressione di CD80 da parte dell'APC e la costimolazione citochinica.

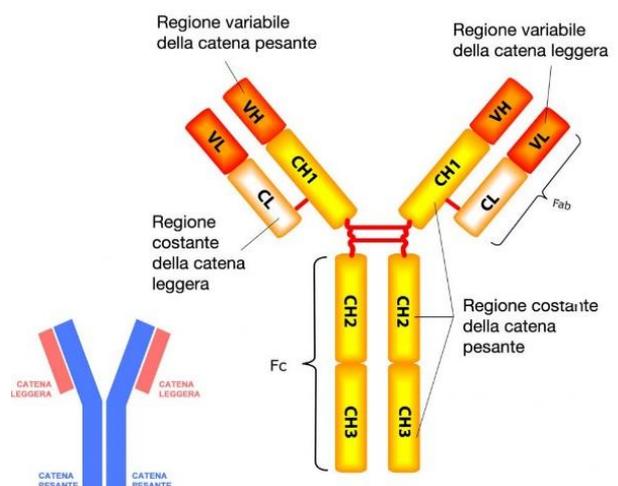


Un'ulteriore fase nell'attivazione della risposta acquisita è la generazione delle **cellule della memoria**. Contemporaneamente alla polarizzazione ci deve essere anche la proliferazione per la generazione di cloni antigene-specifici. Quando causa di danno viene eliminata, il virus debellato e l'infezione curata, il numero di cloni rimasti non ritorna al livello pre-attivazione, ma cellule della memoria persistono e si posizionano nel midollo o negli organi linfoidi periferici. Ciò fa sì che nel momento in cui l'organismo dovesse incontrare lo stesso agente patogeno ha già le armi pronte per combatterlo, e non si genera uno stato patologico. Il virus dell'influenza viene contratto spesso dall'uomo perché il ceppo virale stagionale è sempre antigenicamente diverso. A volte le persone più anziane risultano protette verso i ceppi influenzali che si sono già presentati nelle stagioni precedenti, proprio a causa della memoria immunologica.

ANTICORPI. Gli anticorpi sono entrati nella pratica biomedica in modo massiccio, non c'è attività a livello diagnostico o terapeutico i cui non si utilizzino anticorpi. Questo perché l'anticorpo riesce a riconoscere in maniera specifica un antigene, una proteina. È un sistema maturato con l'evoluzione, infatti li possiedono solo gli organismi a maggiore complessità. Li abbiamo studiati nella loro forma di membrana con i linfociti B, ma la loro forma funzionale di difesa, è quella secreta. Fanno parte della **famiglia delle immunoglobuline** che comprende numerosissimi recettori e proteine con le funzioni più disparate. Ciò che accomuna queste proteine sono i domini immunoglobulinici costituiti da molti foglietti- β , utilizzati soprattutto per quelle proteine che devono avere una stabilità molto alta, devono resistere in un ambiente extracellulare, non devono degradare facilmente e la loro conformazione tridimensionale deve rimanere stabile in vari ambienti extracellulari.

***Struttura:** Un anticorpo è costituito da **4 catene** peptidiche uguali a due a due: una coppia è formata da due catene corte, dette catene leggere L (*light*), l'altra da due catene lunghe circa il doppio, dette pesanti H (*heavy*). Queste catene sono legate fra di loro da ponti disolfuro. Nella catena pesante abbiamo quattro domini immunoglobulinici, in quella leggera ne abbiamo due. Nelle catene sono presenti **regioni variabile V** e **regioni costanti C**. Si conoscono nell'uomo cinque classi di catene H, che vengono indicate con i simboli γ , α , δ , ϵ e μ , contraddistinguono cinque tipi (isotipi o classi) di immunoglobuline: IgG, IgA, IgD, IgE e IgM. Anche per le catene leggere si conoscono due isotipi (kappa e lambda), e il 60% delle immunoglobuline presenta l'isotipo kappa. Tra il dominio variabile e quello costante ritroviamo una regione apparentemente poco ingombra con relativa mobilità, la **regione cerniera**, che permette orientare nello spazio una regione variabile rispetto all'altra in maniera indipendente ed è

STRUTTURA DI UN ANTICORPO



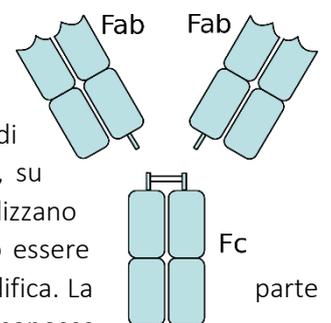
importante per conferire plasticità nelle possibilità di legame con l'antigene. Una struttura rigida può avere meno possibilità di legame. Non è stimabile quanti anticorpi diversi possediamo, ma è comunque un numero molto alto. Quando si parla di diversità anticorpale si prende in considerazione il diverso dominio variabile nei vari anticorpi che possono riconoscere svariati antigeni, circa 10^{14} . Il BCR ha una maggiore capacità di riconoscimento, circa 10^{18} antigeni. Questi numeri si ottengono tramite **ricombinazione somatica**. Tutti gli anticorpi che hanno la stessa parte variabile sono dello stesso **idiotipo**, tutti quelli che hanno diversa capacità di riconoscimento, ma stessa parte costante, sono dello stesso **isotipo**. (In realtà anche la sequenza costante al suo interno può avere una certa variabilità). Con il termine **allotipo**, invece, ci riferiamo alla diversità di sequenza nelle regioni costanti tra individui diversi. Se analizziamo il locus in cui vengono codificate le catene pesanti vediamo che ci sono tanti raggruppamenti di geni, in particolare ne possiamo distinguere 4: D, V, J e C. I primi tre contribuiscono alla formazione del dominio variabile, C, invece, va a formare la parte costante. In ogni raggruppamento, quindi, ritroviamo tanti geni che offrono varie possibilità di ricombinazione somatica per la formazione del gene effettore che poi verrà trascritto. Questa ricombinazione avviene grazie all'azione di alcuni enzimi specifici di nome **RAG: RAG-1 e RAG-2** che formano un complesso in grado di riconoscere le sequenze, tagliarle e ricucirle.

La generazione dell'anticorpo prevede quindi la ricombinazione delle sequenze, una prima trascrizione, lo splicing dell'RNA e conseguente formazione dell'RNA messaggero che conterrà una sola delle sequenze V, delle D e delle J. Con la ricombinazione delle varie sequenze ottengo una proteina diversa che andrà a costituire la variabilità della tasca dell'anticorpo. D e J, inoltre, si vanno a posizionare nella regione con più alta variabilità, perché oltre alla variabilità indotta dal riassortimento casuale, c'è ne sarà un'ulteriore, dovuta ai cambiamenti casuali dei nucleotidi nelle zone di confine. La differenza tra la catena pesante e la catena leggera è che in quest'ultima mancano le sequenze D, ci sono solo V e J. La ricombinazione somatica avviene anche nei linfociti T. Per il TCR abbiamo le sequenze V e J nella catena α e V, D, J, nella catena β .

***Nomenclatura delle porzioni funzionali:** per capire una nomenclatura di largo uso delle varie parti di un anticorpo partiamo dallo schema semplificato dell'anticorpo a Y e verificiamo come possiamo tagliarlo utilizzando due enzimi proteolitici diversi, la papaina e la pepsina.
 -Papaina: taglia al sotto dei ponti disolfuro e genera un frammento che comprende tutte e due le parti variabili legate tra di loro [**F(ab')₂**] e divise dalla zona **Fc** divisa nelle due catene pesanti residue.

-Pepsina: taglia al di sopra dei due ponti di solfuro e genera un frammento che comprende le due parti variabili separate [**Fab**] divise dalla zona **Fc**.

Il frammento Fab ha una possibilità di legame (monovalente), un sito variabile, mentre il F(ab')₂ ha due possibilità legame (divalente). Fab=frammento che lega l'antigene; Fc=frammento cristallizzabile/costante. Il peso di un anticorpo è intorno ai 150kDa, un Fab pesa 45KDa e un F(ab')₂ pesa intorno ai 100KDa. Il problema di utilizzare un anticorpo a scopo terapeutico è che finché è prodotto dall'uomo, su l'uomo non si hanno grossi problemi (vedi rigetto allotipo), ma solitamente si utilizzano anticorpi prodotti laboratorialmente con cellule di topo e difficilmente possono essere utilizzati interamente nell'uomo, infatti, si devono applicare delle strategie di modifica. La porzione clinicamente più importante dell'anticorpo è il dominio variabile che riconosce



l'antigene, quindi per utilizzarli in un organismo umano per scopi terapeutici, si trattiene solo la parte variabile prodotta con cellule di topo e si unisce con la regione costante dell'uomo. Da qui determiniamo **altri tipi di nomenclatura** che possono essere utilizzati: se formo un anticorpo artificiale e mantengo, dalle cellule del topo, solo i domini terminali della parte variabile, formerò un anticorpo **chimerico**, se invece costituisco un anticorpo artificiale e prendo dalle cellule del topo soltanto la sequenza della tasca variabile, le porzioni iper-variabili, formerò un anticorpo **umanizzato**, per 99% umano.

***Classi anticorpali:** si distinguono cinque classi, IgG, IgA, IgD, IgE e IgM
-IgG: hanno la classica struttura prototipo con 4 domini immunoglobulinici nelle catene pesanti. Tutti gli isotopi delle IgG sono molto simili nel numero dei domini, ma esistono dei sotto-isotipi come le IgG-1, IgG-2, IgG-3 e IgG-4 in cui quello che cambia è la lunghezza della regione cerniera e il numero di ponti disolfuro. È l'immunoglobulina più abbondante nel siero, circa 80% ed è l'arma finale più efficace che il sistema immunitario utilizza. Le IgG hanno l'emivita più lunga, circa 20gg, le altre immunoglobuline, invece, hanno un'emivita di pochi giorni o meno, le IgM 5gg.

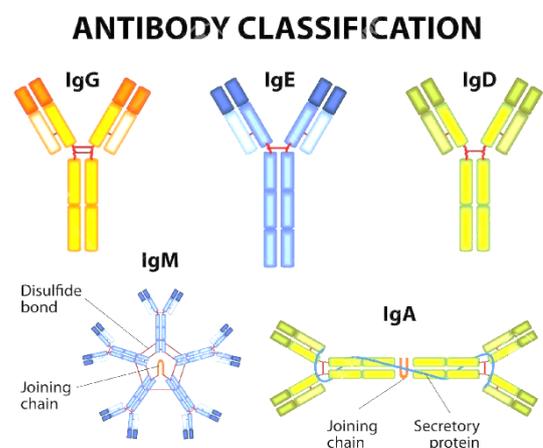
-IgA: hanno la struttura generale simile alle IgG, e nel siero costituiscono il 10% delle Ig totali. Nel siero sono in forma monomerica ma la loro principale struttura è la forma dimerica: si legano coda-coda tramite un peptide J (catena di legame= Joining chain), e in tale forma vengono secrete attraverso le mucose. Se consideriamo tutti i distretti del corpo, anche le mucose, la IgA dimerica è la Ig più abbondante. Si trova anche nelle lacrime, nella saliva e nel latte. Le altre immunoglobuline non attraversano gli epiteli, tranne in rari casi.

-IgD: è solo di membrana e la ritroviamo espressa in forma monomerica nei BCR. La sua presenza nel siero è scarsa e le sue funzioni nella forma solubile sono sconosciute.

-IgE: La troviamo a bassi livelli nel siero, ha una struttura che ricorda le IgM e non le IgG (5 domini immunoglobulinici nella catena pesante ϵ). Le sue funzioni sembrano essere ristrette alla difesa da grandi parassiti come nematodi ed elminti. Rappresentano la principale Ig nelle allergie.

-IgM: Rappresentano una dei due possibili BCR (IgM e IgD.) La catena pesante ha 5 domini, non 4. Nel siero è in forma pentamerica, forma una stella: le varie IgM sono legate fra loro tramite piccole catene proteiche. La IgM rappresenta la terza immunoglobulina per abbondanza nel siero.

***Affinità e avidità:** L'anticorpo lega l'epitopo attraverso la porzione variabile. La forza di questo legame rappresenta l'**affinità** ed è determinata da quanto la tasca riesca a riconoscere l'epitopo, più sono complementari, più è alta l'affinità. L'**avidità**, invece, rappresenta il numero di legami che il singolo anticorpo può fare con un determinato antigene. Ad esempio una IgM pentamerica può fare 10 potenziali legami, con una avidità molto alta, anche in presenza di una affinità bassa, riesce a legarsi saldamente ad un patogeno con epitopi ripetuti. Da ciò deduciamo che un IgM non ha bisogno di essere altamente specifica, può riuscire a legare bene anche con una bassa affinità.



FUNZIONI SVOLTE DAGLI ANTICORPI. Gli anticorpi rappresentano l'arma definitiva del sistema immunitario e le funzioni che svolgono sono cinque:

1- Attivazione del complemento: prevede che a monte del processo ci sia il legame antigene-anticorpo che a sua volta è riconosciuto dal fattore del complemento C1q

2-Neutralizzazione: l'anticorpo riconosce l'antigene, ci si lega, lo maschera e inibisce le sue possibili funzioni di legame. Sappiamo ad esempio che un virus per entrare all'interno della cellula non lo fa in maniera aspecifica, ma si serve di glicoproteine presenti sul capsido. Se produco anticorpi contro quella determinata glicoproteina, maschero la sua funzione e il virus non riesce a entrare nella cellula ospite. Neutralizzo, quindi, la capacità dell'agente infettivo di riconoscere la cellula bersaglio. È un efficace meccanismo di prevenzione, ad esempio le immunoglobuline dimeriche rilasciate dall'organismo a livello della mucosa, bloccano l'azione di batteri e virus, non permettendo loro di aderire sull'epitelio

3-Opsonizzazione: I macrofagi hanno recettori per la porzione costante delle immunoglobuline e nel momento in cui gli anticorpi hanno avvolto ed opsonizzato un bersaglio, questo viene riconosciuto più facilmente dalle cellule con capacità fagocitica

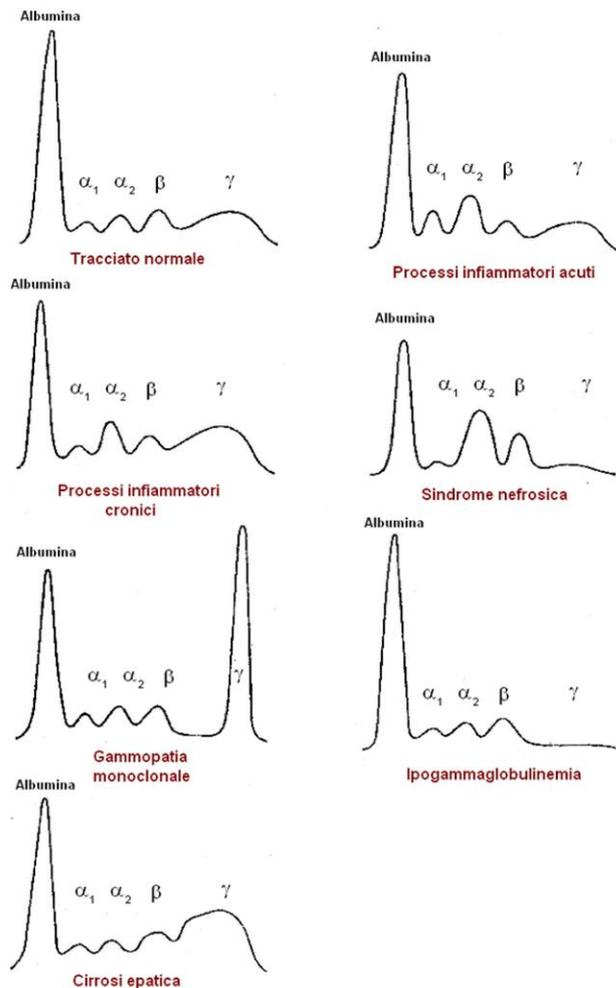
4- Degranulazione: I granulociti come gli eosinofili e i neutrofili possono attivare il rilascio dei granuli di secrezione contenenti agenti antimicrobici a seguito del riconoscimento del complesso antigene-anticorpo. che mettono in difficoltà l'agente patogeno.

5-Citotossicità (ADCC): Abbiamo visto la tossicità dipendente dall'MHC-I e dal linfocita T citotossico, ma conosciamo un'ulteriore citotossicità: quella dipendente dall'anticorpo legato alla cellula bersaglio. Ad esempio le cellule NK hanno recettori che permettono il riconoscimento della porzione costante dell'anticorpo.

L'isotipo funzionalmente più versatile è l'IgG e può svolgere tutte queste funzioni, l'IgD, invece, è un anticorpo quasi strettamente di membrana, non svolge nessuna delle funzioni elencate, ma serve soltanto al linfocita B per attivarsi. Tra questi due estremi ritroviamo nelle altre immunoglobuline tutta una serie di situazioni specifiche. Le IgM che sono fondamentali soprattutto per l'attivazione del sistema del complemento, grazie alla loro struttura pentamerica, infatti l'IgM con la sua alta avidità riesce a legare molto bene il batterio e a scatenare il complemento. L'IgA, invece, nella forma dimerica, vengono rilasciate sulle mucose e svolgono soprattutto la funzione di neutralizzazione. L'IgE rappresenta un isotipo specifico deputato all'attivazione dei granulociti.

Molte delle funzioni svolte dagli anticorpi prevedono quindi l'esistenza di un recettore per la porzione costante degli anticorpi che deve essere espresso sulle cellule effettrici. La degranulazione del neutrofilo, del mastocita o dell'eosinofilo, può essere fatta soltanto se esiste un recettore che lega la porzione costante dell'anticorpo. La famiglia di recettori deputati al riconoscimento della porzione costante dell'anticorpo sono gli **FcR**. In vari membri di questa famiglia sono rappresentati da recettori che riconoscono in maniera specifica un isotipo. L' $FcR\gamma$ legherà le IgG, l' $FcR\alpha$ legherà le IgA, l' $FcR\epsilon$ legherà le IgE. Ci sono casi particolari in cui alcuni recettori sono necessari per permettere l'attraversamento degli anticorpi negli epitelii. il **PIgR (recettore polimorfico delle Ig)**, ad esempio, permette la transitosi delle IgA secretorie nelle mucose, dalla porzione apicale a quella basale: Il PIgR lega le IgA, viene trasportato sulla superficie, avviene il taglio proteolitico e il conseguente rilascio dell'anticorpo sul lume. Il PIgR non è l'unico recettore di trasporto delle immunoglobuline, ma troviamo anche l'**FcRn** che permette il trasporto delle immunoglobuline G nell'epitelio intestinale. Al contrario di quello che succedeva per il PIgR, l' $FcRn$ trasporta le proteine dal lume all'interno e ne permette l'assorbimento. La enne finale sta per neonatale perché è un sistema di trasporto molto efficiente nei neonati. In questi ultimi è necessario, in quanto, non possedendo un sistema immunitario ben sviluppato, utilizzano le immunoglobuline presenti nel latte materno (IgG). Questo tipo di recettore è individuabile anche nell'adulto in diversi distretti, probabilmente è un meccanismo che allunga la vita delle immunoglobuline. Le IgG che sono ad emivita più lunga riconoscono questo recettore sulle cellule endoteliali che le assorbe.

Gli anticorpi presenti nel sangue possono essere usati a scopi diagnostici. A tal scopo si possono utilizzare i **tracciati di elettroforesi** (protidogrammi) che mostrano l'abbondanza relativa delle proteine sieriche. Tra le patologie ritroviamo le gammopatie monoclonali in cui si ha il picco delle γ -globuline, un chiaro segno diagnostico di tumori dei linfociti, in particolare dei linfociti B che proliferano in maniera incontrollata e producono immunoglobuline in eccesso. L'idiotipo di questi anticorpi è sempre uguale, è monoclonale, poiché il tumore è monoclonale, si sviluppa da un'unica cellula. Caso contrario lo ritroviamo nella patologia di immunodeficienza: la ipogammaglobulinemia, in cui non vengono prodotti anticorpi.



Attivazione dei linfociti B: Gli anticorpi sono prodotti dai linfociti B. Questi ultimi maturano nel midollo e diventano linfociti B naïve che esprimono il BCR di 2 isotipi di membrana: IgD e IgM. Una volta maturo il linfocita B va verso gli organi linfoidi periferici, così come il linfocita T, anche se quest'ultimo deve attuare un passaggio in più: passa prima per il timo. In questi organi linfoidi i linfociti T e B occupano regioni diverse. L'attivazione dei linfociti B è complessa e prevede 2 passaggi importanti: **-1 pre-attivazione:** avviene non appena il linfocita B nell'organo linfoide riconosce un antigene, lo porta all'interno per endocitosi e lo espone tramite MHC-II. La pre-attivazione porta anche la migrazione del linfocita B verso la zona di confine con la regione dei linfociti T.

2- attivazione l'antigene è presentato ad un TCR di un linfocita T helper maturo, non naïve. Qui c'è la possibilità che il linfocita B diventi plasmacellula la cui funzione principale è quella di riuscire a formare anticorpi contro l'antigene per cui c'è stata la presentazione. L'antigene è una proteina che può avere tanti epitopi: zone diverse che possono essere riconosciute, quindi non si creerà mai solo un'unica plasmacellula (anticorpo) per

quell'antigene, ma se ne formeranno diverse a seconda di quanti epitopi possiede e/o possono essere riconosciuti. Le prime plasmacellule producono la prima linea di difesa e rilasciano IgM.

-3 Formazione del centro germinale: In realtà il sistema immunitario, almeno nell'uomo, avvia un secondo round di maturazione: **la maturazione di affinità**, in cui sceglie di produrre anticorpi ancora più affini per quel determinato antigene. Per fare ciò i linfociti B e T helper migrano verso la zona B per formare i **centri germinali**. Questi possono diventare istologicamente evidenti solo in corso di una risposta immunitaria, all'interno dei follicoli.

Nella maturazione avvengono due cose fondamentali:

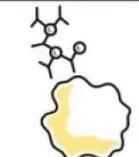
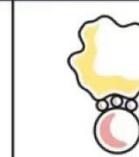
-cambio di isotipo: le prime plasmacellule che vengono attivate nella pre-attivazione producono quasi esclusivamente l'isotipo IgM. Nel cambio di isotipo le plasmacellule da IgM riescono a produrre le IgG, immunoglobuline che offrono una risposta più efficace e versatile. In questi centri germinali ci può essere la scelta di produrre non solo le IgG, ma anche proteine secretoria come l'IgA o proteine efficaci contro i vermi parassiti come le IgE

-l'iper-mutazione somatica: Per creare delle proteine più affini viene modificata la parte variabile a livello del DNA introducendo mutazioni puntiformi. Questo è l'unico momento della vita di un individuo in cui l'organismo sfrutta le mutazioni in maniera volontaria. Dopo la modifica delle parti variabili avviene il controllo nella zona di selezione, detta anche zona scura (molti linfociti B). Qui si ha il filtraggio delle cellule che hanno subito la mutazione tramite l'intervento dei T helper follicolari e di cellule dendritiche specifiche che permettono di ricontrollare se l'anticorpo prodotto sia realmente giusto per quell'antigene e che lo legghi in modo migliore. Se vi è perdita di affinità il linfocita B va in apoptosi. Tutto ciò permetterà di avere un esercito di plasmacellule a maggiore affinità e cellule della memoria particolarmente efficienti per il futuro. Tale strategia di maturazione del sistema immunitario appartiene ai mammiferi e agli uccelli. Il cambiamento di classe lo ritroviamo anche negli anfibi, ma non in questi animali non esistono i centri germinali.

Attivazione T-indipendente. In realtà le plasmacellule possono attivarsi secondo due modalità: T-dipendente, descritta precedentemente e T-indipendente in cui riescono a formarsi plasmacellule anche senza i linfociti T helper. Quest'ultimo caso produrrà sicuramente una risposta più veloce, ma funziona solo con determinate molecole, in particolare con gli antigeni detti T_i (T-indipendenti) come l'LPS. Quest'ultimo è un PAMP riconosciuto anche dai PRR e la parte zuccherina della sua catena può attivare una sottopopolazione di linfociti B, i B1, la cui proliferazione e produzione di anticorpi non ha bisogno di T-helper. Solitamente l'attivazione T-indipendente porta alla produzione solo di IgM, non c'è cambio di isotipo. Questo tipo di immunoglobuline vengono anche denominate anticorpi naturali e sono spesso importanti a livello clinico perché rappresentano un pull di anticorpi con caratteristiche di protezione innata. Ad esempio sono responsabili del riconoscimento dei gruppi sanguigni e del rigetto nelle trasfusioni. (Un gruppo sanguigno A avrà anticorpi naturali contro B perché ha subito un'attivazione di altra natura T-indipendente molto probabilmente legata ad un mimetismo su antigeni batterici.)

3. MALATTIE DA IPERSENSIBILITA'

L'immunità acquisita è un sistema molto complesso e finemente regolato, il cui corretto funzionamento è fondamentale per mantenere lo stato di salute. Questo include anche l'assenza di una risposta eccessiva. In presenza di un deficit parliamo di **immunodeficienza**, invece, quando un sistema immunitario pienamente funzionale danneggia i tessuti in maniera patologica parliamo di **reazioni immunopatogene** o anche dette di **ipersensibilità**. Questo tipo di malattie derivano da un'eccessiva attivazione dell'immunità. I sintomi sono molto eterogenei, possiamo passare da semplice disagio fino ad arrivare alla morte e visto. Si tratta di malattie che riguardano l'immunità acquisita e per questo motivo è necessario che ci sia una prima fase di sensibilizzazione, un primo contatto con il self e/o con l'antigene estraneo, per attivarsi e scatenare la risposta immunitaria. Possiamo classificare le varie reazioni di ipersensibilità in 4 categorie principali:

	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV
Elementi immunologici coinvolti	IgE	IgG	IgG	Cellule T
Antigene	Molecola solubile	Molecola associata alla cellula	Infiemmazione o citotossicità mediata da cellule T	Molecola associata alla cellula o solubile
Illustrazione				
Meccanismo	Attivazione delle mast-cellule mediata dalle IgE	Fagocitosi mediata dal sistema del complemento	Danno tissutale da immunocomplessi	Infiemmazione o citotossicità mediata da cellule T
Esempi	Rinite allergica, asma allergico	Orticaria cronica (auto-anticorpi)	Malattia da siero, Reazione di Arthus	Sclerosi multipla, Dermatite da contatto, Morbo di Crohn, Artrite reumatoide

-Tipo 1 (reazioni da ipersensibilità immediata): Il danno è causato dalla produzione di anticorpi IgE verso antigeni solubili (detti allergeni). Il legame IgE-allergene causa l'attivazione di mastociti. Questi rilasciano mediatori e citochine proinfiammatorie. L'IgE è un anticorpo che svolge poche funzioni, non rilevabile normalmente nel siero e l'unico processo che riesce ad attivare in maniera efficace è la degranulazione di mastociti, basofili e eosinofili (portatori del recettore FcRε). Questo tipo di ipersensibilità scatena a livello clinico le allergie (o malattie atopiche) e lo shock anafilattico.

-Tipo 2 (reazioni mediate da anticorpi): si basa sulla produzione di IgG (o IgM) patologiche. Gli anticorpi possono riconoscere sia antigeni solubili, sia proteine di membrana. A valle di questo riconoscimento, gli anticorpi secreti danneggiano le cellule promuovendone la fagocitosi o la lisi attivando le vie del sistema del complemento. Nelle manifestazioni cliniche di questo tipo di ipersensibilità possiamo ritrovare l'anemia emolitica autoimmune in cui vengono distrutti gli eritrociti a valle di produzione di anticorpi che riconoscono antigeni espressi sulla superficie dei globuli rossi. Quando un anticorpo lega i recettori di membrana può anche diventare un agente biologico (evento raro): un antagonista che blocca il processo di attivazione del ligando verso un determinato prodotto (es: recettore dell'acetilcolina nella myasthenia gravis), oppure un agonista e causare una iperattivazione (recettore TSH nella sindrome di Graves).

-Tipo 3 (malattie da immunocomplessi): sono basate sulle immunoglobuline IgG che si legano generalmente ad antigeni circolanti e la reazione che avviene porta alla formazione di immunocomplessi antigene-anticorpo che si depositano nel sangue e attivano la reazione del complemento. L'infiammazione recluta i leucociti che

rilasciano enzimi lisosomiali e radicali liberi responsabili dei danni tissutali. La formazione di immunocomplessi nel avviene in presenza di concentrazioni relativamente elevate di antigeni, e può manifestarsi a seguito di somministrazione di siero di altra specie animale (malattia da siero o reazione di Arthus) o in alcune malattie autoimmuni, contro gli antigeni nucleari (lupus eritematosi sistemico).

-Tipo 4 (reazioni immunitarie cellulo-mediate): si differenzia dai primi tre tipi in quanto gli anticorpi non giocano un ruolo predominante. I protagonisti sono infatti i linfociti T sensibilizzati (cellule T-helper e/o citotossici) I T helper si attivano a seguito del riconoscimento di un antigene solubile e hanno come effetto l'attivazione dei macrofagi e dei neutrofili con conseguente infiammazione. I linfociti citotossici CD8+, invece generano citotossicità a seguito del riconoscimento di un antigene espresso da una cellula bersaglio. Negli esempi di questo tipo di ipersensibilità ritroviamo la dermatite da contatto, la sclerosi multipla, il diabete di tipo 1, la tubercolosi.

***Ipersensibilità di tipo 1 (ipersensibilità immediata):** è una reazione immunologica che si scatena in soggetti precedentemente sensibilizzati, dopo che l'antigene si è legato agli anticorpi IgE presenti sui mastociti. Queste reazioni sono anche dette allergiche e gli antigeni scatenanti sono gli allergeni. Questo tipo di ipersensibilità si può scatenare in pochi secondi o minuti come reazione sistemica o locale. Ciò che determina il verificarsi di un sintomo rispetto ad un altro è la via di contatto con l'allergene (inalatoria, digestiva, cutanea, endovenosa), e poi il tipo di allergene :

-via cutanea: il contatto con un allergene porta ad una risposta immediata che può generare gonfiore, prurito, rossore, calore. (sovrapponibili ai segni di infiammazione ma più intensi).

-Via respiratoria: tosse, starnuti, difficoltà respiratorie, arrossamento oculare, congiuntivite. Per alcuni soggetti sono sintomi sopportabili che si manifestano stagionalmente, altri individui, come i soggetti asmatici, manifestano una forma più grave e devono tenere sotto controllo questo tipo di ipersensibilità con farmaci.

- via gastrointestinale: provoca vomito e/o diarrea, ma anche spesso orticaria e possono essere associati a shock anafilattico

-Intravascolare: è il più grave perché può determinare effetti sistemici importanti sulla vascolatura. Ipersensibilità di questo tipo possono provocare capogiro, aumento delle pulsazioni, collasso circolatorio e nei casi più gravi morte.

Le allergie più pericolose (dopo quelle con allergeni intravascolari) sono quelle alimentari e quelle associate al veleno di insetti.

ASPETTI MOLECOLARI della risposta allergica

Le manifestazioni di questo tipo di ipersensibilità appaiono generalmente dopo qualche minuto dall'esposizione all'allergene e tendono a diminuire nel giro di qualche ora, fino a scomparire dopo 24 ore in assenza di un'ulteriore esposizione all'antigene. L'organismo non scatena una reazione allergica al primo contatto con l'antigene, ma essendo una reazione di ipersensibilità deve esserci uno primo stato di sensibilizzazione in cui vengono prodotte le IgE e queste devono raggiungere una concentrazione sufficiente nel sangue. Ad un secondo contatto con l'allergene, il sistema immunitario genera una risposta secondaria rapida che progressivamente, in presenza dell'allergene, richiama un infiltrato leucocitario (eosinofili, neutrofili, monociti, linfociti T CD4+) con distribuzione tissutale che interessa generalmente la mucosa. A livello diagnostico si può capire se l'individuo è un soggetto allergico se le IgE presenti nel sangue sono in concentrazioni elevate. Più semplice ed economico è il test che inietta una piccola quantità di allergene sottocute (prick test), e che provoca una reazione infiammatoria locale (ponfo).

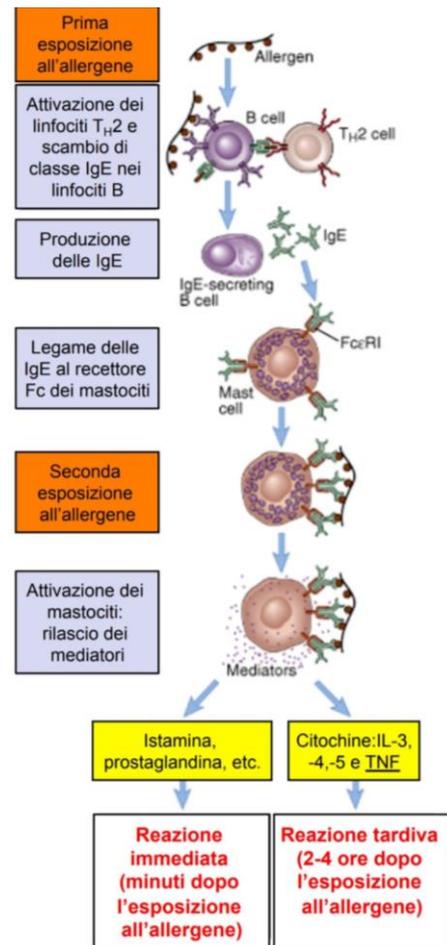
Prima esposizione: l'allergene è un antigene in grado di attivare una risposta Th2 con produzione di IgE. La presentazione dell'antigene ai linfociti T helper CD4+ vergini probabilmente avviene per opera di cellule dendritiche che catturano l'antigene al suo ingresso nei tessuti. In risposta alla stimolazione, i linfociti T si polarizzano in linfociti T helper-2 che producono una serie di citochine che inducono il cambiamento di classe verso le immunoglobuline IgE.

Le IgE possono quindi legarsi e rimanere legate ai recettori Fcε espressi sui mastociti.

Seconda esposizione: la reazione diventa immediata con l'attivazione di mastociti nella zona di contatto. Le IgE legate ai recettori Fc specifici attivano i mastociti stimolando la degranulazione. Con l'attivazione dei mastociti si ha il rilascio di mediatori preformati (primari) e la neosintesi e il rilascio di mediatori secondari (mediatori lipidici e citochine). I mediatori primari comprendono le ammine vasoattive, come l'istamina che provoca spasmo del muscolo e aumento della permeabilità vascolare. Tra i mediatori secondari ritroviamo (1) i mediatori lipidici come le prostaglandine e (2) le citochine come il TNF e le chemochine che contribuiscono al reclutamento di leucociti e citochine proinfiammatorie. Nella fase tardiva vengono reclutati gli eosinofili e i basofili, attivati dalla citochina Th2 IL-5, che migrano nei tessuti interessati da reazioni di ipersensibilità immediata e una volta attivati causano il rilascio di enzimi proteolitici che possono danneggiare i tessuti mantenendo lo stato di infiammazione.

I farmaci usati per le allergie (anti-istaminici) bloccano questo tipo di reazione a monte, in particolare bersagliando l'istamina, il primo mediatore dell'infiammazione rilasciato dai mastociti.

Sviluppo delle allergie: Non è nota l'eziologia delle malattie allergiche. Ci sono evidenze che suggeriscono un ruolo dell'ambiente durante la crescita. Le prime suggestioni, di quella che poi è stata conosciuta come ipotesi dell'igiene, sono state proposte da Strachan nel 1989. In particolare nelle famiglie con più figli, si è verificato che nei bambini più piccoli l'incidenza delle allergie era minore rispetto al primogenito, o in ogni caso la malattia che si verificava era molto più lieve. Il contatto con agenti microbici nelle fasi dello sviluppo sembra proteggere da ipersensibilità. Questa ipotesi fa crollare il paradigma in cui sarebbe meglio vivere in ambienti sterili per non affaticare il sistema immunitario in una fase in cui è ancora non pienamente sviluppato. Il



sistema immunitario nelle prime fase della vita (periodo neonatale, primi anni di vita) deve necessariamente incontrare antigeni per acquistare conoscenza dell'ambiente e per formare l'adeguata tolleranza. L'ipotesi dell'igiene la possiamo riassumere dicendo che la pulizia antigenica, nei nostri ambienti, fa sì che il sistema immunitario non riceva più le adeguate istruzioni che gli consentono di attivarsi in maniera efficace e sicura. I nostri ambienti sono più "puliti" ed è possibile che più facilmente avvengano errori nella formazione della tolleranza. L'addestramento a livello molecolare può attuarsi attraverso la corretta attivazione dei T-reg, linfociti T immunosoppressori che, tramite citochine antinfiammatorie, tengono a bada e dirigono la risposta immunitaria. I Treg sono coinvolti anche nelle malattie autoimmuni, e provengono evidenze della validità dell'ipotesi dell'igiene anche per queste malattie. Infatti nei topi NOD, modelli sperimentali di diabete di tipo 1 si è visto che evitare le condizioni di sterilità ed anzi l'infezione di diversi parassiti rallentano o impediscono l'insorgenza della malattia autoimmune.

Il **microbiota** nei primi anni di vita svolge sicuramente un ruolo fondamentale nell'istruzione della tolleranza. Il suo principale compito non è soltanto quello di difenderci dalla proliferazione di agenti patogeni tramite la competizione, ma sempre più evidenze stanno dimostrando la sua importanza nella modulazione della risposta immunitaria. Sono tanti i batteri simbiotici a livello intestinale e un ruolo positivo è stato associato ai lattobacilli. Questi crescono bene in un ambiente acido in cui c'è il lattosio. Il fatto che questo tipo di microbiota positivo sia stimolato soprattutto con una dieta a base di latte non è un caso, infatti il latte è l'unico alimento del neonato, suggerendo quindi una stretta connessione tra lo sviluppo del sistema immunitario e la formazione del microbiota intestinale. Nel latte, inoltre oltre ad esserci gli zuccheri che permettono la crescita di questi batteri, ci sono anche sostanze prebiotiche (oligosaccaridi: Human Milk Oligosaccharides) che favoriscono in maniera specifica la crescita di alcuni particolari ceppi, in modo da creare un ambiente ideale per lo sviluppo di una specifica flora intestinale. Il sistema immunitario utilizza le informazioni provenienti dal microbiota grazie all'esistenza di un sistema diffuso di follicoli a ridosso delle mucose (organi linfoidi di mucosa, organi linfoidi secondari) (Primari= midollo e timo per la maturazione dei linfociti. Secondari/periferici= ricevono i linfociti naive maturi). Gli organi linfoidi di mucosa sono distribuiti su tutto il nostro organismo e in base alla loro posizione e funzione assumono una denominazione diversa: NALT (tessuti linfoidi associati naso/bocca), BALT (tessuto linfoide associato ai bronchi) etc. Il più importante e il più esteso è il GALT: placche del Peyers (organi linfoidi associati a livello gastro-intestinale). Questi organi linfoidi sono posizionati al disotto della mucosa in particolari distretti e in tali zone si ha un epitelio specializzato chiamato epitelio associato al follicolo.

Tre sono le caratteristiche peculiari di questo epitelio:

-Muco: In queste zone il muco è più rarefatto perché mancano le cellule specializzate che lo producono (cellule caliciformi, o cellule goblet)

-morfologia: nell'intestino tenue nelle zone associate al follicolo mancano i villi e le cripte, caratteristiche del resto dell'epitelio

-leucociti: nella tunica mucosa ci sono addensamenti di linfociti a stretto contatto con lo strato epiteliale

-Cellule M: 1 su 10 cellule epiteliali è una cellula specializzata (cellula M, "microfold", micropiegata) che funge da porta per il passaggio di macromolecole e batteri dal lume verso la zona basale. Questa è la rappresentazione più eclatante dell'importanza dell'ambiente del lume a livello di sistema immunitario. Sappiamo che la mucosa intestinale non assorbe gli antigeni interi, essi vengono degradati e poi assorbiti come amminoacidi. Le cellule M, invece, sono in grado di captare e assorbire interi antigeni. Al disotto delle cellule M, a stretto contatto, ci sono linfociti e cellule dendritiche che rappresentano punti di osservazione attraverso cui il sistema immunitario esamina l'ambiente del lume. I follicoli intestinali sono inizialmente in numero limitato, si sviluppano progressivamente nel periodo neonatale e aumentano di numero fino allo svezzamento e anche oltre. Solo nell'adulto si raggiunge il numero limite di organi linfoidi associati a mucosa. Il fatto che

l'organismo acquisisca tolleranza (tolleranza orale), quindi dipende da un addestramento a livello del tratto intestinale in cui il microbiota gioca sicuramente un ruolo importante. L'ipotesi dell'igiene è coerente con questo modello.

***Ipersensibilità di tipo 2 (ipersensibilità mediata da anticorpi):** Gli anticorpi che riconoscono antigeni di membrana e della matrice extracellulare causano malattie poiché distruggono le cellule, scatenano la flogosi o interferiscono con le normali funzioni fisiologiche. I principali protagonisti sono le IgG e le IgM e gli effetti della loro produzione è l'attivazione del complemento, eventuale lisi e/o fagocitosi. Nel caso in cui si ha il riconoscimento di antigeni di membrana si ha l'opsonizzazione e la fagocitosi delle cellule. Nel caso, invece, in cui si ha il riconoscimento di antigeni di matrice si ha l'attivazione del sistema complemento e il richiamo leucociti, quindi uno stato infiammatorio. Gli antigeni che vengono riconosciuti possono essere self o non-self. Nel primo caso parliamo di malattie autoimmuni in cui un antigene self viene riconosciuto come estraneo e viene attivata una risposta immunitaria verso di esso. Una famiglia di malattie riconducibili a ipersensibilità di tipo 2 sono le anemie immunoemolitiche, in cui gli anticorpi che vengono prodotti vanno a distruggere i globuli rossi. Le anemie vengono diagnosticate tramite misurazione dell'ematocrito (anemia=ematocrito <37% nelle donne, <40% negli uomini).

Riassumiamo prima la classificazione generale delle anemie:

- 1- IPORIGENERATIVA (Ridotta funzione degli eritrociti): L'emopoiesi del midollo non avviene correttamente. L'anemia aplastica fisiologica o indotta ricade in questo tipo di anemia. Una condizione clinica in cui si rischia l'anemia aplastica è a seguito di terapie in cui si hanno farmaci che vanno ad inibire la proliferazione cellulare, come la chemioterapia tumorale o la radioterapia. Anemie basate su mutazioni di linea germinale: un esempio son le talassemie in cui c'è una corretta produzione di globuli rossi, ma questi non sono funzionanti. Carenza di vitamina B12 e acido folico: sono necessarie per l'emopoiesi dei globuli rossi
- 2- IPER-RIGENERATIVA: il difetto sta in un'eccessiva distruzione dei globuli rossi. Tra queste abbiamo l'anemia immunoemolitica e le anemie emolitiche su basi enzimatiche. Quest'ultime sono anemie dovute a difetti presenti su alcuni enzimi dei globuli rossi, come la G6PD o la piruvato-chinasi.
- 3- SANGUINAMENTO ACUTO: la perdita di molto sangue induce un temporaneo stato di anemia.
* Tra le anemie iper-rigenerative ritroviamo le Anemie enzimatiche e l'anemia immunoemolitica. Nelle prime la deficienza della piruvato-chinasi è importante per la produzione di ATP nei globuli rossi che è possibile grazie alla glicolisi, serve per il mantenimento dell'eritrocita stesso e dell'equilibrio osmotico con il sangue attraverso le pompe Na K. Con la deficienza dalla piruvato-chinasi l'eritrocita non riesce più a produrre ATP e non si ha più la conservazione dell'integrità di membrana. Ciò porta ad un'emivita molto più breve degli eritrociti e ad una conseguente anemia enzimatica. Una situazione apparentemente simile è la deficienza del G6DP in cui non parliamo di metabolismo energetico, ma di protezione dallo stress ossidativo. L'eritrocita ha bisogno di proteggersi da quest'ultimo e solitamente riesce a farlo grazie alla produzione continua di NADPH che si genera grazie all'intervento della G6DP. Esistono una serie di varianti di questo enzima che lo rendono meno funzionante e l'eritrocita non riesce più a difendersi dalle specie reattive dell'ossigeno. Si conoscono anche delle varianti che sono asintomatiche in cui l'enzima funziona, ma con qualche piccola carenza e in condizioni ambientali particolari questa deficit si manifesta, come nel caso del favismo. In questa situazione patologica i soggetti non possono mangiare, o in casi più gravi, sentire l'odore delle fave perché l'anemia viene indotta da una sostanza rilasciata da questi legumi che scatena la presenza di una variante del G6DP molto comune, antica e particolarmente presente africa. Nelle Anemie immunoemolitiche, invece la distruzione del globulo rosso è causata dal sistema immunitario che riconosce i globuli rossi come pericolosi

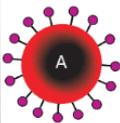
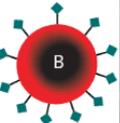
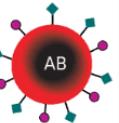
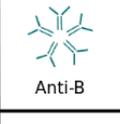
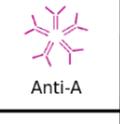
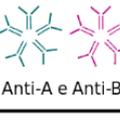
Ci sono 3 principali categorie di anemia immunoemolitiche:

-1 Autoimmuni: Il sistema immunitario produce anticorpi IgG (anemia da anticorpi caldi) e IgM (anemia da anticorpi freddi) contro gli eritrociti. Può essere idiopatica o secondaria a infezioni o altra malattia autoimmune.

-2 iatrogene: solitamente un abbondante somministrazione di un farmaco come la penicillina modifica temporaneamente la superficie dell'eritrocita, il sistema immunitario non lo riconosce come antigene-self e lo attacca. (altri farmaci responsabili sono la chinidina e la metil-DOPA)

-3 Trasfusioni/gravidanza non compatibili: si ha un rigetto del sangue o del feto. Trasfusione non compatibile nel gruppo ABO ed Rh. Partendo dall'aspetto molecolare nel gruppo ABO riscontriamo la presenza di una catena di zuccheri (H) sulla superficie degli eritrociti di tutti gli individui. I soggetti che hanno solo la catena H sono di gruppo sanguigno O, quelli che possiedono la catena H e anche il residuo N-acetilgalattosammina terminale sono di gruppo sanguigno A, i soggetti che presentano la

catena H e la galattosammina come ultimo residuo sono di gruppo sanguigno B ed infine i soggetti che presentano entrambi i residui più la catena H sono di gruppo sanguigno AB. Questi gruppi appena elencati rappresentano potenziali antigeni per il sistema immunitario, che potrà produrre gli anticorpi corrispondenti (vedi tabella). Sono anticorpi anche detti naturali perché li ritroviamo già nei primi anni di vita, e vengono prodotti probabilmente per cross-reattività con antigeni batterici e mancata tolleranza. Quello che si verifica quando si ha una

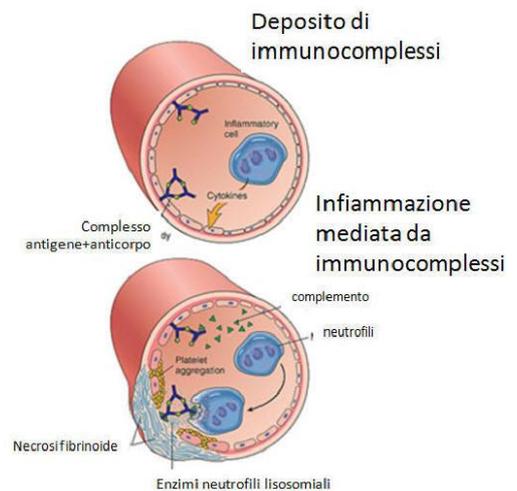
	Gruppo A	Gruppo B	Gruppo AB	Gruppo O
Tipi di GLOBULI ROSSI				
Anticorpi presenti	 Anti-B	 Anti-A	Nessuno	 Anti-A e Anti-B
Antigeni presenti	 A	 B	 A e B	Nessuno

trasfusione sbagliata è un'anemia immunoemolitica acuta con emolisi vascolare ed extravascolare, collasso renale a volte anche fatale. Un caso particolare si può verificare nell'incompatibilità tra madre e figlio con l'eritroblastosi fetale. Il problema in una madre con gruppo sanguigno O e feto con gruppo sanguigno A o B si riscontra in quanto la madre ha in circolo anticorpi anti-A e anti-B e se questi vanno a contatto con gli eritrociti del feto li distruggono. La cosa positiva è che questi anticorpi sono soprattutto di tipo IgM e non riescono ad attraversare la placenta. Un problema clinicamente più grave, invece, si ha nell'incompatibilità Rh. Madre Rh+ e feto Rh-, permette che in una prima gravidanza non si verifichi il rigetto in quanto la madre in circolo non possiede ancora gli anticorpi anti-Rh. Ma in una seconda gravidanza, a seguito della precedente sensibilizzazione che avviene durante il parto, nelle stesse condizioni di incompatibilità Rh, si avrà il rigetto in quanto gli anticorpi IgG anti-Rh già prodotti entrano nel circolo sanguigno del feto e distruggono gli eritrociti causando anemia immunoemolitica, rilascio di bilirubina insolubile, il cui accumulo provoca ittero nucleare e impedisce lo sviluppo del sistema nervoso. Anti-D sono gli anticorpi dell'Rh.

Come abbiamo precedentemente visto gli anticorpi nell'ipersensibilità di tipo 2, legati a recettori possono essere antagonisti o agonisti nella produzione di una risposta. Un esempio di stimolazione inibitoria la possiamo riscontrare nella Myasthenia gravis che si verifica quando il sistema immunitario produce anticorpi per il recettore dell'acetilcolina e non si ha più la trasmissione dell'informazione tra sistema nervoso e muscolo. È una malattia che può essere fatale bloccando il meccanismo muscolare della respirazione.

***Ipersensibilità di tipo 3 (ipersensibilità mediata da immunocomplessi):** i complessi antigene-anticorpo producono i loro effetti patologici soprattutto scatenando una reazione flogistica nelle sedi di accumulo (pareti dei vasi). L'antigene che entra a far parte degli immunocomplessi può essere esogeno (antigene non self iniettato per via endovenosa), oppure endogeno (antigene self, autoimmunità, rilascio massiccio in circolo). Man mano che gli anticorpi aumentano rispetto all'antigene si formano molti precipitati, detti immunocomplessi, che si accumulano fino a costituire delle vere e proprie reti, le quali, vanno a depositarsi sulle pareti del vaso, sull'endotelio. Questo complesso proteico viene riconosciuto dai recettori dei granulociti neutrofili che scatenano una risposta infiammatoria con rilascio di mediatori dell'infiammazione. In generale, l'attivazione dell'endotelio determina che i granulociti che vengono richiamati nel sito di infiammazione extravasano e potranno accumularsi anche nei tessuti extravascolari. Nel caso dell'azione diretta degli immunocomplessi, invece, si avrà la reazione a cascata del sistema del complemento che può provocare un ulteriore stato infiammatorio acuto intravascolare e il conseguente danneggiamento dell'endotelio. Uno degli esempi utilizzati per

Immunocomplessi precipitanti



descrivere questo tipo di ipersensibilità è la **malattia da siero** che si ha con l'iniezione del siero di altre specie animali nell'uomo. Questo succede perché il sangue di un animale ha antigeni diversi rispetto a quelli dell'uomo, vengono riconosciuti da anticorpi e a livello vascolare si formano gli immunocomplessi. Questi si possono andare a posizionare in vari distretti del corpo e generare infiammazione a livello sistemico: nelle articolazioni (artriti), nel rene, (glomerulonefrite), nei capillari, (vasculite). In passato e alcune volte ancora oggi, a livello di profilassi si può usare il siero di altri animali che possiedono anticorpi anti-tossina, per proteggere l'individuo dal morso di una vipera, o della tossina tetanica (**immunizzazione passiva, siero immune**). La tossina tetanica è quella che procura il massimo rischio immediato in una ferita sporca e il modo per bloccare la sua azione è quello di iniettare il siero di un animale che ha già sviluppato anticorpi anti-tossina. Ai tempi d'oggi i preparati che vengono usati per questi scopi sono ideati con la stessa tipologia, ma sono molto meno pericolosi, in quanto vengono tolti tutti gli antigeni che possono provocare maggiore rischio nell'uomo.

***Ipersensibilità di tipo 4 (ipersensibilità cellulo-mediata):** Per spiegare alcune risposte di tipo 4 dobbiamo introdurre il concetto di **sostanza immunogena**. Abbiamo detto che potenzialmente l'immunità adattativa è in grado di riconoscere qualsiasi antigene, ma in realtà non è così, ci sono delle importanti eccezioni, in quanto il sistema immunitario tende ad attivarsi verso macromolecole di grandi dimensioni e con particolari caratteristiche chimiche. Le molecole più **immunogene** sono i peptidi aventi almeno 6 amminoacidi, seguiti dalle catene di carboidrati ed infine i lipidi. Queste ultime due macromolecole sono meno potenti rispetto alle prime e spesso seguono vie diverse nel riconoscimento rispetto a quelle illustrate fino ad ora. Molecole piccole non riescono a formare un legame abbastanza forte (sui recettori del sistema immunitario, ignoranza immunologica) per avviare il processo di risposta immunitaria, sono poco immunogene e vengono chiamate **apteni**. Anche questi possono avere un ruolo fondamentale nella risposta immunitaria, in particolare nell'ipersensibilità di tipo 4, cioè in una risposta che non è mediata da anticorpi. Le reazioni di ipersensibilità cellulo-mediata sono risposte ritardate del sistema immunitario che si realizzano nell'arco di 2/3 giorni e sono causate dall'infiammazione scatenata dalle citochine prodotte dai linfociti T CD4+ e dall'eliminazione delle cellule da parte dei linfociti T CD8+ (reazioni cellulo-mediate). La manifestazione clinica di questo tipo di ipersensibilità avviene solo dopo un certo lasso di tempo perché i linfociti T devono arrivare nella zona di contatto con l'antigene scatenante. L'esempio più caratteristico di reazioni di tipo 4 è quella indotta da apteni. La sensibilità al nichel NON è un'allergia, ma una condizione di ipersensibilità di tipo 4 molto diffusa che non permette di indossare alcuni tipi di gioielli o sostanze che contengano nichel, spesso anche alcuni alimenti

inducono questo tipo di reazione. In questo caso non possiamo parlare di allergia in quanto il nichel non è immunogeno, non è capace di indurre una reazione IgE immediata, ma induce comunque una risposta infiammatoria ritardata. L'aptene che penetra nel derma può seguire due possibili destini (ATTENZIONE: non in tutti i soggetti, ma solo quelli sensibili):

1- Va a legarsi ad una proteina self presente nel tessuto extracellulare e la modifica. Questo processo prende il nome aptenizzazione. Questa proteina modificata viene inglobata da una cellula dendritica presente nel tessuto, che, se attiva, migra nei linfonodi dove incontra un linfocita T helper che riconosce il peptide modificato dalla presenza di questo aptene, diventa effettore e torna nel sito di contatto dove stimola una risposta macrofagica verso l'antigene aptenizzato. Questo processo descritto, in generale, è un meccanismo positivo che permette all'organismo di eliminare, tramite la risposta macrofagica, le proteine modificate, ma nei soggetti suscettibili il livello di ipersensibilità è tale da creare una risposta infiammatoria che danneggia il derma.

2- L'aptenizzazione può avvenire anche nel citoplasma di una cellula che ha assorbito l'aptene e che lo mostrerà sul recettore MHC-I, diventando così potenziale bersaglio di un linfocita T CD8+. Quindi a seguito dell'attivazione di linfociti Tc vi sia una potenziale risposta citotossica sul tessuto aptenizzato. Questa è la conseguenza più grave che determina la distruzione di tutte le cellule che hanno assorbito l'aptene. Anche in questo caso, a seconda della quantità di aptene entrato nell'organismo e a seconda della sensibilità dell'individuo verso questo tipo di reazione, l'esito sarà più o meno grave.

L'ipersensibilità cellulo-mediata non è ristretto solo agli apteni, ma un altro esempio lo troviamo con il micobatterio della tubercolosi che si nasconde nei polmoni e può rimanere silente per svariati anni. Questa patologia dà pochi o nessun segno clinico evidente, ma comunque genera una infezione attiva, i batteri sono ancora vitali e possono approfittare di una situazione di immunodeficienza. La tubercolosi si può diagnosticare con un test molto semplice che prevede l'iniezione sottocutanea di antigeni del micobatterio (test della tubercolina). Se dopo due giorni si genera un'inflammatione nella zona lesa, vuole dire che il test è positivo: si è verificata una reazione ritardata di tipo 4 in cui c'è stato bisogno dell'attivazione de linfociti T helper o citotossici e il ritorno nella zona di iniezione.

4. Malattie autoimmuni

Le reazioni di ipersensibilità ci fanno capire come l'immunità acquisita possa attivarsi in maniera non voluta o eccessiva contro antigeni innocui e/o esogeni. Normalmente il sistema immunitario è regolato grazie ad un delicato equilibrio tra l'attivazione linfocitaria, necessaria per la difesa dai patogeni, e i meccanismi di tolleranza che bloccano le reazioni contro gli antigeni self o innocui. La causa alla base delle malattie autoimmuni è la **perdita della tolleranza** che determina lo sviluppo di risposte contro gli antigeni self. Le malattie autoimmuni si realizzano tramite le reazioni di ipersensibilità di tipo 2, 3 e 4. A volte sono presenti tutte e tre le tipologie, altre volte solo una o due, oppure una ha maggiore potenza rispetto l'altra, ma sicuramente non parleremo mai di reazioni di ipersensibilità di tipo 1. L'eziologia è ancora largamente sconosciuta ma ad oggi sappiamo con sicurezza che il sistema immunitario riconosce un tessuto proprio come estraneo perché perde la tolleranza verso antigeni self.

***Tolleranza immunologica:** per tolleranza immunologica si intende il fenomeno che impedisce o limita la risposta linfocitaria verso determinati antigeni. Tra questi antigeni ci sono sicuramente quelli self. Grazie alla ricombinazione somatica il sistema immunitario riesce a esprimere recettori per i più svariati antigeni non-self

che possono entrare nel corpo, ma dato che per sua natura è un processo casuale deve esserci un attento controllo a valle con eliminazione di linfociti autoreattivi. I meccanismi responsabili dell'induzione della tolleranza immunologica verso gli antigeni self sono di due tipi: centrali e periferici. **-Tolleranza centrale:** avviene negli organi linfoidi centrali (timo linfociti T e midollo osseo linfociti B) e permette di controllare i recettori dei linfociti per eliminare le cellule autoreattive in maturazione. La selezione viene fatta su due livelli:

-1 Il linfocita deve esprimere correttamente i propri recettori e questi ultimi devono essere funzionali (SELEZIONE POSITIVA).

-2 La forza con cui avviene la reazione di legame tra un linfocita ed un antigene self deve essere debole, altrimenti, se forte, la cellula deve suicidarsi per apoptosi (SELEZIONE NEGATIVA).

Le possibilità di legame con le cellule residenti negli organi linfoidi centrali sono quindi:

**Riconoscimento forte:* L'MHC-II e il TCR si legano bene e riconoscono perfettamente l'antigene self presentato. Qui c'è il rischio che una volta che il linfocita T esca fuori dal timo diventi auto-reattivo ed attacchi le cellule proprie dell'organismo. Questa cellula T presentata deve essere quindi eliminata (selezione negativa). È un processo molto dispendioso e tra i miliardi di cellule che vengono prodotte in questa maniera più del 90% va incontro a questa sorte.

**Riconoscimento debole:* in questa situazione ritroviamo i linfociti T helper, CD8+ e le cellule T non autoreattive che presentano un TCR funzionante e che andranno a costituire i pool di linfociti naive in periferia

**Riconoscimento intermedio:* in tale casistica ricadono i linfociti T-reg immunosoppressori, e i linfociti autoreattivi che dovranno essere controllati tramite tolleranza periferica.

Tenendo conto dell'alta variabilità degli antigeni self presenti e della complessità di un processo di selezione perfetto, possiamo capire che solo i meccanismi della tolleranza centrale non sono sufficienti, infatti esiste un altro livello di sicurezza che avviene negli organi linfoidi periferici e nei tessuti ed è rappresentato dalla tolleranza periferica.

-Tolleranza periferica: avviene negli organi dove sono presenti i linfociti maturi e si realizza in vari processi:

1 *Soppressione da parte dei linfociti Treg:* questo tipo di linfocita matura nel timo e nel momento in cui sono presenti in un determinato tessuto, riconoscono antigeni propri e si comportano come immunosoppressori.
2 *Anergia:* come già è stato esposto, l'attivazione antigene-specifica dei linfociti T richiede due segnali: il riconoscimento del peptide associato a molecole dell'MHC e ulteriori stimoli di reazione con presentazione delle citochine. Allo stesso modo un linfocita auto-reattivo per attivarsi deve inevitabilmente svolgere questi processi, ma se la presentazione dell'antigene avviene senza livelli adeguati di co-stimolazione, il linfocita diventa anergico, entra in uno stato di non più attivabilità. Le cellule dendritiche quiescenti di tessuti sani non esprimono co-stimolatori, o li esprimono solo debolmente, quindi l'incontro tra i linfociti T auto-reattivi e i rispettivi antigeni self presentati si può tradurre in anergia. A volte questo tipo di riconoscimento parziale porta alla morte della cellula T, una delezione che avviene in periferia. Quindi per anergia si intende lo stato non-funzionale di un linfocita autoreattivo in periferia.

3 *Immunodeviiazione:* La polarizzazione dei linfociti autoreattivi può determinare o meno una risposta autoimmune. Una polarizzazione Th1 è più classicamente legata allo sviluppo di malattie autoimmuni. Come abbiamo già visto la polarizzazione è un meccanismo esclusivo, quindi un tipo di specializzazione ne esclude gli altri. Nel caso delle malattie autoimmuni è quindi preferibile per la tolleranza un tipo di polarizzazione non Th1.

***Le malattie auto immuni** sono spesso differenti tra di loro (in manifestazioni, nel tessuto colpito, oppure possono riguardare uno o più autoantigeni) e possiamo distinguerle in organo specifiche e sistemiche.

ORGANO SPECIFICHE	SISTEMICHE
L'antigene è localizzato solo su un organo o tessuto	L'antigene si può trovare in più distretti corporei
Il danno tissutale diretto non è diffuso, ma specifico	Il danno diretto è diffuso a livello sistemico
Sono presenti ipersensibilità di tipo 2 e 4	Sono presenti ipersensibilità di tipo 3

Esempi malattie organo specifiche: *Diabete: quando parliamo di diabete includiamo due tipi: tipo 1 e 2.
 -Diabete di tipo 1: è il meno prevalente (10% della popolazione) e dipende da un difetto autoimmune del sistema immunitario. L'iperglicemia è dovuta a carenza di insulina perché l'immunità acquisita distrugge le cellule del pancreas che la producono e l'organismo perde la capacità di controllo dei livelli di glicemia nel sangue.

-Diabete di tipo 2: è il più prevalente (90% della popolazione) ed una malattia metabolica dovuta ad un difetto della sensibilità di molti tessuti all'insulina. Quest'ultima viene prodotta, ma i tessuti non rispondono e non assorbono lo zucchero dal sangue.

Il diabete di tipo 1 lo possiamo classificare nelle malattie organo-specifiche in quanto solo il pancreas e gli antigeni presenti in esso vengono colpiti direttamente dal sistema immunitario.
 *Malattia di Graves: ipersensibilità di tipo 2, legata ad ipertiroidismo. Gli anticorpi vengono prodotti contro i recettori TSH della tiroide (eccezione: ipersensibilità da attivazione)

*Anemia immunoemolitica: vengono prodotti anticorpi contro gli antigeni di membrana degli eritrociti
 *Myasthenia gravis: è un'ipersensibilità di tipo 2 e si verifica quando il sistema immunitario produce anticorpi contro il recettore dell'acetilcolina e non si ha più la trasmissione dell'informazione tra sistema nervoso e muscolo (eccezione: ipersensibilità da inibizione).

*Tiroidite di Hashimoto: ritroviamo sia una risposta basata su anticorpi, sia una risposta basata sulla produzione dei linfociti T. Quindi abbiamo una reazione di ipersensibilità di tipo 2 e di tipo 4 diretta verso la tiroide con distruzione del tessuto e ipotiroidismo.

Esempi malattie non organo specifiche/sistemiche:

*L'artrite reumatoide: malattia infiammatoria cronica sistemica porta alla distruzione delle articolazioni.
 *Sclerodermia: rara malattia autoimmune della pelle che colpisce soprattutto le donne. Si assiste ad un'infiammazione al livello del derma e delle arterie collegate.

*Lupus Eritematoso Sistemico (LES o SLE): abbiamo una risposta del sistema immunitario diffusa che determina la formazione di immunocomplessi al livello di arterie, arteriole e capillari in vari distretti. Gli antigeni riconosciuti sono quelli nucleari, normalmente presenti nel nucleo delle cellule e i test diagnostici sono basati sulla presenza di anticorpi antinucleo (ANA)

Sicuramente le malattie autoimmuni con maggiore frequenza sono le tiroiditi in cui il sistema immunitario distrugge la tiroide, soprattutto nelle donne. La prevalenza può essere piuttosto alta con più di un caso ogni 100 persone, colpiscono il 2% della popolazione. Tutte le altre malattie autoimmuni sono meno frequenti, alcune rimangono sulla soglia di malattia rara, circa 0,1%. Le tiroiditi più frequenti sono le malattie di Hashimoto e di Graves, dove la differenza sostanziale sta negli effetti a valle. Nella malattia di Graves c'è **ipertiroidismo** perché l'anticorpo attiva il recettore TSH a produrre ormoni tiroidei. Le altre tiroiditi a partire dalla malattia di Hashimoto sono legate a **ipotiroidismo** in cui gli auto-anticorpi possono produrre infiammazione del tessuto, fino alla distruzione della tiroide. Nelle tiroiditi sono 3 gli antigeni principali che vengono riconosciuti e i relativi anticorpi possono essere usati a scopo diagnostico (tra parentesi): tireoglobulina (TgAb), tireoperossidasi (TPOAb) e recettore TSH (TRAb).

***La patogenesi delle malattie autoimmuni:** in presenza di eziologia sconosciuta si tende a distinguere in grossi raggruppamenti di potenziali fattori eziologici: 1 suscettibilità (predisposizione genetica), 2 evento scatenante (iniziazione) e 3 propagazione

-Predisposizioni: alcuni soggetti presentano familiarità per le malattie autoimmuni. Non è detto che in una famiglia si presenti sempre la stessa malattia autoimmune, ma può essere di tipologia diversa. Questo lascia pensare che ci sia una base genetica che si può manifestare in maniera diversa a livello soggettivo.

-Iniziazione: Si ritiene che debbano esistere anche dei fattori di iniziazione, degli “eventi traumatici”, che rendono visibile la suscettibilità. Alcuni di questi eventi scatenanti possono essere: esposizione ad alte concentrazioni di antigeni self nascosti, eventi di necrosi tissutale estesi, danneggiamenti tissutali che possono essere scatenanti nei confronti di un’autoimmunità latente, un’inflammazione cronica legata ad eventi cronici e al rilascio non voluto di antigeni intracellulari ed infine anche le infezioni croniche o ripetute. Si tratta complessivamente di un quadro in cui si generano le condizioni per la perdita di tolleranza per i linfociti autoreattivi periferici

-Propagazione/feedback positivo: una volta che si scatena la reazione autoimmune il sistema immunitario distrugge il tessuto mantenendo uno stato di infiammazione cronica e permettendo il rilascio massiccio di autoantigeni che a loro volta possono contribuire alla perdita di tolleranza, trasformando così l’evento in un circolo che si autoalimenta. Spesso questo fenomeno si chiama spreading degli epitopi.

***Aspetti genetici:** Oggi si sa che alcuni **determinati sierotipi MHC sono presenti soprattutto nei soggetti che si ammalano più frequentemente di malattie autoimmuni.** Come sappiamo l’MHC è un sistema ad altissimo polimorfismo, tanti alleli diversi che codificano per proteine diverse. La tipizzazione MHC (o HLA) serve proprio a individuare quali alleli MHC siano presenti in un soggetto. Ad esempio il gene HLA-A codifica per una proteina allelica A1 tramite una serie di alleli (A*01, A*0101, A*0102). Questa proteina viene riconosciuta grazie ad un anticorpo anti-A1. Da ciò si deduce che il test effettuato per determinare il sierotipo MHC di un individuo può essere fatto utilizzando un anticorpo che riconosce un allele dell’MHC. Se il legame avviene il test è positivo e la cellula viene distrutta (tramite l’azione del complemento), se invece il legame non avviene, la cellula MHC resta integra ed il test risulterà negativo. Ovviamente ai giorni d’oggi non si va più ad effettuare il test del sierotipo, ma quello del genotipo che è molto più preciso. Questo perché con il gene si può andare a individuare un nucleotide di differenza, invece con la proteina questa differenza (anche se porta alla differenza di un aminoacido) può sfuggire. Più genotipi possono generare un sierotipo: gli alleli A*01, A*0101 e A*102 danno un unico sierotipo A1 e l’anticorpo li riconosce indifferentemente tutti e tre le proteine prodotte dagli alleli. Ad oggi è noto che i soggetti affetti da alcune patologie esprimono preferenzialmente un certo sierotipo, come il DR3 che è presente nella malattia di Graves, nel diabete di tipo I e nel lupus eritematoso sistemico. Questo significa che gli individui colpiti da una di queste patologie hanno un’espressione più frequente del sierotipo DR3, rispetto alla popolazione normale e quindi possiedono un rischio maggiore nel contrarre una di queste malattie. L’MHC può essere considerato un fattore di rischio poiché alleli diversi sono capaci di mostrare antigeni diversi ed è probabile che determinati sierotipi siano più capaci nel mostrare gli antigeni self coinvolti nelle malattie autoimmuni.

***Aspetti sull’Iniziazione:** L’infezione può essere un evento iniziatore di una malattia autoimmune per due motivi: 1 contribuisce al mantenimento di uno stato di infiammazione cronica, distruzione del tessuto e rilascio di antigeni self, 2 si basa sul concetto del **mimetismo molecolare:** gli antigeni dell’agente infettivo possono essere simili agli antigeni self (mimano antigeni self). Il prototipo di questa ipotesi è la febbre reumatica, una malattia autoimmune che colpisce il cuore ed è stata una delle prime evidenze in cui si è potuto collegare un’infezione allo sviluppo di una malattia autoimmune. La febbre reumatica colpisce in particolare la miosina cardiaca che viene riconosciuta come estranea. L’osservazione iniziale aveva messo in luce che questo tipo di patologia si manifestava a seguito di un’infezione cronica da un particolare ceppo di streptococchi β -emolitici e ciò ha portato i ricercatori a dimostrare che esisteva un legame causale tra l’infezione e l’insorgenza della

malattia. Ad oggi è stato dimostrato che c'è una proteina della parete dello streptococco β -emolitico simile per sequenza alla miosina. Quest'ultima e la miosina del cuore si assomigliano per una breve sequenza di amminoacidi e durante l'infezione (infezione cronica delle vie aeree), entrambi i peptidi vanno a legarsi alla tasca MHC in maniera identica, quindi mentre il sistema immunitario cerca di combattere lo streptococco, tra le risposte che mette in atto ci sono anche quelle di riconoscimento della miosina del cuore e la conseguente sua distruzione. Un patogeno può attivare un linfocita T autoreattivo nel momento in cui tale patogeno ha un antigene simile ad una proteina self. Questo tipo di meccanismo è ritenuto ben consolidato solo nella febbre reumatica, ma la ricerca del mimetismo molecolare si è comunque spinta in tutte le altre malattie autoimmuni al fine di capire se questo fosse un meccanismo generale. Ad esempio nella sclerosi multipla è stata trovata una corrispondenza di sequenza tra una proteina del virus Epstein-Barr (agente infettivo normalmente presente nel nostro corpo che non dà importanti manifestazioni) e la proteina basica della mielina, ma quanto sia importante a livello eziologico tale corrispondenza non è attualmente noto.

***Terapia delle malattie autoimmuni:** Per le malattie autoimmuni non esiste una cura, ma solo degli approcci terapeutici che ripristinano i difetti metabolici indotti dalla patologia. Nel diabete di tipo 1, ad esempio, avviene la somministrazione dell'insulina esogena. Nell'anemia perniziosa, invece, in cui c'è una carenza della vitamina B12 determinata da un cattivo assorbimento di vitamina B12 a livello intestinale (manca il fattore intrinseco), avviene la somministrazione non per via alimentare della vitamina per ripristinare i corretti livelli. Sicuramente queste non sono le soluzioni migliori, ma permettono di convivere con la malattia. Non va sempre così bene, in altre malattie autoimmuni, soprattutto quelle sistemiche, si formano degli immunocomplessi ed è difficile trovare il ripristino del difetto tramite una somministrazione 'tampone'. Per queste patologie si attua l'immunosoppressione cercando di alleviare i sintomi sedando il sistema immunitario. Ad esempio nella tiroidite autoimmune si possono usare terapie a base di anticorpi contro l'interferone- γ , nell'artrite reumatoide, invece, si usano anticorpi contro il TNF. Questo tipo di metodologia insieme all'immunosoppressione allevia i danni provocati dal sistema immunitario. Un'ultima possibile terapia sperimentale è quella dell'induzione della tolleranza (strategia curativa). Una cosa simile la ritroviamo nelle allergie. Ad esempio per gli allergici alla puntura di vespa ci si sottopone una terapia in cui si inietta il veleno in piccolissime quantità e in maniera continua nel tempo in modo da abituare l'organismo (indurre tolleranza). In particolare si attua una pressione sul sistema immunitario in modo da non far riconoscere più il veleno d'ape come allergene. Allo stesso modo viene attuata la terapia sperimentale: se conosco l'autoantigene e lo inserisco nel corpo in piccole quantità nel tempo, il sistema immunitario non riconosce più l'autoantigene come pericoloso. Questo è stato provato con la proteina basica della mielina, ma il problema di queste terapie è che per essere veramente efficace deve essere fatto prima che si manifesti la malattia. Non è consigliabile in persone sane, ma può essere fatto in persone presentano forte familiarità. Il neonato in questo caso è il soggetto più adatto perché ha un sistema immunitario ancora non sviluppato, ed è più facile indurre tolleranza.