

ISTITUZIONI DI PATOLOGIA GENERALE E IMMUNOLOGIA (Parte 3)

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

1. profilassi malattie infettive

2. vaccini

3. immunologia dei tumori

4. immunologia dei trapianti

1. PROFILASSI DELLE MALATTIE INFETTIVE

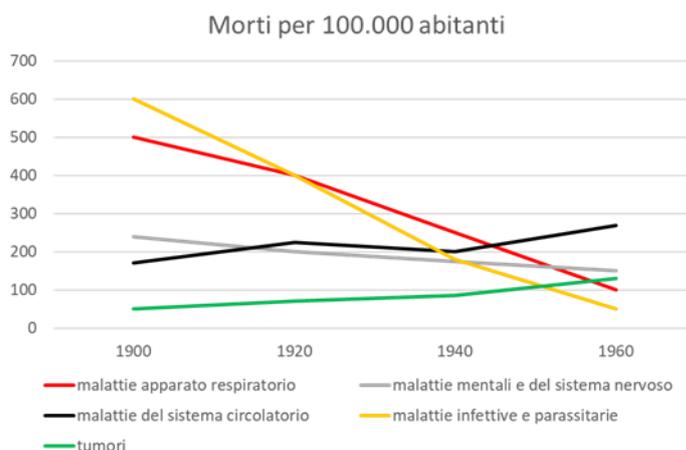
Sono molte le strategie atte a prevenire le malattie. Gli organismi man mano che diventano più complessi acquisiscono una maggiore suscettibilità alle malattie e si devono sviluppare anche sistemi di riparazione e riparo più sofisticati, ma non è solo questo: non solo la suscettibilità dei sistemi biologici alla malattia, ma il fatto è che gli organismi devono proteggersi da altri organismi che vogliono parassitarli, generando le malattie infettive. Noi nella nostra società non abbiamo una percezione corretta dell'importanza di queste malattie però se esaminiamo le prime cause di morte in tutto il mondo ci accorgiamo che tra le prime dodici cause di morte nove sono causate da malattie infettive. Nelle prime tre posizioni ci sono le malattie cardiovascolari (di gran lunga le più mortali), al terzo i tumori, ma già in seconda posizione ci sono le diarreie batteriche e virali (causate da cibi e acqua contaminata).

PRIME CAUSE DI MORTALITÀ NEL MONDO

PATOLOGIA	MORTI PER ANNO
Malattie cardiovascolari	12 milioni
Diarree batteriche e virali	5 milioni
Cancro	4,8 milioni
Polmonite	4,8 milioni
Tubercolosi	3 milioni
Malattie polmonari cronico ostruttive	2,7 milioni
Morbillo	1,5 milioni
Malaria	1-2 milioni
Epatite B	1-2 milioni
Tetano neonatale	500'000
Pertosse	500'000
AIDS	200'000

In Italia tale classifica non è più valida ma non è stato sempre così (vedi grafico che indica il n di morti ogni 100.00 abitanti in Italia nel tempo a partire dagli inizi del 900 fino al 1960), le cause di sono variate sensibilmente nel tempo e le tendenze più rilevanti riguardano proprio le malattie infettive e parassitarie che all'inizio del secolo erano la prima causa di morte anche in Italia, per

CAUSE DI MORTALITÀ IN ITALIA



diventare dal 60 ad oggi la causa di morte meno importante rispetto ad altre patologie croniche. Le malattie infettive hanno una diversa rilevanza su base geografiche e su base storiche. A livello storico dobbiamo ricordare che queste hanno spesso cambiato la vita dell'uomo influenzando profondamente le società umane: in Europa ci sono state varie pandemie influenzali, la spagnola ricordata come una delle pandemie più gravi registrate, con 50 milioni di vittime in Europa, seguita da altre pandemie, nel 57 e 68 (asiatica e Hong Kong), varianti influenzali pandemiche con un carattere di diffusione su aree geografiche molto vaste. Sempre in Europa nel 300 la peste nera decimò un terzo della popolazione europea. Sicuramente un aspetto storico segnato profondamente dagli effetti delle malattie infettive è stata la conquista dell'America. Il vaiolo sconosciuto in America prima degli europei ha causato 500 milioni di morti nel XX secolo decimando una parte rilevante delle popolazioni indigene di americani. Si stima che in un secolo siano morti circa 20 milioni di indigeni messicani per vaiolo, parotite e morbillo, malattie infettive sconosciute per cui la popolazione locale era impreparata sia da un punto di vista della memoria immunologica sia a livello di prevenzione e cura. Tali malattie portate dai coloni europei si sono diffuse velocemente nell'arco di un secolo contribuendo alla conquista di quei territori da parte dei conquistatori.

Come si spiega la differenza geografica e storica dell'incidenza delle malattie infettive? Possiamo racchiudere la risposta nel termine profilassi: siamo diventati capaci di difenderci da queste situazioni altamente pericolose con una serie di pratiche cliniche e quotidiane. Profilassi può essere:

INDIRETTA=mira alla prevenzione dell'infezione (tra queste le pratiche di disinfezione e la vaccinazione)

DIRETTA=mira a curare l'infezione e impedirne la diffusione dai soggetti portatori (tra queste gli antibiotici e la quarantena)

Le conoscenze scientifiche acquisite negli ultimi 100 anni hanno permesso di accertare quanto siano importanti le misure di profilassi nel migliorare le condizioni di vita e oggi in molte società beneficiano di queste conoscenze con un incremento notevole dell'aspettativa e della qualità della vita. La profilassi indiretta limita la diffusione di agenti patogeni tramite strumenti di disinfezione, pratiche igieniche e la vaccinazione. Sono tutti strumenti da attuare prima di un'ondata epidemica, ma possiamo attuare anche misure a valle per impedire diffusione, negli ultimi allarmi di possibili pandemie si sono attuate molte di queste pratiche di barriera per impedire una diffusione geografica, (isolamento, quarantena, in un'era in cui gli spostamenti sono su scala globale) per mantenere separati individui infetti da quelli sani e poi ci sono antibiotici che hanno cambiato radicalmente la nostra storia per quanto riguarda la battaglia contro i batteri patogeni.

ANTIBIOTICI: profilassi diretta, li dovrei usare quando c'è infezione. Non è sempre così perché utilizzati anche come profilassi indiretta anche quando l'infezione batterica non c'è. Per esempio anche negli animali da allevamento, si aggiungono gli antibiotici nel mangime per prevenire le infezioni. Si prescrivono anche negli uomini anche quando non c'è evidenza di un'infezione batterica. Quando abbiamo contratto l'influenza ci viene prescritto spesso un antibiotico, non per combattere influenza ma per prevenire sovrainfezione batteriche che potrebbero subentrare. Si evidenzia quindi un quadro in cui vi è un abuso di antibiotici. La storia recente ci dice che questo abuso non è innocuo ed anzi sta avendo conseguenze importanti nella nostra capacità di fronteggiare le infezioni batteriche.

Caratteristiche generali degli antibiotici: ce ne sono di diverse classi e hanno bersagli diversi : es penicilline prime ad essere individuate o cefalosporine inibiscono la sintesi della parete batterica, la nistatina aumenta permeabilità di membrana, la streptomina usata per inibire sintesi proteica batterica, actinomicina per inibire la sintesi degli acidi nucleici. La cosa importante è che non tutti gli antibiotici vanno bene per gli stessi agenti patogeni. Il successo degli antibiotici risiede in una bassa tossicità per l'organismo, quindi usati senza avere particolari effetti collaterali, e la loro capacità di distribuirsi nei tessuti.

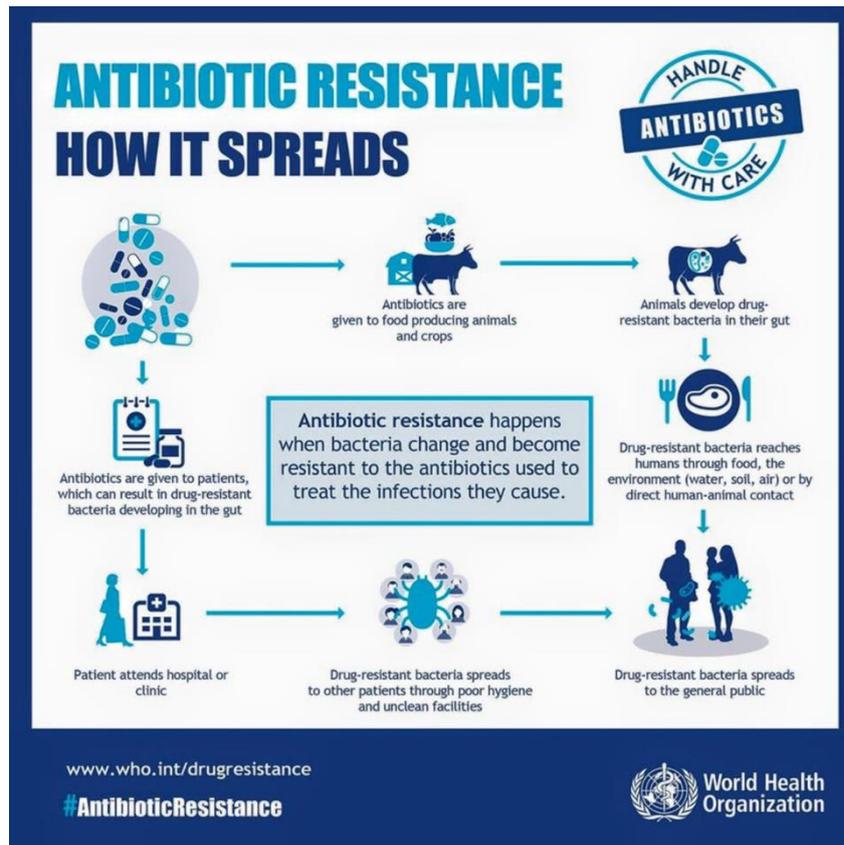
Da quando sono stati introdotti hanno fatto sperare nella risoluzione delle guerre contro tutti batteri patogeni ma non è proprio così, l'illusione di vincere è rimasta vana, ormai abbiamo diversi problemi: in primis una resistenza agli antibiotici, considerando anche che negli ultimi anni non sono stati trovati molti altri antibiotici nuovi, fa sì che le nostre armi siano meno efficaci.

Resistenza antibiotici: può trattarsi di resistenza naturale (l'antibiotico non è adatto a quell'agente infettivo), o di resistenza acquisita maturata a seguito di pressione selettiva su organismi che hanno tempi di riproduzione rapidi. Questa pressione seleziona organismi resistenti, resistenza che è basilare per un parassita. La resistenza acquisita è guadagnata attraverso varie modalità:

1- acquisizione diretta per mutazione, si crea ceppo che ha mutazione per cui il bersaglio dell'antibiotico essendo diverso non è più riconosciuto dall'antibiotico. Oppure il batterio esprime nuovi meccanismi di detossificazione o escrezione dell'antibiotico.

2- acquisizione indiretta tramite trasduzione o coniugazione. Il meccanismo di resistenza viene "ereditato" da un altro batterio (o da batteriofago) che porta il gene della resistenza

La pressione selettiva viene esercitata sull'ambiente a seguito dell'uso diffuso e spesso indiscriminato degli antibiotici



1 uso antibiotici a scopo medico, somministrazione può risultare nello sviluppo di batteri intestinali resistenti, organismi resistenti che possono diffondere ad altre persone e quindi diffusione nella popolazione. Il luogo in cui la probabilità di incontrare batteri resistenti è più alta è negli ospedali dove si concentrano individui che hanno maggiori probabilità di avere batteri resistenti

2 via zootecnica, diamo antibiotici ad animali e così vi può essere diffusione di batteri resistenti, sia attraverso la carne, ma anche il suolo, l'acqua e contatto diretto.

Il rilascio di antibiotici nell'ambiente ha anche un'altra conseguenza importante: modificare i cicli ecologici in natura, es interferire con la gestione dell'azoto nel terreno da parte dei batteri. Antibiotici possono essere rilasciati nell'ambiente dagli animali allevati, dall'industria farmaceutica, tramite medicinali scaduti ecc...In conclusione gli antibiotici rimangono ancora oggi farmaci tra i farmaci più efficaci e importanti ma c'è questa preoccupazione per quando riguarda l'insorgenza della resistenza e la contaminazione dell'ambiente.

2. VACCINI

Per la vaccinazione parliamo di profilassi indiretta, anche se a volte viene usata anche come profilassi post-esposizione (profilassi PEP) per cercare di bloccare un agente infettivo a proliferazione lenta. Storia vaccinazione: partiamo da Jenner (fine 700) Indicato come l'ideatore della vaccinazione. La prima vaccinazione venne fatta per il vaiolo: è una malattia infettiva importante nella storia dell'uomo che ha decimato gli indigeni americani, e che in Europa generava epidemie cicliche soprattutto nelle aree urbanizzate. Era stata proposta una cura del vaiolo già prima di Jenner, cioè la variolizzazione (inoculo cutaneo di materiale infetto preso da pustola o pus) che è stata descritta già in Cina nell'anno 1000 a.C.. La diffusione di tale pratica si ebbe in Europa e in America nel diciottesimo secolo. La trasmissione del virus smallpox per via cutanea è meno pericolosa della trasmissione classica per via aerea. Nel 1721 ci fu un'epidemia molto importante in America (Boston), e sebbene ci fosse ostilità da parte di alcuni medici verso la variolizzazione, l'applicazione di tale pratica ebbe risultati evidenti, con una diminuzione sensibile della diffusione già nel 1722. Come protagonisti di tale campagna di profilassi si ricordano i nomi di Cotton Mather e Zabdiel Boylston. Questi studiosi si mossero spinti da una forte impulso dovuto alla pericolosità di questa epidemia che stava avendo un tasso di mortalità quasi del 10% (8000 decessi su 100000 individui per anno). La pratica consisteva nel prelevare materiale infetto da pustole di soggetti che manifestavano una forma minore, vaiolo minor, si poteva così inoculare nei soggetti sani attraverso pennini, bisturi particolari. Mather e Boylston fecero questa pratica anche sui propri figli registrando i risultati del loro intervento in quello che può essere considerato il primo studio clinico della storia: 5 morti su 287 variolizzati contro 843 morti su 4917 ammalati non variolizzati quindi circa il 2 per cento contro il 17 per cento. La variolizzazione non era immune da rischi perché il fatto di trasferire il virus anche da un soggetto che manifestava la malattia in forma lieve poteva indurre **malattia grave** nel soggetto ricevente (primo rischio), e chi riceveva il vaiolo diventava soggetto portatore e **poteva diffonderla** (secondo rischio). Jenner conosceva questa pratica e la sua intuizione fu quella di non utilizzare la forma umana del vaiolo bensì un ceppo che infettava i bovini. L'intuizione venne probabilmente dal fatto che essendo un medico di campagna sapeva che le mucche malate di vaiolo bovino, trasmettevano una forma di vaiolo non grave alle mungitrici, quindi pensò che applicando la variolizzazione prendendo il vaiolo animale si potesse mantenere la protezione evitando il rischio che si sviluppi una forma grave. Così fu inventata la vaccinazione, trasferendo materiale infetto da pustole bovine. Fu un successo clamoroso perché si persero i problemi legati alla variolizzazione, non si manifestava mai in forma grave il vaiolo vaccino, proteggendo il soggetto vaccinato dal vaiolo umano. Una curiosità: dall'analisi di fiale dell'800 contenenti il vaccino per il vaiolo, si è scoperto che la maggior parte non contengono vaiolo bovino bensì la versione equina, equivalente ai fini della vaccinazione.

Solo in seguito, con l'avanzamento delle conoscenze in campo immunologico, si apprese che l'efficacia della vaccina risiede nella capacità di indurre memoria immunologica verso gli antigeni patogeni (antigeni protettivi). Jenner diede il via per la ricerca di vaccini capaci di proteggerci da tutte le malattie infettive. Oggi ce ne sono di molto di efficaci e sicuri, anche se non tutti quelli che sarebbe auspicabile avere, e la ricerca è continuamente impegnata nella produzione di nuovi vaccini.

Uno degli aspetti da approfondire per capire l'efficacia dei vaccini è il concetto di "immunità di gregge": è noto che un vaccino diventa un farmaco efficace solo se la vaccinazione viene fatta sulla larga maggioranza della popolazione. A livello scientifico si deve parlare di immunità di gruppo e per

calcolarla consideriamo la riproduzione effettiva (R), cioè la media delle persone infettabili da un portatore nella nostra popolazione di studio.

R è una funzione della riproduzione basale (R₀), media delle persone infettabili dallo specifico agente patogeno e da P, cioè il numero di individui resistenti.

$$R=(1-P)*R_0$$

Infection	R ₀	Herd immunity threshold
Diphtheria	6-7	~85%
Measles	12-18	83-94%
Mumps	4-7	75-86%
Pertussis	12-17	92-94%
Polio	5-7	80-86%
Rubella	6-7	83-85%
Smallpox	5-7	80-85%
Pandemic flu (H1N1)	1.6?	~40%

Ogni agente patogeno ha il suo valore R₀ a seconda della intrinseca capacità infettiva (vedi tabella). Perché avvenga la diffusione dell'infezione R>1 e quindi P>1-(1/R₀). Si capisce quindi che c'è una proporzione inversa tra le persone che devono essere rese resistenti (P, tramite vaccinazione) e R₀. Più R₀ è alto (pertosse, varicella) più alta dovrà essere la percentuale di persone vaccinate in una popolazione. Le percentuali auspicabili sono comunque più alte dell'80%.

Proprio basandosi sul concetto di immunità di gregge sono stati raggiunti obiettivi straordinari:

questo è il successo legato alla vaccinazione contro la poliomielite la cui campagna di eradicazione parte nel 1998, nel 2006 i casi accertati sono scesi e attualmente rimane endemica solo in pochi Paesi ed è praticamente scomparsa in Europa e in America. Il vaiolo, altro caso eclatante, è ormai estinto, esiste solo nei laboratori, già dagli anni 80.

In Italia nel 2017 c'è stato un notevole incremento dei casi di morbillo (più di 5000 contro una media precedente di circa 1000). Una ripresa epidemica si è osservata anche nel 2018. In circa il 30% dei casi si sono manifestate complicazioni (diarrea, epatite, polmonite...) che hanno portato al ricovero. In Italia è in atto piano di eliminazione di morbillo e rosolia congenita che mira a portare la copertura vaccinale al 95% (era dell'82% nel 2003). Tali dati hanno portato ad un'attenzione particolare da parte di altri Paesi, come gli Stati Uniti in cui il morbillo non è più presente. L'ultimo caso di morte negli Stati Uniti risale al 2015. Prima del 1963 quando è iniziata la campagna ogni anno negli Stati Uniti si stimava un'incidenza dai 3 ai 4 milioni di cui 450/500 morti con costi sanitari e sociali molto alti. Questa situazione indica come l'immunità di gregge sia oggi un problema di scala mondiale.

Funzionamento vaccini: con la vaccinazione o immunizzazione attiva (diversa da passiva in cui somministro anticorpi) somministro antigeni collegati all'agente patogeno da cui vogliamo essere protetti, antigeni innocui per l'organismo ma comunque capace di indurre una risposta immunitaria verso quegli antigeni, si chiamano anche antigeni protettivi, es quelli della parete batterica ,presenti sul capsido di un virus cioè quegli antigeni riconosciuti dal sistema immunitario tramite anticorpi nell'ambiente extracellulare, e che possono essere neutralizzati.

La vaccinazione sfrutta i normali meccanismi di risposta immunologica: riconosco un antigene come pericoloso, produco anticorpi che legano l'antigene, lo neutralizzo. la vaccinazione è efficace se somministrata molto prima del contatto con l'agente patogeno e questo perché il sistema dell'immunità acquisita che produce anticorpi ha bisogno di tempo per produrre anticorpi e cellule della memoria. L'effettiva risposta all'agente patogeno, se incontrato, sarà di tipo secondario. Il vaccino comunque va somministrato settimane prima del possibile incontro con l'agente patogeno.

caratteristiche che rendono un vaccino efficace:

-contenere antigeni batterici o virali adeguati (antigeni protettivi). Alcuni agenti patogeni tipo il tetano provocano la malattia tramite esotossine, in questo caso l'antigene protettivo con cui creare il vaccino sarà la tossina tetanica, se neutralizzo tramite anticorpi la tossina (quello che si fa anche con l'immunizzazione passiva) blocco la manifestazione malattia.

-non deve essere patogeno

-deve essere immunogeno, cioè stimolare il sistema immunitario. Tale aspetto è spesso problematico. Devo quindi trovare i determinanti antigenici protettivi ma devo creare una formulazione tale per stimolare il sistema immunitario. Normalmente un vaccino è poco immunogeno perché non posso caricare di una concentrazione molto alta di proteine, e poi perché c'è il rischio tali antigeni vengano degradati velocemente o si disperdano non dando il tempo all'immunità acquisita di attivarsi efficacemente. Per questo motivo bisogna adottare delle **strategie per aumentare l'immunogenicità vaccini:**

1-richiamo vaccinale: a volte un vaccino diventa efficace solo una dopo somministrazione multiple, fatte rispettando dei tempi indicati che non possono essere abbreviati, ma eventualmente solo allungati (posso posticipare ma non anticipare il richiamo).

2-coniugazione: gli antigeni più immunogeni sono le proteine ma in molti casi può essere utile fare un vaccino contro una catena zuccherina es: *Haemophilus influenzae* causa di meningite batterica. Per fare un vaccino efficace è stato necessario trovare un modo per rendere immunogena la catena zuccherina della parete del batterio. I primi tentativi usando soltanto il polisaccaride si sono rivelati efficaci. Nel 1990 è stata introdotta la strategia del vaccino coniugato: se lego la catena con un antigene immunogeno rendo anche lo zucchero immunogeno. Si lega la catena della capsula a un tossoide, cioè un'esotossina resa innocua (da tetano o difterite) e questo legame mi conferisce l'immunità sia verso la tossina sia verso il polisaccaride.

3-adiuvanti: sostanze presenti nel vaccino che stimolano il s.immunitario, creano uno stato infiammatorio locale. I sali di alluminio, fosfato alluminio, idrossido alluminio creano uno stato di maggiore attivazione del s. immunitario locale, stato che dà il via all'attivazione dell'immunità innata prima e acquisita poi.

4-vettori: devo proteggere l'antigene da una degradazione immediata quindi metto sostanze che proteggono l'antigene dalla degradazione rapida operandone un rilascio prolungato nel tempo es lipidi fosfolipidi o virosomi che proteggono l'antigene. Prolungano la stimolazione del s. immunitario nel tempo.

Quindi all'interno di vaccino oltre al principio attivo possono essere presenti sostanze che aumentano l'immunogenicità. Inoltre possono essere presenti stabilizzanti e conservanti e tracce di altri elementi usati per le procedure industriali di lavorazione.

COMMON COMPONENTS OF VACCINES

As well as the active components, vaccines contain a number of other substances. This graphic examines these and the reasons for their inclusion.

ACTIVE COMPONENTS



A form of the virus, bacteria or toxin that causes the disease is used as the antigen. This antigen is modified from the original form so it no longer causes disease, but still elicits an immune response from the body. To modify the disease-causing agent, it can be treated with specific chemicals, so it cannot replicate. It can also be treated so it does not cause serious disease, or only parts of the disease-causing agent that do not cause serious symptoms can be used.

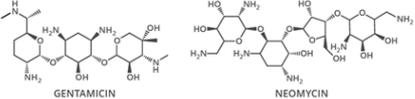
ADJUVANTS

Al(OH)₃
ALUMINIUM HYDROXIDE

AlPO₄
ALUMINIUM PHOSPHATE

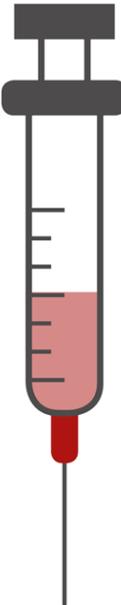
Added to enhance the body's immune response to the vaccine. How they work isn't entirely understood, but it's thought they help keep antigens near the site of injection. This means they can be easily accessed by the immune system cells. There is no evidence of any serious adverse effects from adjuvants, though they can cause some minor reaction near the injection site.

ANTIBIOTICS

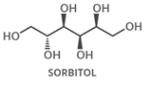


GENTAMICIN **NEOMYCIN**

Antibiotics are used in the manufacturing process of the vaccine to prevent bacterial contamination. They are later removed, and only residual quantities remain in the vaccine after the production process.



STABILISERS

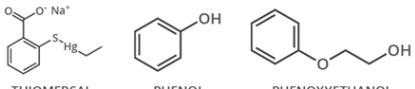


Sorbitol

MgSO₄
MAGNESIUM SULFATE

Vaccines need to be storable, so stabilisers are added to ensure the various components remain stable and effective. A variety of different stabilisers are used; either inorganic magnesium salts such as magnesium sulfate or magnesium chloride, or mixtures of lactose or sorbitol and gelatin. Monosodium glutamate and glycine are also used in some cases.

PRESERVATIVES



THIOMERSAL **PHENOL** **PHENOXYETHANOL**

Preservatives help prevent contamination of vaccines. They are used particularly in multi-dose vaccines. Thiomersal is a common preservative, though its use declined in the late 1990s when vaccines were falsely linked to child autism. This link was later shown to be an elaborate medical hoax, and there is no link between thiomersal and autism.

TRACE COMPONENTS



FORMALDEHYDE

These are left-over from the vaccine production process. Though they are purposefully removed, residual amounts remain. Formaldehyde is one such agent, used to deactivate viruses and detoxify bacteria, but amount remaining is several hundred times lower than the smallest amount known to cause harm in humans.

© COMPOUND INTEREST 2015 - WWW.COMPOUNDCHEM.COM | Twitter: @compoundchem | Facebook: www.facebook.com/compoundchem
This graphic is shared under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives licence.

TIPOLOGIE DI PRINCIPIO ATTIVO PRESENTE NEL VACCINO

Da dove derivano gli antigeni presenti nel vaccino?

- Organismo intero vivo: (il primo vaccino di Jenner) è il più efficace perché molto immunogeno, ma è una situazione rara quella di trovare in natura un organismo protettivo ma non patogeno.

- Organismo intero attenuato (vaccino attenuato). Procedura ottenuta grazie a Pasteur che si rese conto che mantenendo degli agenti patogeni in coltura o trasferendoli in animali di laboratori potevano diventare meno pericolosi per l'uomo quindi veniva attenuata la loro patogenicità per l'uomo. Per rendere un organismo attenuato possiamo fare diversi passaggi in vitro o in vivo oppure più recentemente si può cercare di modificare il DNA dell'organismo patogeno per renderlo meno

virulento o infettivo ma comunque si tratta di organismi vivi, vivi innocui o vivi attenuati con ottima immunogenicità.

-Organismo intero morto (vaccino inattivato): l'agente patogeno viene distrutto con metodi fisici o chimici (radiazioni, formaldeide, calore), cercando di mantenere l'integrità antigenica. L'immunogenicità è ancora alta ma meno efficace degli organismi vivi.

-Vaccino a subunità. Mentre in queste prime tre tipologie stiamo parlando di organismi interi nei vaccini a subunità si usano solo singoli antigeni purificati o sintetizzati. Meno immunogeno rispetto agli organismi interi.

-Vaccino a DNA: si inietta il DNA (nudo o veicolato da vettori) che una volta entrato nelle cellule viene usato per trascrivere l'antigene protettivo. Ha il vantaggio di stimolare una risposta potenzialmente citotossica oltre che umorale.

Alcuni esempi di tipologia tra i vaccini disponibili:

-Vaccini vivi: vaiolo

-Vaccini attenuati: morbillo, rosolia, parotite, influenza, poliomielite (tipo Sabin), tifo

-Vaccini inattivati: colera, pertosse, poliomielite (tipo Salk)

-Tossoidi: tetano e difterite

-Vaccini a subunità: meningococco, epatite B

In Italia si è deciso di aumentare il numero di vaccini obbligatori che adesso comprendono: difterite, tetano, epatite B, poliomielite, pertosse, Haemophilus influenzae, meningococco B, morbillo, parotite, rosolia, varicella, meningococco C.

Problemi collegati alla vaccinazione:

1-Numerosità dei vaccini obbligatori: per stilare calendari vaccinali praticabili si è dovuto ricorrere all'uso di **vaccini combinati**, cioè uniche somministrazioni che contengono più principi attivi. Bisogna tener presente che la vaccinazione deve essere fatta presto, necessariamente ai bambini nei primi mesi di vita (considerando anche il numero di richiami). Non c'è alcuna evidenza che tale pratica aumenti il rischio della vaccinazione. Sono disponibili diversi vaccini combinati: DTP= difterite, tetano, pertosse; MMR= morbillo, parotite, rosolia; Epatite A+B; IPV+DTP+Hib= Polio inattivato+DTP+Haemophilus influenzae; MMR+Varicella; Hib/MenC.

2-effetti collaterali: Più di 1 su 100 dosi = rossore, gonfiore, febbre leggera, meno frequenti nausea e vomito; da 1/100 a 1/100'000 dosi= febbre alta; da 1/100'000 a 1/1'000'000= reazione allergica grave, epilessia (DTP, morbillo), encefalite (febbre gialla). La maggioranza degli effetti collaterali è trascurabile e comunque connessa ad una reazione positiva dell'organismo. I vaccini rimangono una delle categorie farmacologiche in cui il rapporto effetto, reazioni avverse è più favorevole.

3. IMMUNOLOGIA DEI TUMORI

Il chirurgo che gettò le basi per la moderna immunoterapia fu **William Coley** con l'invenzione della tossina di Coley. Egli si accorse che svariati casi di tumore dell'osso regredivano, seppur raramente in maniera definitiva, a seguito di infezioni post chirurgiche dei tessuti molli poste vicino all'area tumorale. I pazienti che sviluppavano tali infezioni ottenevano un controllo tumorale maggiore dovuto probabilmente ad un'iperattivazione del sistema immunitario che, stimolato dai batteri, agiva anche contro le cellule tumorali. Egli evidenziò queste caratteristiche anche sperimentalmente tramite l'iniezione della sua tossina a base batterica vicino metastasi tumorali in modo da stimolare la risposta immunitaria. Ovviamente iniettare batteri vivi non è una pratica ideale, infatti, per i suoi esperimenti, utilizzò batteri inattivi inoculati e registrò dei casi con una prognosi migliore. In questo modo dimostrò la prima evidenza che collega il sistema immunitario al tumore. Paul Ehrlich, invece, fece un passo in avanti gettando le basi per quella che oggi è definita "**immunosorveglianza naturale**". Lo scienziato ipotizzò che lo sviluppo di un individuo e la sua complessità è tale che è normale possedere alcune cellule che sfuggano al controllo. Un sistema complesso è suscettibile ad errori e a mutazioni che si accumulano sul DNA, ma fortunatamente la maggior parte delle persone non si accorgono di queste cellule modificate perché l'organismo è in grado di proteggersi. Ad oggi la ricerca nel campo dell'immunologia dei tumori indaga le interazioni tra sistema immunitario e tumori maligni o cancri. In particolare si tratta del concetto dell'immunosorveglianza naturale proposto da Burnet e Thomas in cui ipotizzarono che i linfociti agissero come sentinelle in grado di riconoscere ed eliminare le nascenti cellule trasformate che si sviluppano nell'individuo. Ciò è possibile grazie al riconoscimento degli antigeni non- self tumorali, oppure antigeni self immunogeni.

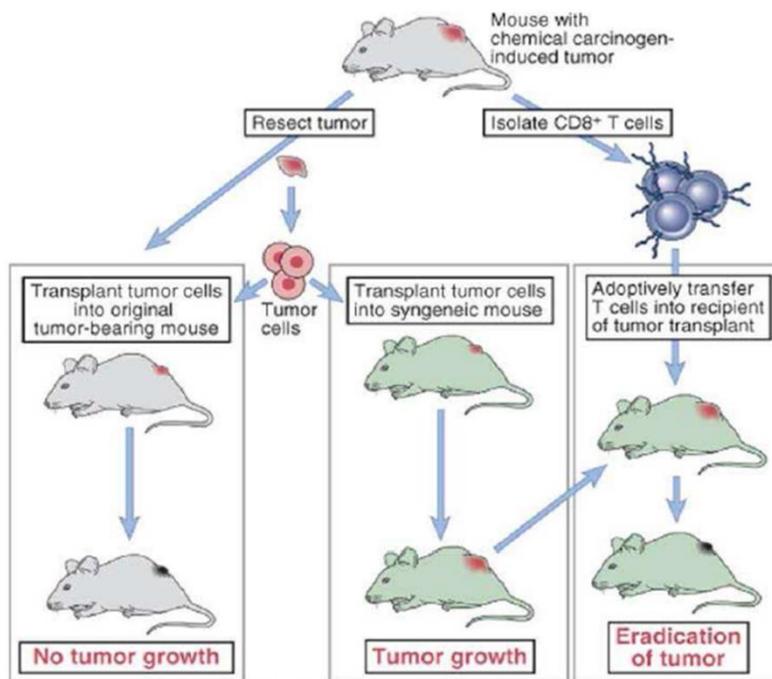
Tumori: Gli eventi iniziali che scatenano le mutazioni oncogene possono essere vari. Un esempio lo possiamo ritrovare nell'esofago in proliferazione che è sempre a diretto contatto con l'ambiente esterno. In questo organo la continua presenza di fattori iniziatori o promotori come fumo di tabacco e carcinogeni alimentari possono creare le condizioni per lo sviluppo di una neoplasia. Tutti i tumori partono da una singola cellula che presenta geni mutati e che prolifera in maniera incontrollata fino ad invadere i tessuti circostanti. I meccanismi che determinano l'espressione di proteine mutate sono diversi e si possono classificare in riarrangiamenti cromosomici o mutazioni puntiformi. In entrambi i casi si assiste ad un cambiamento della funzione della proteina collegata ad alterazione di importanti funzioni di controllo cellulare (oncogeni e geni oncosoppressori). Il tumore, quindi, possiamo definirlo come nuovo tessuto in grado di esprimere i propri antigeni tumorali che saranno diversi da quelli fisiologici. Qualsiasi proteina mutata presente nella cellula tumorale può essere considerata un antigene tumorale. I proto-oncogeni e gli oncosoppressori sono dei geni già presenti fisiologicamente in un organismo che a seguito di una mutazione sono in grado di conferire alla cellula crescita incontrollata. Il proto-oncogene è un gene che controlla il segnale di proliferazione della cellula che fa parte di una famiglia di recettori che trasducono il segnale fino al DNA. Un proto-oncogene diventa oncogene quando rimane sempre attiva la via di segnalazione che controlla. Di solito gli antigeni tumorali sono difficili da individuare attraverso i normali meccanismi di attivazione linfocitaria in quanto il proto-oncogene codifica per proteine self che vengono però espresse in una forma mutata o con piccole variazioni della struttura antigenica. Un altro aspetto che dobbiamo tener conto è l'eterogeneità, in quanto un tumore in fase clinica, diagnosticata, è rappresentato come tessuto policlonale eterogeneo sia a livello fenotipico che genotipico, in cui la cellula iniziale che ha scatenato

tutto il processo ha processo di evoluzione/adattamento. Gli antigeni tumorali potenzialmente riconosciuti dal sistema immunitario possono essere divisi in:

- antigeni tumore-specifici**: sono il risultato di una mutazione che porta ad un cambiamento nella struttura di un amminoacido e alla generazione di una nuova proteina non-self
- antigeni tumore-associati**: proteine espresse in maniera aberrante dal tumore sia perché in eccesso sia perché ectopiche.
- antigeni di virus**: alcuni tumori sono a base infettiva come il papilloma virus. I virus oncogeni contengono nel loro codice genetico uno o più oncogeni che possono sovvertire i normali meccanismi di controllo cellulare, trasformando la cellula ospite in un veicolo per la continua replicazione del virus. I virus possono influenzare direttamente la proliferazione cellulare modificando attivamente il DNA ospite, modificando le regioni di controllo di geni già presenti (proto-oncogeni) o inducendo traslocazioni cromosomiche. Il tumore che si svilupperà esprimerà geni modificati così come le proteine E6 o E7 del papilloma virus. In questo caso il sistema immunitario volendo combattere il virus, combatte il tessuto che ne esprime gli antigeni non self.
- Casi particolari**: i tumori spesso possono esprimere in maniera aberrante anche glicolipidi e glicoproteine. Un esempio sono le mucine (CA125, CA19-9, MUC-1) che vengono espresse dal carcinoma ovarico, del pancreas e mammario e possono essere usati anche per scopi diagnostici per verificare la presenza di una massa tumorale.
- Antigeni di differenziamento**: sono antigeni iper-espresi da alcuni tumori che in parte ricordano ciò che le cellule epiteliali di quel determinato tessuto esprimevano inizialmente. Un esempio lo ritroviamo nell'iper-espressione dell'PSA nel tumore della prostata. In condizioni fisiologiche le cellule epiteliali prostatiche esprimono PSA, ma in particolare la loro concentrazione aumenta notevolmente in presenza di tumore. Un altro esempio lo ritroviamo nel caso degli antigeni CD20 per i linfomi B. L'elevata concentrazione di questi antigeni può essere usata sia come metodo diagnostico per rilevare la presenza di un tumore, sia possono rappresentare proteine immunogene.

Possiamo quindi dire che nel caso in cui in un organismo sia presente una cellula tumorale che esprime proteine mutanti, queste vengono esposte tramite i meccanismi classici dell'MHC per poi essere riconosciute. Ciò che da sempre si è cercato di capire è se il sistema immunitario fosse in grado di rispondere in maniera adeguata agli antigeni mutati. Le evidenze che si sono susseguite storicamente hanno portato ai giorni d'oggi ad affermare che il sistema immunitario è adeguato a riconoscere e combattere il tumore.

-1° evidenza indiretta: riguarda un esperimento effettuato su due topolini geneticamente identici.



Dall'esperimento si deduce che il topo in cui si è sviluppato il tumore ha acquisito una certa difesa che si manifesta non facendo attecchire il tumore dopo diluizione delle cellule. In particolare è stato individuato nel primo topo la presenza di linfociti T citotossici CD8+ capaci di aggredire le cellule tumorali. La crescita tumorale ha generato una reazione immune che solo inizialmente è riuscita a contrastare l'insorgenza del tumore, ma in un secondo momento è diventata inefficace.

-2° evidenza: andando ad osservare istologicamente un qualsiasi tumore troviamo all'interno del tessuto la presenza di infiltrato infiammatorio costituito da macrofagi e/o linfociti

-3° evidenza: nei soggetti in cui è stata indotta immunodeficienza tramite immunosoppressione si osserva un aumento di tumori. Quando il sistema immunitario non funziona bene si verifica un aumento sostanziale dell'insorgenza dei tumori che va dal 4% al 25%.

-4° evidenza: spesso in un paziente tumorale sono presenti anticorpi anti-tumorali contro antigeni tumore-associati e linfociti capaci di distruggere le cellule tumorali.

Il sistema immunitario è quindi capace di riconoscere il tumore e di combatterlo in modo canonico, ma è chiaro che in molti casi pur producendo anticorpi specifici e funzionali contro gli antigeni tumorali, non è sempre in grado di sconfiggere il tumore. Non è soltanto l'immunità acquisita che si muove contro il tumore, ma anche l'immunità innata tramite le cellule NK il cui funzionamento è basato su segnali stimolatori ed inibitori che provengono dall'espressione di molecole di stress come dalla presenza di MHC. Le cellule NK sembrano essere molto efficaci contro il tumore perché lo

possono riconoscere attraverso due meccanismi:
 1 espressione e riconoscimento delle proteine di stress.
 2 assenza dell'MHC di classe I. Questo può succedere nel tumore poiché perdendo la regolazione canonica delle proteine e di conseguenza anche dell'MHC questo potrebbe anche non essere più espresso sulla superficie.

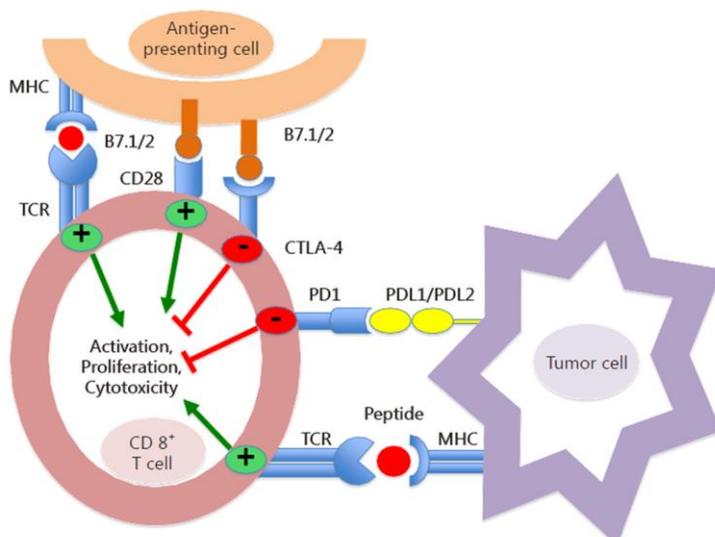
Il sistema immunitario non sempre riesce a distruggere il tumore e in particolare le forme clinicamente rilevanti perché le cellule tumorali avviano un processo dinamico di nome **immunoediting** in risposta all'immunosorveglianza dell'immunità acquisita. Questo meccanismo è caratterizzato da tre fasi:

- 1 Fase iniziale (**eliminazione**): definita anche di immunosorveglianza, le cellule del sistema immunitario riescono ad effettuare la loro attività distruggendo le cellule tumorali presenti nel tessuto.
- 2 Fase intermedia (**equilibrio**): si arriva ad una situazione di equilibrio in cui il processo tende a rallentare e le cellule tumorali diventano resistenti all'azione immunologica.
- 3 Fase finale (**evasione**): fase di fuga in cui il tumore prende il sopravvento sul sistema immunitario e le cellule tumorali continuano a proliferare.

Molti dei meccanismi che portano a questo fenomeno sono ancora da scoprire. Ad oggi se ne conoscono due:

1-eterogenità dei tumori: le cellule immunologiche devono fronteggiare più popolazioni di cellule tumorali che hanno diverso fenotipo e che, per questo, pongono in difficoltà il sistema immunitario. Differentemente a una generica infezione, il virus che attacca un tessuto dà vita a cellule omogenee che esprimono gli stessi antigeni virali e per il sistema immunitario è molto più semplice attaccarlo. Nel caso di un tumore la pressione selettiva del sistema immunitario su una popolazione eterogenea determina la sopravvivenza di cloni tumorali meno riconoscibili da parte del sistema immunitario.

2- checkpoint immunologici: il tumore, con il passare del tempo, riesce ad adattarsi ai vari ambienti che incontra e lo fa anche con il sistema immunitario, producendo fattori che silenziano l'attività dell'immunità acquisita. Oggi si sa che nell'ambiente tumorale sono presenti una serie di citochine antinfiammatorie come il TGF- β o IL-10 che tendono a contrastare l'azione delle cellule



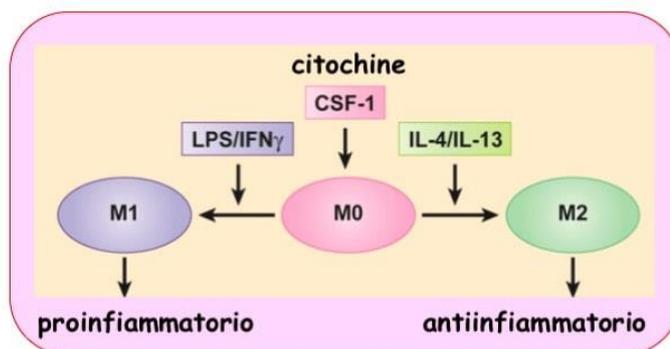
immunologiche. Inoltre recentemente si è data particolare importanza all'attivazione di alcuni punti di controllo del sistema immunitario check-point immunologici che vengono normalmente usati per contrastare un'eccessiva o non voluta attivazione dei linfociti. Due di questi checkpoint sono oggi usati anche come bersaglio farmacologico antitumorale: il CTLA-4 e il PD-1. In particolare il CTLA-4 viene espresso sui linfociti effettori e serve a reprimere un'attivazione prolungata in periferia. A livello evolutivo questo controllo è molto importante poiché non permette al linfocita di essere sempre attivo e di conseguenza limita gli eventuali danni come lo sviluppo di un'inflammatione cronica. Il CTLA-4 nel momento in cui trova il proprio ligando manda in anergia o in apoptosi il linfocita. Simile è il meccanismo del PD-1. Sono tutti freni per un'eccessiva attivazione dei linfociti. Le cellule tumorali esprimono i ligandi di questi recettori e tramite la somministrazione di anticorpi specifici è possibile neutralizzare tali vie di inibizione. Questi farmaci stanno dando nuova speranza alla terapia antitumorale.

Da ciò deduciamo che, tramite il processo dell'immunoediting, le cellule immunologiche trovano difficoltà sia nel riconoscere i bersagli, sia nel svolgere le funzioni perché si trovano in un ambiente antinfiammatorio.

Il tumore quindi esprime tutta una serie di meccanismi di protezione come:

- 1- selezione di antigeni non immunogeni.
- 2- mancata espressione dell'MHC-I con conseguente deficit funzionale dei linfociti T citotossici CD8+
- 3- produzione di citochine immunosoppressive come il TGF- β e IL-10
- 4- produzione di ligandi per i checkpoint immunologici

A questi meccanismi va aggiunto un ulteriore fenomeno che riguarda la modulazione della popolazione di macrofagi a livello tumorale. Abbiamo visto che i macrofagi prendono parte attiva nell'immunità e nella difesa contro i tumori, ma in realtà non tutte le popolazioni macrofagiche hanno la stessa capacità di distruggere la massa tumorale. In particolare, dai monociti in circolo, si possono differenziare due sottopopolazioni di cellule macrofaghe: la M1 e non la M2. La prima possiede la capacità di soppressione del tumore e di causare infiammazione, la seconda promuove la rigenerazione e la riparazione del tessuto ed è regolato da interleuchina specifiche come IL-4, IL-13, IL-10. Fisiologicamente, nel riparo della ferita la prima fase è caratterizzata da una promozione dell'infiammazione in cui c'è bisogno di eliminare eventuali agenti infettivi (necessari macrofagi M1), l'ultima fase, invece, è caratterizzata da un'attività antinfiammatoria per consentire il riparo della ferita (necessari macrofagi M2). I tumori rilevati clinicamente contengono spesso proprio la popolazione dei macrofagi differenziati verso il fenotipo M2 che sono associati alla repressione delle attività infiammatorie.



Da metà degli anni 50' (vaccino di Coley) ad oggi si sono compiuti enormi passi in avanti nei confronti di questi temi, anche se il tumore si è sempre dimostrato più forte del sistema immunitario. Ultimamente (dal 2011) si è scoperto che forse si può cercare di rendere più forte il sistema immunitario tramite la somministrazione di farmaci basati sulla riattivazione dell'immunità acquisita.

4. IMMUNOLOGIA DEI TRAPIANTI

La pratica chirurgica rende oggi possibile il trapianto di molti organi. L'esperienza dell'uomo però da sempre lega il trapianto di organi ad insuccesso. Oggi sappiamo che ciò è determinato proprio dall'intervento del sistema immunitario. Le reazioni immunologiche responsabili del rigetto dei trapianti sono le stesse delle malattie infiammatorie autoimmuni. Il rigetto è un processo nel quale le cellule del tessuto trapiantato vengono riconosciute come estranee e distrutte dai linfociti T e dagli anticorpi prodotti contro gli antigeni dei tessuti del trapianto. Possiamo distinguere varie tipologie di trapianti a seconda della distanza genetica tra donatore e ricevente

***Autotrapianto:** nello stesso soggetto viene prelevato un pezzo di tessuto che poi verrà trapiantato nello stesso individuo. Tutte le proteine sono identiche e il tessuto viene riconosciuto come self. Questo tipo di trapianto lo possiamo riscontrare in due tipologie di situazioni:
-1 Trapianto di cute: nei grandi ustionati è possibile prelevare le cellule in tessuti ancora intatti, farle crescere in vitro per poi trapiantarle nella zona lesa

-2 cellule modificate in vitro: nei soggetti affetti da patologie che riguardano il midollo osseo è possibile prelevare le cellule per modificarle geneticamente e per poi trapiantarle nuovamente nello stesso individuo. Stesso meccanismo è possibile effettuarlo nel caso di cellule staminali. Queste possono essere prelevate dal tessuto adiposo o dal midollo osseo, fatte crescere in vitro e poi essere trapiantate nella zona lesa. Oggi può essere fatto producendo cellule staminali pluripotenti indotte a partire da cellule differenziate

***Sintrapianto:** è un tipo di allotrapianto in cui il donatore e il ricevente sono geneticamente identici come nel caso di due individui gemelli omozigoti. Viene praticato nei modelli sperimentali di topi in laboratorio che sono identici a livello genetico. Questo tipo di trapianto si differenzia dagli altri allotrapianti perché gli antigeni degli organi trapiantati sono geneticamente identici a quelli del donatore e il corpo del ricevente li riconosce come propri ("self"). Non scatena la reazione immunitaria che porta al rigetto.

***Allotrapianto:** trasferimento di un tessuto o di un organo nel quale il donatore e il ricevente sono individui diversi, ma fanno parte della stessa specie (Uomo-Uomo / Cane-Cane). I tessuti hanno antigeni differenti e possono essere riconosciuti come estranei, può avvenire il rigetto

***Xenotrapianto:** caso estremo in cui avviene il trapianto tra specie diverse con conseguente rigetto immediato, tranne rari casi in cui si riesce a modificare l'antigenicità del tessuto da trapiantare.

Al giorno d'oggi i trapianti, a livello tecnico e chirurgico, sono possibili, in molti casi si effettua anche l'allograpianto, ma il problema lo riscontriamo a livello del sistema immunitario, in quanto, anche se l'operazione riesce nel migliore dei modi, il tessuto può essere rigettato. Se andiamo ad osservare una casistica generale di trapianti effettuati dagli anni 90' ad oggi, riscontriamo un notevolmente aumento sia nel numero (nel 2002 negli USA sono stati effettuati trapianti di più di 15.000 reni, più di 5000 fegati e più di 2000 cuori) che nell'attesa di vita. I tassi di sopravvivenza sono nettamente migliorati (dal 50% fino al 70%) con l'introduzione di un trattamento farmacologico di ciclosporine che generano **immunosoppressione**. I soggetti che hanno effettuato un trapianto devono necessariamente essere trattati con immunosoppressori altrimenti si può avere un rigetto.

Esistono 3 tipologie di rigetto a seconda della tempistica con cui esso avviene:

- 1 Rigetto iperacuto: avviene nell'arco di minuti o ore
- 2 Rigetto acuto: si realizza tra i 10 e i 30 giorni
- 3 Rigetto cronico: i segni di rigetto si riscontrano dopo anni. Il rigetto iperacuto è quello che deve essere assolutamente evitato in quanto causa morte certa, invece per quanto riguarda il rigetto acuto e/o cronico si può fronteggiare a livello farmacologico.

***Rigetto iperacuto:** si riscontra una elevata velocità di reazione da parte del sistema immunitario che lascia pensare che sia già pronto contro quel tipo di tessuto in quanto possiede già abbastanza anticorpi contro gli antigeni trapiantati che innescano un meccanismo di danneggiamento dell'endotelio, emorragia, coagulazione e trombosi. Il caso generico di un rigetto iperacuto lo ritroviamo negli xenotrapianti (motivo per cui sono impossibili da effettuare). Non è possibile utilizzare gli organi di maiale (animale più compatibile con l'uomo) per effettuare dei trapianti, in quanto, i tessuti del maiale esprimono catene zuccherine di α -galattosio che non sono presenti nell'uomo e negli altri primati. Ciò fa sì che l'uomo abbia già anticorpi programmati contro queste strutture. Un altro esempio di rigetto iperacuto si può avere nel caso in cui in uno stesso individuo sono stati effettuati più trapianti dello stesso tipo di tessuto e il sistema immunitario è già pronto ad effettuare il rigetto (rigetto accelerato o di secondo grado). Oppure un esempio lo riscontriamo nelle trasfusioni sbagliate o rigetto di gravidanze. In conclusione il rigetto iperacuto si ha quando l'organismo ha subito un'immunizzazione precedente oppure presenta anticorpi naturali.

***Rigetto acuto:** avviene tra i 10 e i 30 giorni, il lasso di tempo ideale in cui si attiva la risposta umorale. I linfociti T vengono attivati contro gli antigeni del tessuto, i linfociti CD8+ vanno a distruggere le cellule e i T helper vanno a costituire le basi per una reazione pro-infiammatoria. Qui il danno che va a crearsi può essere a livello vascolare o del parenchima con conseguente rigetto degli organi trapiantati.

***Rigetto cronico:** avviene oltre i 5 anni ed è quello che normalmente porta alla morte dell'individuo. (Per il trapianto del rene si stima che il rischio di mortalità aumenti il 5% ogni anno). In questa situazione quello che si verifica nel tessuto, anche se è stata somministrata una terapia immunosoppressiva, è un continuo deterioramento funzionale dovuto a formazioni di tessuto cicatriziale (deposizione di matrice extracellulare), indurimento dei vasi sanguigni (aterosclerosi, atrofia dei vasi, possibilità di ischemia) e il tutto sempre sostenuto da uno stato infiammatorio cronico. Il danneggiamento, soprattutto a livello della vascolatura, è dovuto ad una continua e

persistente risposta immunitaria. Anche la stessa immunoterapia può danneggiare direttamente l'organismo.

Il sistema immunitario è programmato per attaccare il non-self. Quando avviene un trapianto esso non riconosce come proprio il tessuto e lo attacca. Per cercare di contrastare al meglio la sua azione, è necessario come prima cosa individuare un **donatore compatibile**, un individuo che possieda gli antigeni ad alta variabilità, simili al ricevente. Gli antigeni da controllare sono quelli di istocompatibilità MHC e i gruppi sanguigni ABO e Rh. L'MHC è il sistema proteico polimorfico più variabile ed è quasi impossibile che due individui abbiano lo stesso pattern allelico. Un altro importante aspetto da tenere sotto controllo sono le varianti alleliche proteiche (allotipi). Tutto ciò ci porta a comprendere come il sistema immunitario riconosca il tessuto trapiantato: tramite il meccanismo classico dell'MHC che attiva l'attività linfocitica. Purtroppo esistono altre vie di riconoscimento, in quanto, anche il tessuto trapiantato porta con sé le proprie cellule dendritiche che continuano a funzionare e presentano l'antigene ai linfociti. L'MHC del trapiantato, che prende il nome di allogenico, è probabile che sia diverso dall'MHC del donatore e nel momento in cui un linfocita T va a vagliare l'MHC allogenico, questo potrebbe riconoscere come estraneo anche un peptide proprio. Ciò succede perché quando avviene nel riconoscimento MHC-TCR, il TCR riconosce sia complesso peptide/MHC. Questo porta a due possibili vie di reazione del sistema immunitario:

-Via indiretta: il peptide dell'antigene trapiantato viene riconosciuto dalla propria cellula dendritica e quindi c'è l'attivazione di macrofagi e linfociti T secondo modalità canoniche.

-Via diretta: Avviene il riconoscimento allogenico. Le cellule del tessuto trapiantato, tramite le proprie cellule dendritiche, attivano i linfociti CD8+ della cellula dell'ospite che diventeranno effettrici e andranno a distruggere le cellule del tessuto trapiantato.

Tutto ciò ci porta a capire che una volta trovato il donatore, tramite un'analisi di compatibilità (è quasi impossibile trovare un donatore perfettamente compatibile), si può dedurre l'aspettativa di vita dell'individuo che deve subire il trapianto, a seconda proprio del livello di compatibilità. Nel caso ci sia una corretta corrispondenza degli alleli HLA l'attesa di vita a 5 anni supera il 75%. Man mano che gli alleli differenti aumentano, l'aspettativa di vita diminuisce: 6 alleli diversi 65%. Una volta trovato il donatore compatibile ed effettuato l'intervento, il paziente deve sottoporsi ad una terapia che utilizza farmaci immunosoppressori per andare a limitare l'azione del sistema immunitario. In questi farmaci possono essere presenti corticosteroidi (antinfiammatori), ciclosporine (bloccano la trascrizione delle citochine nei linfociti T), oppure anticorpi che vanno a bloccare in maniera specifica alcune funzioni del sistema immunitario. È chiaro che questo tipo di terapia comporta l'aumento di probabilità di infezioni opportunistiche che normalmente non trovano modo di essere conclamate, infezioni croniche che sono in stato di latenza o quiescenza come l'herpes virus ed infine l'incidenza di vari tumori, soprattutto virali come il papilloma virus.