

Capitolo 3

IMMUNOLOGIA E IMMUNOPATOLOGIA

3.1. Definizione

L'immunità è stata definita come la capacità di resistere alle infezioni. Questa capacità si esplica non soltanto nei confronti di batteri o virus, ma anche verso tutto ciò che viene riconosciuto dall'organismo come estraneo. Queste reazioni possono presentarsi in molte forme, alcune delle quali anomale, per cui risulta che l'immunità non dà solo protezione, ma può essere anche causa di malattia.

3.2. La risposta immunitaria

La risposta immunitaria ha due forme differenti: una primitiva e non specifica di meccanismi di protezione naturali, ed un complesso sistema di reazioni cellulari ed umorali che si sviluppa in seguito a ripetute esposizioni a sostanze estranee, conosciuta come immunità acquisita.

I *meccanismi di protezione naturali* vengono ereditati e non dipendono da un precedente incontro con la sostanza estranea. Questi meccanismi di difesa includono varie barriere meccaniche, come l'epidermide, o forze fisiche come il movimento ciliare dell'epitelio bronchiale, o enzimi come il lisozima, proteina con potente capacità antibatterica aspecifica che si trova nelle lacrime, nella secrezione nasale ed intestinale.

L'*immunità acquisita* si basa su una risposta specifica stimolata da sostanze che agiscono come antigeni (Ag). Per antigene si intende una sostanza chimica che può indurre una risposta immunitaria specifica. Questa risposta fu inizialmente individuata come produzione di proteine in grado di riconoscere e legarsi all'antigene, dette anticorpi (Ab) o Immunoglobuline (Ig). Questa iniziale reazione viene poi amplificata da una serie di eventi che coinvolgono un po' tutte le cellule del sistema immunitario: linfociti e macrofagi, ma anche basofili ed eosinofili. L'immunità acquisita si basa sulla capacità che il nostro sistema immunitario ha di distinguere il *self* dal *non-self*, di generare memoria immunologica, e di montare una reazione combinata di più cellule detta immunocompetenza.

3.3. Le cellule del sistema immunitario

Tutte le cellule del sistema immunocompetente discendono dalle primitive cellule staminali emopoietiche del midollo osseo.

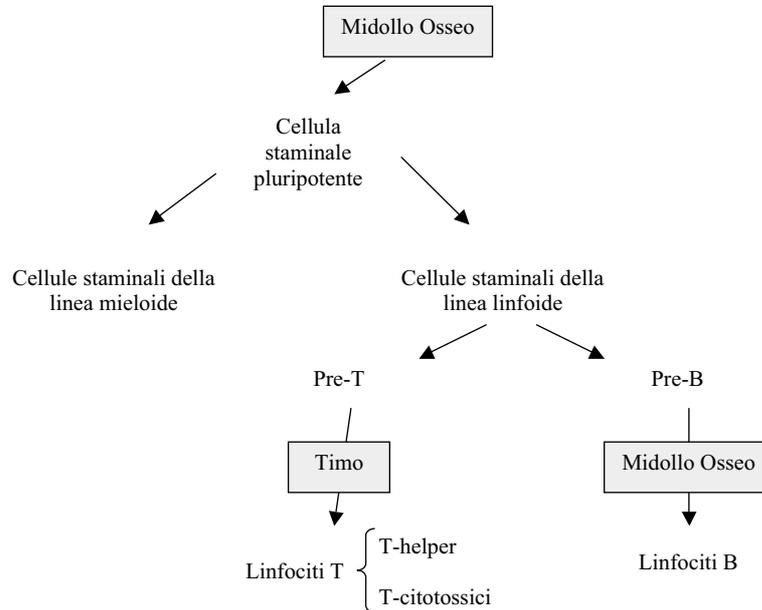
I linfociti sono cellule piccole, poco più grandi di un globulo rosso, con nucleo rotondo e poco citoplasma. Tutti i linfociti derivano dalla cellula staminale midollare pre-linfoide da cui origineranno due distinte linee cellulari: i precursori di una linea migreranno al timo e matureranno in T-linfociti, i precursori dell'altra linea rimarranno nel midollo osseo e matureranno in B-linfociti. Timo e Midollo Osseo sono considerati *organi linfoidi primari*. In questi organi i Pre-Linfociti vanno incontro a maturazione. In questa fase presentano sulla superficie cellulare delle proteine particolari dette marcatori di membrana che li differenziano tra loro (CD = cluster of differentiation). Una volta raggiunta la maturazione, questi linfociti maturi, detti "vergini", migreranno verso gli *organi linfoidi secondari*. Tra questi i più importanti sono la milza ed i linfonodi, in cui i linfociti costituiscono la parte più cospicua della popolazione. I linfociti si trovano anche nella mucosa gastrointestinale e bronchiale dove formano il cosiddetto tessuto linfoide mucosa-associato (MALT), che a differenza di milza e linfonodi, non ha capsula e le sue cellule fanno parte integrante della mucosa.

I linfociti T e B hanno funzioni distinte anche se morfologicamente non sono distinguibili, né al microscopio ottico, né al microscopio elettronico. Essi possono essere distinti solo attraverso tecniche di immunochimica che sono in grado di identificare dei marcatori di membrana, tramite l'uso di anticorpi ("colorati" per esempio da sostanze fluorescenti). Questi marcatori o cluster di differenziazione, vengono espressi selettivamente durante i vari stadi della differenziazione cellulare; alcuni sono espressi solo dai T, altri solo dai B, importante per esempio nella diagnosi dell'AIDS, delle leucemie o dei linfomi.

3.3.1. La maturazione dei linfociti

I **linfociti B** o "borsa-dipendenti", vengono a maturazione nel midollo osseo. Il nome deriva da un organo degli uccelli (Borsa di Fabrizio) dove furono individuati per la prima volta. Il loro compito è di produrre anticorpi, proteine solubili deputate alla individuazione ed al legame con l'antigene. I **linfociti T**, o "timo-dipendenti", sono linfociti maturati nel timo. Essi costituiscono i due terzi di tutti i linfociti del sangue e si ritrovano nella zona paracorticale dei linfonodi e nell'area periarteriolare della milza. Ci sono diverse sottopopolazioni dei linfociti T: i più importanti sono i *T-helper* (TH) o adiutori ed i *T-citotossici* (TC). I T-helper partecipano attivamente alla risposta immunitaria contro l'antigene, aiutando le cellule B nella produzione degli anticorpi. I TC citotossici uccidono le cellule infettate da virus e le cellule tumorali che vengono riconosciute estranee all'organismo. Un'altra categoria, i *T-soppressori* modulano la produzione di anticorpi, sopprimendone la produzione eccessiva o non richiesta.

I linfociti che arrivano a maturazione negli organi linfoidi primari sono *linfociti vergini*, ovvero la loro maturazione è avvenuta in un ambiente isolato dall'esterno perciò lontano dall'antigene: non hanno ancora incontrato l'antigene. Negli organi linfoidi secondari, se



SCHEMA 3.1. La maturazione dei linfociti.

I linfociti derivano, come tutte le altre cellule emopoietiche, da una comune cellule pluripotenti posta nel midollo osseo. Da questa cellula hanno origine sia le cellule staminali, ovvero i precursori, della linea mieloide che quelli della linea linfoidi. Dalle cellule commissionate a dare origine ai linfociti si sviluppano due linee di cellule: i Pre-T ed i Pre-B, che matureranno per diventare cellule mature in due tessuti differenti. I Pre-T migreranno al timo e lì raggiungeranno a maturazione, mentre i Pre-B resteranno nel midollo osseo.

incontrano l'antigene, vanno incontro ad una attivazione che li porta a proliferare ed aumentare enormemente il loro numero. Si parla di *amplificazione clonale*.

Durante la maturazione negli organi linfoidi primari, i linfociti vergini presentano sulla membrana varie strutture proteiche tra cui i CD ed il *recettore specifico* capace di riconoscere uno ed un solo antigene.

Tutte le cellule T hanno in comune sulla loro superficie un recettore il TCR, (migliaia di molecole), che è legato a proteine di membrana conosciute come CD3. Il complesso TCR-CD3 è essenziale per l'attività dei linfociti T. Le cellule B avranno invece un BCR (migliaia di molecole). Il recettore viene utilizzato per riconoscere e quindi legarsi agli antigeni.

Una cellula è in grado di riconoscere uno ed un solo Ag. Ma quanti sono gli Ag che il nostro organismo è in grado di riconoscere come tali? Il recettore, abbiamo detto, è specifico e, come tutti i costituenti proteici cellulari, viene codificato da una informazione scritta nel genoma. Come tutti gli altri geni ereditati dai nostri genitori, anche i geni che codificano per il TCR o il BCR sono in tutte le cellule del corpo, ma vengono attivati solamente in quelle cellule che hanno intrapreso la differenziazione che le ha portate a diventare linfociti

ed in particolar modo linfociti T o linfociti B. La loro attivazione avviene tramite complessi riarrangiamenti genici. È come se venissero scritte un numero infinito di parole a partire da poche lettere dell'alfabeto. Le lettere vengono assemblate a caso e solo alcune hanno un significato nel linguaggio corrente. Cioè viene formato un elevato numero di recettori diversi che sono come serrature per chiavi specifiche (gli antigeni), ma non è detto che effettivamente esista quella chiave. Questi recettori si formano prima dell'incontro con l'Ag. Se l'Ag non esiste o comunque la chiave non incontra la serratura, la cellula che porta quel recettore dopo un po' andrà incontro a morte per apoptosi. Se invece incontrerà l'antigene andrà incontro ad *espansione clonale* e da una cellula nasceranno molte cellule uguali (per esempio 1000) capaci di rispondere a quel determinato Ag. Se sono linfociti B diventeranno, una parte *plasmacellule*, capaci di produrre anticorpi (Ab), ed un'altra parte diventeranno *cellule della memoria immunitaria*. Queste ultime saranno capaci di rendere l'organismo più pronto alla risposta di difesa in caso di un secondo contatto con l'Ag.

3.3.2. L'incontro con l'antigene

L'incontro con l'Ag deve avvenire negli organi *linfoidi secondari*. Se avviene negli organi *linfoidi primari*, quando ancora cioè è in corso la maturazione, la cellula va in apoptosi e muore. Negli organi linfoidi primari i linfociti hanno l'opportunità di incontrare non tanto Ag esogeni, quanto i costituenti del nostro organismo, ovvero i costituenti del SELF. Perciò i linfociti che presentano un recettore che è in grado di legarsi con i componenti SELF, lo potranno incontrare già negli organi linfoidi primari, vi si legheranno e questo legame li porterà a morte. Questa *delezione clonale* porta alla *tolleranza immunitaria* verso il SELF ovvero verso i componenti dell'organismo. Questo avviene sia per i B che per i T. Se si altera questo meccanismo, incorriamo in malattie autoimmuni.

Esiste una popolazione di linfociti che ha sulla superficie gli stessi markers dei linfociti T, ma non ha il riarrangiamento per il TCR. Queste cellule sono circa il 10-15% dei linfociti circolanti e sono conosciute come natural killer (NK). La loro funzione è di reagire contro cellule infettate da virus ed uccidere cellule tumorali o cellule estranee senza una precedente sensibilizzazione.

Considerando l'enorme numero di recettori espressi dall'intera gamma dei piccoli linfociti di un organismo, è facile pensare che il numero dei linfociti vergini in grado di rispondere ad un determinato Ag deve essere estremamente esiguo. Poiché una sostanza patogena può entrare nell'organismo da diverse vie ed essendo molto basso il numero di cellule reattive verso quel patogeno, come fa un linfocita ad incontrare il suo Ag? La risposta risiede nella continua circolazione dei linfociti vergini attraverso gli organi linfoidi periferici: linfonodi, milza, ecc. Attraverso gli organi linfoidi periferici passano anche gli antigeni che sono entrati all'interno dell'organismo e qui portati dalle varie sedi di infezione, per esempio dalla linfa che scorre nel sistema linfatico e passa quindi nei linfonodi.

L'Ag che si lega ad un recettore Ag-specifico presente sulla membrana di un linfocita, innesca l'espansione clonale ed il differenziamento che danno origine ad un clone di cellule *effettrici* attive, capaci cioè di liberare l'organismo dai microrganismi che hanno provocato

la risposta immunitaria. Ma la stimolazione tramite il legame con l'Ag è necessaria ma non sufficiente ad attivare il linfocita. Perché avvenga l'espansione clonale ed il differenziamento dei linfociti vergini non è richiesto solo il legame del recettore all'antigene, ma anche un secondo segnale proveniente da altre cellule. Per le cellule B questo segnale proviene dai linfociti T-helper; per le cellule T può venire dai linfociti B, dai macrofagi, dalle cellule dendritiche, dette per questo *cellule APC* (antigen presenting cells), che si ritrovano principalmente nei tessuti linfoidi.

Quando un Ag è presentato da altri tipi di cellule, per esempio a degli epatociti (antigeni autologhi), che non hanno capacità co-stimolatoria, si ha *tolleranza immunitaria*. Questi antigeni autologhi espressi ad esempio solo dagli epatociti, non possono venir incontrati dai linfociti nei primi stadi di sviluppo e quindi le cellule reattive nei loro confronti non subiscono delezione clonale, tuttavia, siccome queste cellule non hanno la capacità co-stimolatoria necessaria per l'attivazione del linfocita vergine, cioè non sono APC, questi Ag non innescano una risposta immunitaria ed il linfocita viene inattivato e diviene *anergico*, incapace cioè di rispondere all'Ag anche se verrà successivamente presentato da una cellula APC.

3.3.3. Le diverse classi di cellule effettrici

Le diverse abitudini di vita dei microrganismi richiedono diversi meccanismi sia di riconoscimento sia di distruzione. Vi sono due tipi di recettore per l'antigene: i recettori dei linfociti B (BCR) che altro non sono che immunoglobuline con un frammento inserito nella membrana cellulare, ed i recettori, più piccoli dei BCR, dei linfociti T (TCR). Il riconoscimento e legame dei due recettori con il proprio antigene si attua attraverso due vie completamente differenti. Le cellule B riconoscono gli Ag che si trovano all'esterno della cellula, le cellule T quelli generati all'interno della cellula.

3.3.4. Gli anticorpi

Il primo prodotto specifico della risposta immunitaria ad essere stato identificato è la molecola anticorpale. Gli anticorpi sono proteine ritrovate nella parte liquida del sangue, il plasma, e nei fluidi extracellulari, chiamate anche immunoglobuline (Ig) o gamma-globuline prodotte da cellule specifiche dette plasmacellule.

I *linfociti B* hanno il compito di differenziarsi in cellule capaci di produrre anticorpi: le plasmacellule. Questa differenziazione avviene in più stadi. Ciascuno di questi stadi intermedi è caratterizzato da cambiamenti sia della superficie cellulare sia citoplasmatici, riconoscibili con metodi istochimici. La principale caratteristica è l'attivazione dei geni per le immunoglobuline, che si attivano solo nelle cellule B, in modo analogo al gene per il TCR, con un complesso riarrangiamento che rende capaci le cellule B di produrre una grande varietà di Ig.

Le *plasmacellule* sono l'ultimo stadio differenziativo dei linfociti B. Hanno forma ovale, con nucleo rotondo posizionato in maniera eccentrica nel citoplasma. Il citoplasma risulta

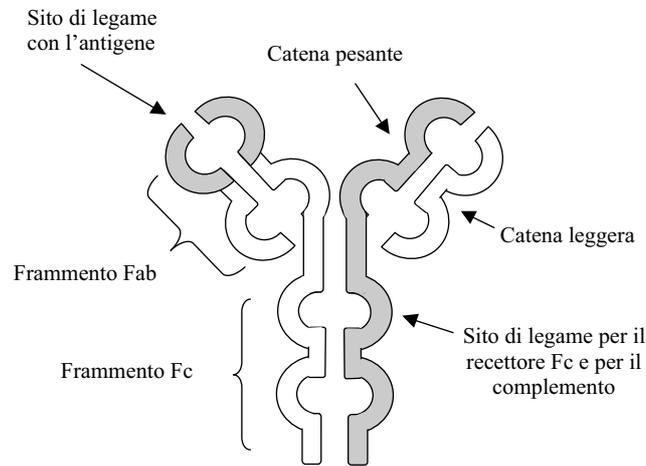


FIGURA 3.1. La struttura degli anticorpi.

La figura mostra uno schema della struttura delle IgG evidenziando i domini delle catene leggere e pesanti e le regioni responsabili del riconoscimento dell'antigene e delle funzioni effettrici.

affine per i coloranti basici, basofilo, grazie al suo abbondante contenuto di acido ribonucleico dei ribosomi e del reticolo endoplasmico rugoso, dove avviene la sintesi delle Ig.

Vi sono cinque classi di Ig: IgM, IgG, IgA, IgE, IgD.

Tutte le immunoglobuline sono proteine composte da due *catene pesanti* e due *catene leggere* (kappa o lambda) di aminoacidi. Le catene pesanti sono specifiche della classe, perciò saranno μ , γ , α , ϵ , δ , rispettivamente. Esse determinano le caratteristiche della classe, le sue proprietà e le sue funzioni. Le immunoglobuline hanno forma di Y le cui braccia costituiscono i due siti identici per il legame con l'antigene. La porzione della Ig che li comprende è detta frammento che lega l'antigene o Fab. Questi siti possiedono un'alta variabilità di struttura (*porzione variabile*). Lo stelo della Y o frammento cristallizzabile Fc, possiede una variabilità limitata ed è conosciuto come *regione costante* che conferisce all'anticorpo le sue caratteristiche funzionali. Sulla base di queste caratteristiche le immunoglobuline si dividono in cinque classi diverse. All'interno della stessa classe le immunoglobuline avranno la stessa struttura morfologica, le stesse funzioni, ma avranno come bersaglio antigeni diversi, se appartengono a cloni diversi. Il frammento Fc si lega a specifici recettori che sono espressi sui macrofagi, sui granulociti polimorfonucleati e su poche altre cellule, e tramite questo legame è in grado di attivare quelle cellule.

Gli anticorpi reagiscono legandosi ai microrganismi ed ai loro prodotti extracellulari assicurando la protezione all'ospite attraverso tre vie principali:

1. la *neutralizzazione* del patogeno o dei suoi prodotti semplicemente legandosi ad esso;
2. *osponizzando* il patogeno e rendendolo più facilmente fagocitabile;
3. attivando il *complemento*.

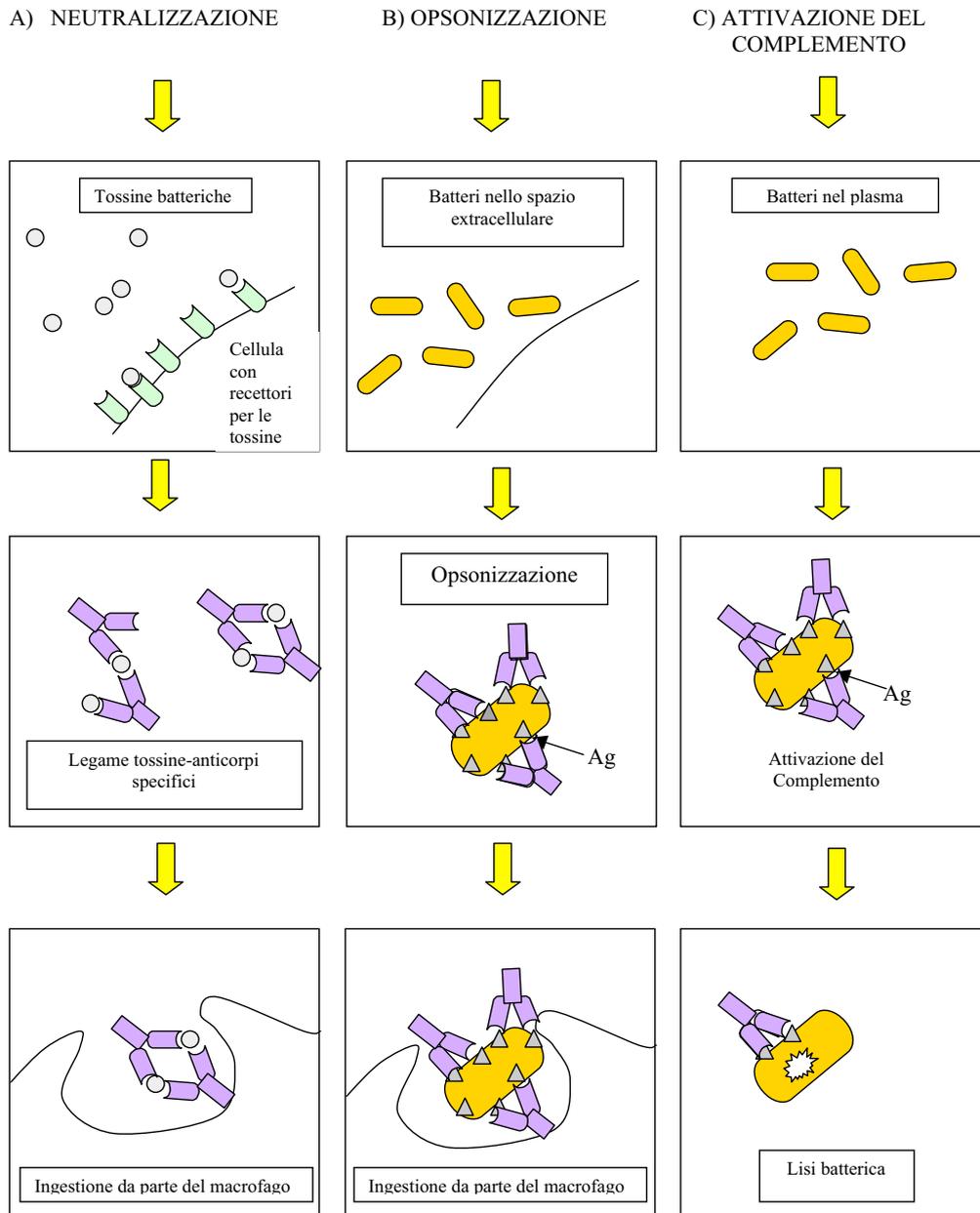


FIGURA 3.2. La difesa anticorpale.

Gli anticorpi partecipano alla difesa dell'organismo in tre modi diversi:

- (A) legando e neutralizzando le tossine batteriche;
- (B) legandosi a particelle virali o batteriche e rendendole riconoscibili (opsonizzazione) ai fagociti professionali, macrofagi e granulociti neutrofili;
- (C) legandosi ad antigeni presenti sulla parete batterica con la porzione Fab, ed attivando il complemento con la porzione Fc.

Le diverse classi di anticorpi si ritrovano a livello di distretti corporei diversi ed agiscono con meccanismi effettori diversi.

Le *IgM* sono composte di cinque unità di base e perciò sono le più grandi (macroglobuline), non penetrano facilmente attraverso la parete vasale, non passano la barriera placentare. La loro funzione è di neutralizzare i microrganismi, sono forti attivatori del complemento, sono le prime Ig che si formano dopo l'immunizzazione e sono anticorpi naturali contro gli antigeni ABO dei gruppi sanguigni.

Le *IgG* sono le più piccole, e le più numerose. Esse vengono prodotte in piccola quantità dopo l'iniziale immunizzazione, ma la loro produzione si amplifica alla seconda esposizione all'antigene. I recettori per il frammento Fc delle IgG si trovano sui macrofagi, sui polimorfonucleati, sui linfociti, sugli eosinofili, sulle piastrine e sulla placenta. Esse agiscono come opsonine, ricoprendo il batterio e facilitandone la fagocitosi o la loro distruzione, attivando la via classica del complemento.

Le *IgA* si trovano soprattutto nelle secrezioni delle mucose e nel latte materno. Sono dimeri con una porzione secretoria che le protegge dall'azione digestiva dell'intestino.

Le *IgE* sono presenti solo in tracce nel siero; vengono secrete da plasmacellule sensibilizzate nei tessuti e si attaccano localmente alle mast-cellule. Esse mediano le reazioni allergiche tissutali. Un loro rilascio massivo può provocare lo shock anafilattico.

Le *IgD* sono legate alle membrane delle cellule B e partecipano alla loro maturazione e attivazione.

La prima risposta ad un antigene si basa sulla produzione di IgM, ed è transitoria, segue una temporanea produzione di IgG. Dopo una seconda esposizione allo stesso antigene, si ha una risposta molto più ampia e pronta con grande produzione di IgG. Si parla di "scambio di classe" stimolato da citochine diverse, con funzioni diverse.

La produzione di anticorpi comincia con il contatto tra un antigene e le cellule del sistema immunitario e finisce con la produzione da parte delle plasmacellule di Ig capaci di reagire con l'antigene. Un antigene in grado di evocare una risposta immunitaria è detto *antigene completo* a differenza degli antigeni incompleti o *apteni*, che diventano immunogenici se legati ad una molecola più grossa, usualmente una proteina, detta *carrier*. Solo una piccolissima minoranza di antigeni è in grado di stimolare direttamente le cellule B ad esempio il lipopolisaccaride (LPS) di membrana di alcuni batteri tipo lo stafilococco. Per fare questo il LPS si lega ad un recettore presente sulla membrana cellulare: il BCR. Questo recettore ha la forma e la struttura dell'immunoglobulina che poi il linfocita B produrrà, una volta diventato plasmacellula. Per la maggior parte dei casi però per essere attivato a montare una risposta immunitaria contro

TABELLA 3.1. Differenza tra risposta anticorpale primaria e secondaria.

	Risposta primaria	Risposta secondaria
Tempo di latenza	5 giorni	1-2 giorni
Produzione di anticorpi	lenta	rapida
Livelli raggiunti	bassi	alti
Affinità verso l'antigene	bassa	alta
Classe di anticorpi	IgM>IgG	IgG>IgM

un certo antigene il linfocita B ha bisogno dell'aiuto e dell'intervento di altre cellule: le cellule *T-helper*, che a loro volta per fare questa attivazione, devono essere state attivate. Tutte queste attivazioni avvengono tramite il legame tra il recettore di membrana (TCR), specifico per quell'antigene e l'antigene stesso. Ma i TCR riconoscono e quindi si legano non tanto all'antigene in toto, come possono fare i BCR, ma a porzioni elaborate e "presentate" da cellule specifiche dette APC (cellule presentanti l'antigene), tra cui i macrofagi. I macrofagi ed altre cellule APC come le cellule di Langerhans della cute o le cellule dendritiche follicolari dei linfonodi, hanno, come abbiamo già detto, recettori per la porzione Fc delle Ig, come pure per il frammento C3 del complemento. Sia le immunoglobuline sia il C3 hanno funzione di opsonine ed aiutano la fagocitosi del batterio da parte del macrofago.

3.3.5. Reazione antigene-anticorpo

La maggior parte degli antigeni porta più di un sito antigenico o *epitopo*, ed è capace quindi di legare più di un anticorpo sulla sua superficie. Gli antigeni sono perciò spesso multivalenti.

Gli antigeni e gli anticorpi si legano con legami chimico-fisici a formare dei complessi che, se l'antigene è solubile, sono circolanti nel plasma. Questi complessi tendono ad allargarsi fino ad una dimensione tale da renderli fagocitabili dai macrofagi fissi del fegato e della milza. A seconda della dimensione, della carica e della solubilità i complessi antigene-anticorpo possono rimanere sospesi in circolo per lungo tempo, possono attaccarsi ai globuli rossi per essere portati ad un organo catteretico come il polmone o la milza, possono passare attraverso la parete dei capillari, come altre proteine. In questo ultimo caso però, a seconda della loro dimensione, possono rimanere intrappolati e depositarsi nella membrana basale. Poiché così intrappolati sono in grado di attivare il complemento, si innesca un meccanismo pro-infiammatorio che crea danni, anche ingenti, al tessuto (vedi Patologia da immunocomplessi).

Gli anticorpi verso antigeni insolubili, come verso proteine di superfici cellulari, rimangono fissati alle membrane. Se si tratta di globuli rossi, gli anticorpi esposti su cellule diverse si legano l'un l'altro provocando l'*agglutinazione* delle emazie. Se il complesso antigene-anticorpo attiva il complemento avremo la lisi cellulare (emolisi) soprattutto per mezzo delle IgG ed IgM.

3.4. Complesso maggiore di istocompatibilità

Non tutti i microrganismi si sviluppano e crescono nello spazio extracellulare, dove sono accessibili agli Ac. Tutti i virus ed alcuni batteri o parassiti entrano nelle cellule dove si moltiplicano al sicuro da eventuali attacchi anticorpali. Per liberare l'organismo da questi invasori esiste una diversa modalità di riconoscimento, chiama *risposta immunitaria cellulo-mediata*, di cui sono responsabili i linfociti T.

Un virus, ad esempio, è composto da un genoma avvolto in un involucro proteico. Quest'ultimo viene perduto quando entra nella cellula ed i geni virali si impossessano

dei meccanismi biosintetici cellulari necessari per la formazione di nuove particelle virali. In questo modo il virus spesso uccide la cellula (effetto citotossico), causando malattia.

Le cellule T-citotossiche sono in grado di riconoscere le cellule infettate da un virus specifico e le uccidono prima che il virus completi il suo ciclo replicativo e produca nuove particelle virali.

Alcuni batteri, come ad esempio il *Mycobacterium tuberculosis*, crescono solo dentro le vescicole dei macrofagi, dove sopravvivono poiché inibiscono la fusione con i lisosomi e quindi il meccanismo digestivo. Se i macrofagi sono attivati dai linfociti T-infiammatori diventano capaci di fondere i lisosomi col fagosoma e di digerire i batteri. Le cellule infettate mostrano sulla loro superficie gli Ag derivanti dal microorganismo infettante e sono questi antigeni estranei che vengono riconosciuti dalle cellule T che poi direttamente o indirettamente distruggeranno l'ospite.

Però l'Ag non viene riconosciuto dai linfociti T nella sua forma intatta, come invece avviene per le cellule B, ma piuttosto come frammento proteico derivante da proteine estranee e legato a speciali molecole di superficie. Questa "presentazione" avviene nell'ambito di una struttura proteica di membrana codificata da un gruppo di geni detto *complesso maggiore di istocompatibilità* o MHC (nell'uomo detto anche HLA, ovvero antigene leucocitario umano) che viene espresso sulla superficie cellulare.

Esistono due tipi di MHC, di classe 1 e di classe 2, che differiscono sia per la struttura sia per le funzioni che regolano. La sintesi intracellulare delle molecole MHC avviene nel reticolo endoplasmatico e prevede (a) l'inserimento del frammento peptidico all'interno di una struttura o "tasca" situata sulla porzione o "dominio" extracellulare delle molecole MHC; e (b) il trasporto della molecola MHC-Ag a livello della superficie cellulare. Qui i peptidi vengono esposti come complesso peptide-molecola MHC. Saranno i linfociti T, tramite il TCR, in grado di riconoscere i frammenti antigenici legati alle molecole MHC. Se MHC presenta peptidi da proteine derivanti dal normale metabolismo cellulare, non esisteranno nell'organismo linfociti in grado di legarsi, perché distrutti negli organi linfoidei primari durante la loro maturazione (delezione clonale).

Con questo meccanismo i linfociti sono capaci di identificare le cellule contenenti patogeni ed i loro prodotti e distinguerle da quelle non infettate.

Le cellule T devono essere anche in grado di rispondere in modo appropriato dopo l'identificazione dei peptidi estranei legati alle molecole MHC. Ad esempio, le cellule infettate da virus devono essere uccise, mentre i macrofagi, che ospitano batteri con parassitismo intracellulare, e le cellule B, che devono produrre Ig, devono essere attivati.

Queste diverse funzioni devono perciò essere mediate da classi diverse di linfociti T, da un lato i T-citotossici, dall'altro i T-helper, che riconosceranno l'Ag mostrato da una e solo una delle due classi di MHC. Esiste infatti un tipo di linfocita che riconosce ed uccide le cellule infettate attraverso il riconoscimento dell'Ag legato a molecole MHC di Classe 1 (T-citotossici), ed un tipo di linfociti che attivano i macrofagi e le cellule B, che riconosce l'Ag legato all'MHC di Classe 2 (T-helper). Questo è possibile perché i linfociti T portano gruppi proteici di riconoscimento diversi: i T-helper hanno il CD4, mentre i T-citotossici il CD8. Quindi le molecole CD4 e CD8, presenti sulla superficie esterna della membrana

dei linfociti, svolgono un ruolo essenziale nel riconoscimento di queste classi di MHC. Le molecole CD8 legano MHC di Classe 1 insieme al recettore delle cellule T-citotossiche, mentre le molecole CD4 legano le molecole MHC di Classe 2 assieme al recettore dei linfociti T-helper. Questo legame aumenta l'intensità del segnale e per questa ragione sono chiamati *co-recettori*. Nel sangue normale le cellule positive al CD4 sono la maggioranza ed il rapporto CD4/CD8 è circa 2:1

Le molecole MHC Classe 1 legano peptidi derivanti da patogeni che si replicano all'interno della cellula (ad esempio virus), che possono essere quindi distrutti solo attraverso l'uccisione della cellula stessa. Le molecole MHC di classe 1 sono presenti su tutte le cellule nucleate dell'organismo. Tramite il legame con il CD8, mediano l'attacco da parte dei T-citotossici.

Le molecole MHC di Classe 2 sono presenti sulle cellule immunitarie ed APC, e legano peptidi derivanti da proteine degradate dalle vescicole intracellulari. Esse reagiscono con i CD4 mediando l'attacco dei macrofagi, o di altre cellule APC ai T-helper. Per esempio, se un T-helper incontra un linfocita B che presenta sulle sue molecole MHC di classe 2 il peptidi per cui ha il TCR specifico, vi si lega. Questo legame porta alla attivazione del linfocita B, che mette in moto tutti i meccanismi necessari alla sua replicazione, alla clonazione cioè di una popolazione di cellule figlie tutte uguali. Queste saranno in grado di differenziarsi (i) in plasmacellule e produrre anticorpi per quel determinato antigene i cui peptidi hanno innescato la suddetta risposta, (ii) in cellule della memoria.

Simultaneamente sia le cellule APC che i linfociti T producono *linfocine* quali le interleuchine (da IL-1 a IL-12), l'interferone (alfa, beta e gamma), il TNF, e vari fattori di stimolazione clonale (CSF). Questi fattori solubili regolano e promuovono l'interazione delle cellule del sistema immunitario tra loro.

3.5. Immunopatologia

Alcune risposte immunitarie acquisite sono provocate da Ag non legati ad agenti infettivi, cioè da sostanze "innocue" all'organismo. Questa risposta può essere causa di gravi malattie.

La risposta impropria verso sostanze estranee innocue si chiama allergia o *ipersensibilità*. La risposta contro Ag tissutali propri si chiama *autoimmunità*.

3.5.1. Reazioni di ipersensibilità

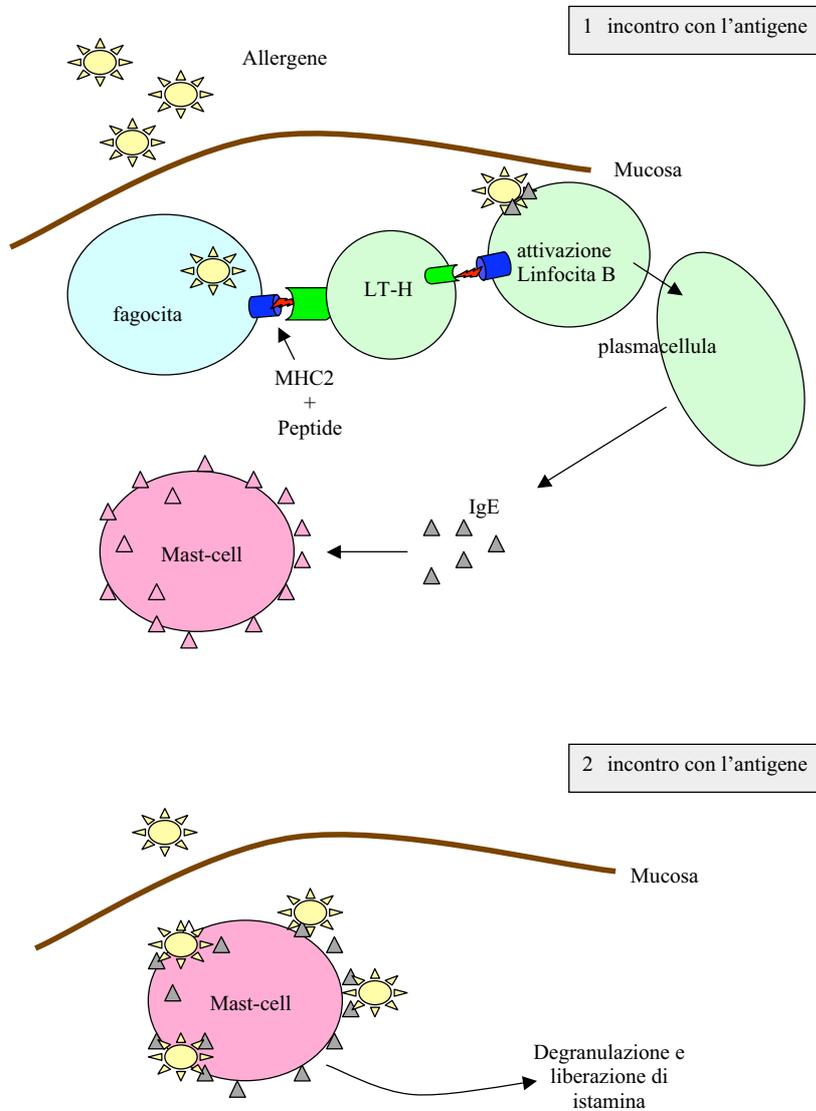
Le reazioni patologiche di ipersensibilità sono classificate in quattro gruppi, ciascuno dei quali è mediato da meccanismi distinti:

- TIPO 1 – Anafilassi;
- TIPO 2 – Reazione citotossica mediata da anticorpi;
- TIPO 3 – Reazione mediata da immunocomplessi;
- TIPO 4 – Reazione ritardata mediata da cellule.

Il **Tipo-I** è detta anche Reazione di Ipersensibilità Immediata perché insorge rapidamente. È una reazione mediata dalle IgE e dai mastociti o basofili. Le IgE sono prodotte dalle plasmacellule che derivano da un linfocita B sensibilizzato verso un certo antigene, ad esempio il polline, che viene chiamato per questo *allergene*. Sensibilizzato vuol dire attivato in precedenza e la reazione allergica si esplica quando l'individuo viene nuovamente in contatto con l'allergene. Al suo primo incontro con l'antigene, che avviene a livello delle mucose, le cellule del sistema immunitario, i linfociti B, producono degli anticorpi, in questo caso delle IgE. Esse diffondono localmente fino alle mast-cellule e si fissano al recettore per l'Fc presente sulla superficie cellulare. Ad una seconda esposizione si avrà la formazione del complesso antigene-anticorpo direttamente sulla superficie delle mast-cellule. Questo legame da origine ad una perturbazione molecolare che genera in ultimo il rilascio di sostanze vasoattive immagazzinate nei granuli dei mastociti. La più importante tra queste sostanze è l'*istamina*. Il rilascio è istantaneo, accompagnato da aumento della permeabilità, edema e richiamo di cellule infiammatorie, soprattutto eosinofili.

Sembra probabile che la penetrazione di piccole dosi di allergene attraverso le mucose, con basso peso molecolare, elevata solubilità e stabilità (particelle essiccate), sia particolarmente efficiente nell'indurre la produzione di IgE. Si avrebbe l'attivazione dei linfociti T-helper CD4 in particolar modo del sottotipo TH-2. Le cellule T-helper si dividono in due sottotipi: TH-1 e TH-2. Il TH-1 ha la funzione di potenziare le difese mediate da fagociti nei confronti di infezioni, in particolare di patogeni intracellulari, e vengono chiamati anche *T-helper Infiammatori*. Il sottotipo TH-2 hanno la funzione di favorire le risposte mediate da IgE e di eosinofili e mastociti, vengono detti per questo *T-helper Immunitari*. I due sottotipo agiscono in modo diverso in quanto producono interleuchine diverse che danno loro capacità di agire su cellule diverse del sistema immunitario e quindi di modulare processi diversi. Per esempio, il sottotipo TH-2 produce IL-4 ed IL-5 che stimolano la produzione di anticorpi, mentre il sottotipo TH-1, sintetizza e secerne IL-2 e IFN- γ che facilitano la produzione di opsonine e l'attivazione macrofagica. In questo caso porterebbe ad inibizione della risposta in quanto produttori di IFN- γ . È da notare che in individui non predisposti alle risposte allergiche l'incontro con l'antigene porta nella risposta primaria alla produzione di IgM, e nella risposta secondaria alla produzione di IgG. Lo *scambio di classe* verso le IgE, regolato dalla produzione di particolari citochine ed alla attivazione di TH-2 può spiegare in parte la risposta di ipersensibilità.

La più frequente via di penetrazione degli allergeni è quella *inalatoria* attraverso la mucosa delle cavità nasali. Essa provoca rinite e rinorrea dovuta alla attivazione dei mastociti e delle cellule granulose basofile della sottomucosa. Tutti i sintomi possono essere attribuiti all'istamina e possono essere alleviati con antistaminici o con farmaci che stabilizzano le mast-cellule e ne prevengono la degranolazione. Si può fare un trattamento di desensibilizzazione, basato su iniezioni dell'antigene che portano alla produzione di IgG. Queste IgG, legandosi con l'antigene, non lo renderebbero più disponibile per le IgE. Le reazioni di ipersensibilità di Tipo 1 possono produrre anche una *risposta ritardata* mediata da derivati dell'acido arachidonico, i leucotrieni. Assai più grave è l'asma allergica causata da ipersensibilità ad antigeni inalati e mediata da SRS-As (slow-reacting substances of anaphylaxis,



SCHEMA 3.2. Reazione di ipersensibilità di tipo I.

Al primo incontro l'antigene che diffonde sulla mucose respiratoria, viene fagocitato da un macrofago che lo elabora e ne presenta un peptide legato al complesso MHC di classe 2. Un linfociti T-helper lo riconosce, vi si lega e ne viene attivato. Contemporaneamente l'Ag si lega al recettore specifico BCR sul linfocita B che lo internalizza, lo elabora e ne presenta un peptide al linfocita T-helper già attivato. Da questo legame, linfocita B/linfocita T-helper, si ha l'attivazione del linfocita B che dà origine ad un clone di cellule in grado di reagire con quell'antigene: una parte costituirà le cellule della memoria, una parte diventeranno plasmacellule e produrranno IgE che riconosceranno quell'Ag. Le IgE si legano ai recettori per il loro frammento Fc presenti sulla superficie delle mast-cellule. Al secondo incontro, l'antigene si legherà alle IgE che troverà legate sulle mast-cellule. Le mast cellule, a seguito di questo legame, degranuleranno liberando istamina.

soprattutto leucotrieni), con broncocostrizione ed aumento della produzione di muco e di liquido, con conseguente difficoltà nella respirazione per permanenza dell'aria nei polmoni. Le reazioni di fase tardiva sono curate con i corticosteroidi. Se l'allergene è *ingerito* si possono avere due tipi di risposta allergica. L'attivazione delle cellule basofile della mucosa dell'apparato gastrointestinale può provocare perdita di liquido attraverso l'epitelio, contrazione della muscolatura liscia con conseguente vomito e diarrea. Se vengono attivate le cellule basofile del connettivo degli strati più profondi della cute, si ha orticaria, con edemi rossiggianti di grandi dimensioni. Se l'esposizione all'allergene avviene *per diretto contatto con la cute* si ha una dermatite atopica. Se l'allergene è somministrato *per via sistemica* possono essere attivate le cellule del tessuto connettivo associate con tutti i vasi ematici provocando una sindrome molto pericolosa detta anafilassi sistemica. Si ha vasodilatazione generalizzata con essudato, che porta ad un drammatico calo della pressione sanguigna, costrizione delle vie aeree ed edema dell'epiglottide (*shock anafilattico*). Lo shock si può avere a seguito della puntura di un'ape in persone sensibilizzate, o di iniezione di anestetico o di mezzo di contrasto radiografico. Il trattamento prevede la somministrazione di adrenalina che porta alla contrazione delle arteriole precapillari e stimola l'azione del cuore, ripristinando la pressione sanguigna. Un esempio di reazione allergica provocata da farmaci è dato dalla penicillina. Essa funziona come aptene, reagisce con i gruppi amminici delle proteine alterandole in grado sufficiente ad indurre reazione immunitaria. Un modo semplice per vedere se una persona è allergica alla penicillina è la sua somministrazione locale di piccole quantità; in un allergico ciò provoca un ponfo ed eritema circostante.

Le reazioni allergiche sono curate con farmaci antistaminici che però influenzano solo la reazione della fase iniziale. La reazione di fase tardiva, dominata da infiltrato di cellule richiamate da mediatori chimici e citochine liberate dalle cellule granulose basofile (6-12 ore dopo), è inibita dai corticosteroidi. Le alterazioni che si verificano nelle reazioni allergiche mediate da IgE, sono transitorie e si risolvono quando l'allergene è rimosso. Tuttavia se queste risposte si ripetono più volte, ne può risultare una infiammazione cronica. Nell'asma si genera una alterazione che rende sensibili le vie aeree anche a stimoli aspecifici quali le variazioni di temperatura o contaminanti atmosferici.

Il **TIPO-II** è mediato da anticorpi che reagiscono con un antigene fissato sulle cellule o su altri componenti tissutali, tipo la membrana basale. L'antigene può essere estrinseco o intrinseco. Un esempio sono le malattie autoimmuni. Un *antigene intrinseco* include macromolecole, come proteine, DNA, RNA. Gli *antigeni estrinseci* includono farmaci (chinidina, penicillina, cefalosporine, diazepam, sulfonamidi, ecc.), prodotti batterici o sostanze chimiche semplici come apteni. Queste sostanze si legano a proteine plasmatiche solubili o legate a cellule, per esempio sui globuli rossi. La reazione di ipersensibilità si ha ad una successiva esposizione all'antigene. Questa risposta è mediata da IgG ed IgM che formano complessi con gli antigeni legati alle membrane cellulari o alla membrana basale. Questi complessi sono capaci di attivare il complemento, che porta alla distruzione del globulo rosso o innesca una reazione infiammatoria acuta che porta a grave danno tissutale. L'anticorpo può riconoscere anche certi recettori cellulari. Il legame dell'anticorpo con il recettore stimola od inibisce la funzione cellulare.

Esempi di reazione di ipersensibilità di tipo II sono l'anemia emolitica, la sindrome di Goodpasture, la malattia di Graves e la miastenia grave. L'*anemia emolitica* è il prototipo della reazione citotossica mediata da anticorpi e si può avere in varie forme. Un esempio è la reazione emolitica acuta post-trasfusionale, nel caso di trasfusione di sangue non compatibile dove gli Ag sono i marcatori del sistema ABO. Altro esempio sono le malattie autoimmuni come il lupus erythematosus (LES), dove strutture cellulari vengono riconosciute come estranee; in alcune circostanze, sostanze chimiche, come certi farmaci si legano alla superficie dei globuli rossi facendo da apteni per cui gli anticorpi contro questi apteni causano emolisi dei globuli rossi. Nella *sindrome di Goodpasture* si sviluppa autoimmunità verso i componenti del collagene di tipo IV. Un epitopo che è normalmente nascosto, diventa esposto inappropriatamente a livello dei glomeruli renali o dei vasi polmonari, causando un attacco alla membrana basale da parte degli autoanticorpi. Nella *malattia di Graves* o *tireotossicosi* si formano autoanticorpi contro il recettore per l'ormone che stimola la tiroide (TSH) che è presente sulla superficie delle cellule follicolari. Si ha così una stimolazione continua del recettore con conseguente iperproduzione di ormone tiroideo; è una delle cause di ipertiroidismo. Nella *Miastenia grave* la malattia autoimmune è mediata da anticorpi contro il recettore per l'acetilcolina, presente sulla superficie delle cellule muscolari striate. L'acetilcolina è un neurotrasmettitore rilasciato dalle terminazioni nervose a livello della placca neuromuscolare che media la trasmissione del segnale per la contrazione muscolare; il suo blocco tramite l'anticorpo inibisce il legame con il neurotrasmettitore causando la progressiva inattività muscolare fino alla paralisi.

Il **TIPO-III** è mediato da complessi Ag-Ac. Le alterazioni sono provocate dal deposito di aggregati Ag-Ac detti *Immunocomplessi*. Gli immunocomplessi si formano in tutte le risposte anticorpali e la loro potenziale patogenicità è determinata in parte dalle loro dimensioni. Gli aggregati più grandi fissano il complemento (C3b) in soluzione e sono rimossi dai fagociti degli organi emocateretici quali la milza, il fegato ed il polmone, o vengono trasportati ad essi dai globuli rossi, alla cui parete rimangono "appiccicati"; i complessi di piccole dimensioni rimangono in soluzione, mentre quelli di medie dimensioni tendono a depositarsi nelle pareti dei vasi nel tentativo di filtrare verso il tessuto, insieme alle proteine plasmatiche. Nelle reazioni sistemiche contro antigeni solubili, gli immunocomplessi rimangono circolanti, mentre nelle reazioni localizzate, gli immunocomplessi si formano nei tessuti.

Se l'Ag è iniettato nella cute, gli Ac (IgG) diffusi localmente, si legano all'Ag formando immunocomplessi che provocano danno ai tessuti. Tramite l'attivazione del complemento innescano infatti una reazione infiammatoria locale con aumento di permeabilità vascolare, edema, essudato granulocitario (*Reazione di ARTHUS*). Se invece vengono inoculate grandi quantità di Ag per via sistemica, per esempio con il siero antitetanico o il siero antivipera, si instaura la *malattia da siero*. Il quadro clinico è dato da febbre, dolori delle articolazioni e proteinuria. La malattia da siero è il prototipo delle reazioni di ipersensibilità di terzo tipo. Dopo pochi giorni dalla inoculazione delle proteine del siero eterologo, appaiono in circolo anticorpi specifici che si complessano con la proteina eterologa. Inizialmente questi complessi sono piccoli, sparsi, molto solubili e difficilmente fagocitabili. Essi rimangono

quindi in circolo e vengono filtrati attraverso la membrana basale dei glomeruli o di altri tessuti dove il sangue viene ultrafiltrato per produrre i fluidi corporei come la camera anteriore dell'occhio, il plesso coroideo del cervello, la superficie delle sierose che ricoprono la cavità pleurica, del pericardio e del peritoneo. Gli immunocomplessi intrappolati in queste membrane semipermeabili, attivano il complemento, da cui si formano frammenti chemiotattici per i granulociti causando infiammazione acuta. Nella malattia da siero tale reazione è di breve durata, mentre in alcune malattie autoimmunitarie, come l'artrite reumatoide o il LES, per la persistenza dell'Ag, il deposito di immunocomplessi è costante e provoca un grave stato di malattia cronica.

Il **TIPO-IV** è conosciuta come ipersensibilità mediata da cellule o di tipo ritardato, poiché impiega 24-48 ore per raggiungere l'effetto massimo. Essa coinvolge i linfociti T ed in particolar modo i TH-1 ed i macrofagi che si aggregano nel luogo del danno a formare il granuloma. I macrofagi o le cellule ad essi equivalenti (APC come le cellule di Langerhans dell'epidermide), fagocitano l'antigene, lo processano e lo presentano ai linfociti T-Helper, attivandoli, anche mediante citochine. Questo porta da un lato alla formazione di un clone di cellule tutte specifiche per quell'antigene, di cui una parte diventeranno cellule della memoria immunitaria, e dall'altra alla produzione di cellule effettrici vere e proprie. Le cellule effettrici penseranno all'attivazione di altre cellule quali i macrofagi ed i linfociti citotossici e soppressori, che presentano sulle molecole MHC l'epitopo riconosciuto dal linfocita TH in questione. Sotto l'influenza delle citochine, tra cui l'interleuchina 2 (IL-2) e l'interferone-gamma (IF- γ), i macrofagi si trasformano in cellule epitelioidi e producono molti mediatori dell'infiammazione promuovendo la formazione del granuloma. IF- γ è considerato la più importante citochina responsabile della formazione del granuloma, agisce sulle cellule epitelioidi aumentando le loro capacità. Esso inoltre promuove la fusione dei macrofagi a dare cellule giganti (cellule di Langhans). La reazione di ipersensibilità di TIPO IV si ha in risposta ad antigeni quali il *Mycobacterium tuberculosis* o *Mycobacterium leprae* e vari funghi, o in malattie ad eziologia sconosciuta come la *sarcoidosi* (vedi Figure 1.2 e 2.8). La *dermatite da contatto*, una tra le forme cliniche più frequenti di ipersensibilità di tipo IV, non presenta formazione di granulomi. In questa malattia, che può essere causata da vari allergeni (guanti di gomma, anelli, veleno dell'edera), la cute presenta infiltrati linfocitari e macrofagici perivascolari, con alterata permeabilità vascolare e formazione di edema.

3.5.2. Malattie autoimmuni

La risposta immunitaria si basa sulla capacità delle cellule del sistema immunitario di discernere tra il SELF ed il NOT-SELF. L'organismo è *tollerante* verso gli antigeni espressi sulle proprie cellule; numerosi meccanismi di controllo si sono sviluppati per eliminare la risposta immunitaria contro gli antigeni-self. La rottura di questa tolleranza porta alle malattie autoimmuni. Si ritiene che l'autoimmunità sia iniziata da una risposta in cui intervengono le cellule T citotossiche. Non sappiamo di preciso quali eventi diano inizio alla risposta immunitaria contro il SELF, tuttavia è stato visto uno stretto legame tra insorgenza di autoimmunità ed infezione, oppure dieta o stato ormonale. Vi è però anche una significativa componente

genetica. Le associazioni familiari, cioè tra componenti della stessa famiglia, sono infatti frequenti e si dimostra spesso la connessione con un certo tipo di MHC generalmente di classe 2, ma anche di classe 1. Nel Diabete Mellito Insulino Dipendente per esempio, si ha stretta associazione con i gruppi allelici HLA-DR3, HLA-DR4, HLA-DQ β .

Ci sono varie teorie sullo sviluppo dell'autoimmunità, tra queste ne ricordiamo tre:

1. *Teoria della delezione clonale.* L'autoimmunità si sviluppa se cloni di linfociti T o B non sono stati eliminati durante il periodo fetale o neonatale.
2. *Teoria dell'antigene esogeno.* L'autoimmunità si sviluppa in quanto l'anticorpo da esso prodotto reagisce contro un determinante simile ad un antigene esogeno, ma costitutivo dell'organismo.
3. *Teoria degli antigeni nascosti.* È possibile che alcuni antigeni normalmente non antigenici perché nascosti al sistema immunitario, diventino immunogenici o perché non più nascosti, o perché legati ad apteni estranei.

La diagnosi di malattia autoimmunitaria viene fatta quando è documentata la presenza di autoanticorpi in grado di provocare una lesione patologica ed è presente una diretta o indiretta evidenza che tale disturbo sia di natura immunitaria.

Le malattie autoimmuni si possono presentare in due forme: una forma sistemica, come nel *Lupus erythematosus systemicus* o nell'artrite reumatoide, ed una forma limitata ad un singolo organo, per esempio la tiroidite di Hashimoto.

Il *Lupus erythematosus systemicus* (LES) è il prototipo di una malattia autoimmune multisistemica. Ha una frequenza di 1:2500 ed è più comune nelle donne che negli uomini. Si presenta ad ogni età con una predominanza familiare. Vi è il 30% di concordanza tra gemelli, dimostrando l'importanza anche di fattori non genetici. La causa è ignota. Si è ipotizzato che lo stimolo alla produzione di Ac sia rappresentato da farmaci o sostanze chimiche sensibilizzanti o da infezioni virali e che la produzione di anticorpi sia solo una risposta secondaria che a lungo andare diventa dannosa. Tale sensibilizzazione avverrebbe di preferenza in persone geneticamente predisposte: è stata evidenziata un'alta relazione con i genotipi HLA-DR2, HLA-DR3.

È una malattia cronica infiammatoria, che interessa quasi tutti gli organi, ma in maniera caratteristica colpisce i reni, le articolazioni, le membrane sierose, la cute. In questa malattia si formano autoanticorpi contro una serie di autoantigeni, quali proteine plasmatiche (componenti del complemento, fattori della coagulazione), antigeni presenti sulla superficie cellulare di linfociti, neutrofilo, piastrine, globuli rossi, componenti intracellulari, quali microfilamenti, microtubuli, lisosomi, ribosomi, RNA, DNA. Sono interessati molti organi e le modalità di manifestarsi della malattia sono svariate. La cute è uno dei tessuti più interessati con eruzioni cutanee e reazioni di fotosensibilità, ma anche il tessuto connettivo con vasculiti linfocitarie, lesioni alle mucose con erosioni superficiali ed ulcere. Si hanno inoltre manifestazioni neurologiche e psichiatriche nonché interessamento renale che può portare anche a grave insufficienza. I sintomi muscolo-scheletrici possono essere i segni più precoci della malattia: dolori articolari, artriti, mialgie.

Si è notata una iperreattività delle cellule B (attivazione policlonale) indipendente dalle

cellule T; sono state descritte anche anomalie delle cellule T, in particolare la diminuzione dei livelli dei T Soppressori.

Gli anticorpi di pazienti affetti da LES reagiscono con gli antigeni nei tessuti, ma anche con quelli rilasciati da cellule danneggiate, per esempio dalla esposizione alla luce solare, che liberano il loro contenuto nucleare. Se gli antigeni raggiungono il circolo si complessano con gli anticorpi presenti nel siero, provocando la malattia da immunocomplessi, depositandosi a livello di membrane semipermeabili, come la membrana basale dei glomeruli, la membrana sinoviale delle articolazioni, la sierosa della pleura, del pericardio, del peritoneo, l'endocardio delle valvole cardiache, il plesso coroideo nel ventricolo cerebrale, la camera anteriore dell'occhio. In tutti questi casi il plasma filtra attraverso una membrana in una cavità corporea e penetra per diffusione nel tessuto. Gli immuno-complessi si depositano, oppure si formano in loco, attivano il complemento sviluppando una reazione infiammatoria (glomerulonefrite, dermatite, artrite). Queste infiammazioni sono dolorose e provocano danni anche gravi (ematuria, proteinuria, anemia).

3.5.3. Malattie da immunodeficienza

Le malattie da immunodeficienza possono essere *congenite* (primarie) o *secondarie*, a seguito di infezioni, malnutrizione, malattie metaboliche o autoimmuni, cancro o trattamenti farmacologici; e sono le più frequenti. La immunodeficienza si può riferire sia a cellule B che a cellule T o può interessare l'intero sistema immunitario. Tutte le immunodeficienze sono caratterizzate da linfopenia e, se si tratta di immunodeficienza di linfociti B, può essere associata a bassi livelli serici di immunoglobuline. Tutte le immunodeficienze causano una ridotta resistenza alle infezioni.

Le *Immunodeficienze primarie* sono un gruppo eterogeneo di disordini congeniti che colpiscono la differenziazione e la maturazione di linfociti T o B. Il blocco può avvenire ad ogni tappa maturativa. Queste malattie possono essere corrette dalla ingegneria genetica o tramite trapianto di midollo di cellule già mature.

Le *Immunodeficienze secondarie* possono svilupparsi in seguito a molti stati patologici quali infezioni virali, batteriche o micotiche, malnutrizione, malattie autoimmuni come il LES e l'artrite reumatoide, sarcoidosi, tumori del tessuto linfoide, trattamento con agenti immunosoppressivi quali radiazioni, steroidi, chemioterapia, ciclosporina A.

La *Sindrome da Immunodeficienza Acquisita* (AIDS) è una sindrome, cioè un insieme di sintomi, che si sviluppano a seguito di una severa immunodepressione causata da un gruppo di virus detti della immunodeficienza umana (HIV). Essa si accompagna all'insorgenza di infezioni opportunistiche e tumori, grave deperimento organico e manifestazioni degenerative del sistema nervoso centrale.

L'AIDS ha una distribuzione in tutto il mondo ed è stato calcolato che attualmente circa 20 milioni di persone sono infettate da HIV (Human Immunodeficiency Virus).

HIV è un retrovirus a RNA che non può sopravvivere al di fuori delle cellule umane. Appartiene alla famiglia dei *lentivirus* capaci di rimanere latenti nella cellula per molto tempo, ma risvegliati poi dalla attivazione della cellula ospite a seguito dell'incontro con un altro antige-

ne, sia per quanto riguarda i linfociti T-helper sia i macrofagi. Gli uomini sono le sole fonti di infezione. Il virus viene trasmesso da una persona ad un'altra per contatto diretto che facilita lo scambio di fluidi. I modi più comuni di trasmissione sono (i) le trasfusioni di sangue o i contatti che portano al trasferimento di sangue da una persona ad un'altra (scambio di siringhe), (ii) le secrezioni sessuali e lo sperma contengono il virus, il quale è in grado anche di passare la barriera placentare ed essere trasmesso (iii) dalla madre al feto, o tramite l'allattamento. Non c'è evidenza scientifica che il virus possa essere trasmesso per contatto casuale, ma piccole ferite o punture con aghi infetti possono costituire un rischio per il personale infermieristico.

Le infezioni da HIV possono essere spiegate da due fattori: l'affinità selettiva per certe cellule e gli effetti sul sistema immunitario. Nel sangue il virus HIV ha affinità per i linfociti T-helper (CD4+) ed i monociti, o altri fagociti professionali come le cellule dendritiche follicolari dei linfonodi e la microglia del sistema nervoso, tutte cellule CD4+. Tutte queste cellule possono costituire una riserva di virus. D'altro canto tutte queste cellule sono essenziali per il sistema immunitario e poiché HIV è citotossico e porta a deplezione di linfociti TH e di altre cellule infettate, l'organismo diventerà sempre più indifeso.

L'infezione iniziale porta alla produzione di Ig da parte di cellule B, che possono essere dosate in circolo dopo alcune settimane dall'infezione. Questi anticorpi sono importanti per la diagnosi di infezione da HIV. Però la sola sieropositività non significa che la persona sia malata di AIDS, ovvero presenti i sintomi della malattia. La maggior parte delle persone affette entra in una fase di latenza asintomatica che può durare anche molto tempo. Inizialmente la diffusione del virus viene contenuta, ma dopo anni, le difese immunitarie perdono il controllo a seguito anche di varianti antigeniche delle proteine virali. Man mano che il virus si replica e distrugge sempre più linfociti T, i sintomi della malattia diventano manifesti. Viene depressa la risposta immunitaria cellulo-mediata e la risposta umorale e l'organismo non è più in grado di difendersi dalle infezioni, anche le più banali. La morte avviene per il sopravvento di malattie infettive, meno spesso per tumore. I tumori possono essere di ogni tipo, più comunemente linfomi o un tumore peculiare dei vasi sanguigni detto sarcoma di Kaposi. È possibile inoltre che il virus HIV possa agire da oncogene (vedi Cap. 7), da cui l'alta probabilità di sviluppare solamente certi tipi di tumori.

Da un punto di vista clinico le persone infettate con HIV appartengono ad uno dei seguenti gruppi:

1. *Fase acuta.* Si presenta in circa il 50% delle persone infettate, da due a tre settimane dopo l'infezione. I sintomi sono aspecifici e possono includere febbre, sudorazione notturna, nausea, dolori muscolari, mal di testa, mal di gola, eritemi cutanei, leggero ingrossamento linfonodale. I sintomi perdurano per 2 o 3 settimane e poi scompaiono spontaneamente. In questo periodo alcuni pazienti sviluppano anticorpi.
2. *Infezione asintomatica.* Ha una durata variabile da pochi mesi a pochi anni. Il paziente non ha sintomi, ma porta il virus ed è infetto. Circa il 50% dei pazienti sviluppa la malattia entro 10 anni dalla diagnosi iniziale.
3. *Linfoadenopatia persistente ed asintomatica.* Ingrossamento delle ghiandole linfatiche.
4. *Presenza di malattie opportunistiche.* Queste consistono in infezioni, disordini gastroenterici, alterazione del sistema nervoso centrale e tumori.

La diagnosi di malattia si basa sui segni clinici e sui dati di laboratorio quali il dosaggio degli anticorpi e la conta dei linfociti. Gli anticorpi compaiono da 2 a 10 settimane dopo l'infezione. La presenza del virus nell'organismo può essere confermata da test addizionali che servono per escludere risultati falsi-positivi. La conta delle cellule serve a determinare il rapporto tra linfociti T-helper verso i T-soppressori e T-citotossici. Normalmente questo è maggiore di 2 e riflette un numero assoluto di linfociti T CD4+ maggiore di 500 per μl . Con il progredire della malattia la conta dei linfociti T-helper diminuisce; quando il numero dei CD4+ diventa inferiore a 200 per μl si presenta la fase di crisi. Nell'ultima fase della malattia nessuna cellula CD4+ è presente in circolo.

3.5.4. Il trapianto d'organo

I tessuti possono essere trapiantati con successo da un individuo ad un altro, ma l'innesco sarà vitale solamente se il donatore ed il ricevente risultano immunologicamente simili. Altrimenti il trapianto avrà successo solo se il sistema immunitario del ricevente è incapace di una risposta immunitaria, come nel caso di immunodeficienze congenite, per esempio nei bambini nati senza il timo, o se il sistema immunitario del ricevente viene parzialmente inattivato da farmaci immunosoppressori. Se il paziente fa da donatore e da ricevente, si parla di *autotrapianto*: si può avere per cute, capelli, vasi sanguigni. Se il trapianto si effettua in individui immunologicamente singenici, cioè gemelli, si parla di *isotrapianto*; trapianto tra individui della stessa specie è detto *omotrapianto* o *allogotrapianto*. Nella pratica clinica i tessuti omotrapiantati sono accettati se il donatore ed il ricevente hanno in comune molti loci del sistema maggiore di istocompatibilità (MHC = HLA nell'uomo) ed hanno lo stesso gruppo sanguigno. Se il trapianto avviene in individui di specie diverse si parla di *xenotrapianto*.

Rigetto del trapianto

Le cause per cui un trapianto viene rigettato non sono ancora del tutto chiare. Infatti, abbiamo rigetto se donatore e ricevente differiscono nell'MHC, e quindi la risposta immunitaria è diretta contro le molecole *MHC-NOT SELF*. Alcuni esperimenti hanno però messo in evidenza che il TCR per l'Ag riconosce il complesso *peptide-MHC* solo se *SELF*. Perciò una determinata cellula T specifica per il peptide X e per un certo allele di MHC per esempio MHC(a), non riconoscerà il complesso formato da X-MHC(b), né il complesso Y-MHC(a), ma solo X-MHC(a). Si parla di *Restrizione MHC*. Una ipotesi è che una cellula T che è specifica per un determinato complesso Peptide-MHC possa formare un legame crociato con un peptide presentato da un'altra molecola MHC allogenica. Il fenomeno può avvenire in due modi:

- (a) il peptide può combaciare così bene col sito di legame del recettore TCR da permettere il legame anche se non vi è buona compatibilità MHC;
- (b) la molecola MHC allogenica può legare il TCR meglio di quella autologa indipendentemente dalla presenza del peptide ovvero viene riconosciuta come MHC eterologo+peptide come se fosse MHC autologo.

Dall'1 al 10% delle cellule T di un individuo risponde alla stimolazione allogenica indotta da cellule di un altro individuo. Tutti gli omotrapianti evocano una risposta immunitaria mediata da anticorpi e una reazione ritardata mediata da cellule.

La tipizzazione HLA non è mai precisa anche a causa del grande polimorfismo e complessità dell'HLA umano, e spesso il rigetto è dovuto ad antigeni (H) minori di istocompatibilità. Perciò tutti coloro che ricevono un trapianto devono prendere farmaci immunosoppressori a meno che donatore e ricevente non siano gemelli identici.

Si parla di *Reazione Iperacuta* quando il donatore ha anticorpi preformati verso antigeni del donatore ed è una reazione che si ha subito, durante l'operazione, quando il chirurgo connette i vasi del ricevente con quelli dell'organo da trapiantare. Gli anticorpi reagiscono con le cellule endoteliali del tessuto trapiantato portando a trombosi (vedi Cap. 4) per cui l'organo non può essere perfuso normalmente e deve essere rimosso immediatamente.

Una *Reazione Acuta* si può presentare anche alcune settimane dopo il trapianto. È mediata sia da anticorpi sia da cellule. I vasi presentano segni di vasculiti soprattutto a carico dell'intima delle arterie di medio calibro dovute all'azione degli anticorpi, mentre la risposta mediata da cellule porta ad infiltrato di linfociti TH e TC/S e macrofagi. Sono presenti anche plasmacellule e LB.

Un *Rigetto Cronico* evolve lentamente in un periodo di alcuni mesi o anni. Sono implicate risposte sia anticorpali che cellulari. I cambiamenti vascolari portano a obliterazione delle arterie con ipoperfusione dell'organo ed ischemia cronica del tessuto. L'infiammazione interstiziale del tessuto contribuisce alla distruzione del parenchima.

Una importante complicazione dei trapianti, specialmente per il trapianto di midollo, è il rigetto del trapianto verso l'ospite (*Graft-Versus-Host-Reaction* = GVHR), dovuto al trasferimento di linfociti immunocompetenti del donatore, con l'organo trapiantato. Ciò porta ad iniziare una risposta cellulo-mediata di Tipo IV. A causa della immunosoppressione dell'ospite, le cellule immunocompetenti del donatore non vengono rigettate, ma si moltiplicano ed attaccano vari tessuti dell'ospite, tra cui le cellule epiteliali del tratto gastrointestinale, della pelle, del fegato.

Tutti i trapianti sono artefatti della moderna tecnica medica, tuttavia un tessuto che è ripetutamente trapiantato e ripetutamente tollerato è il feto dei mammiferi. Il feto possiede Ag MHC ed antigeni (H) minori di istocompatibilità paterni. Il mistero del mancato rigetto si può spiegare considerando: (i) la placenta un filtro di istocompatibilità che riesce ad isolare il feto dalle cellule T materne; (ii) la significativa diminuzione nel sangue materno dei linfociti TCD4; (iii) la presenza nel sangue fetale di alti tassi di α -fetoproteina, una forma fetale di albumina con capacità immunosoppressive naturali. Se i linfociti materni entrano nel circolo fetale, l' α -fetoproteina può impedire loro di rispondere agli Ag fetali e danneggiare il feto.

3.5.5. Le trasfusioni di sangue

La trasfusione di sangue da una persona ad un'altra è una forma di trapianto che dipende essenzialmente dalla compatibilità tra i globuli rossi del donatore ed il ricevente perché i globuli rossi sono numericamente un ordine di grandezza in più dei globuli bianchi.

Ogni globulo rosso porta un gruppo di antigeni di superficie di natura glicidica, che può essere diviso in tre classi: gli antigeni A, B, 0; e antigeni di natura proteica, gli antigeni Rh.

Gli Ag del *gruppo ABO* sono codificati da tre geni e si possono avere i seguenti genotipi: AA, BB, AB, A0, B0, 00. I geni A e B sono dominanti sul gene 0 per cui si manifestano quattro gruppi fenotipici: A, B, AB, 0. Ogni antigene del gruppo ABO stimola la formazione di un corrispettivo anticorpo. Individui che appartengono al gruppo A, producono anticorpi anti-B; individui di gruppo B producono anticorpi anti-A; individui di gruppi AB non contengono anticorpi né contro A, né contro B; il gruppo 0 contiene anticorpi sia contro A sia contro B. Perciò gli individui del gruppo AB vengono chiamati *riceventi universali*, perché possono ricevere sangue da tutti i gruppi, mentre gli individui del gruppo 0 possono ricevere sangue soltanto da individui del gruppo 0, ma possono donarlo a tutti e sono detti *donatori universali*. Se sangue di gruppo A viene trasfuso in un individuo di gruppo B, gli anticorpi naturali si legano agli antigeni di membrana, provocando opsonizzazione e fagocitosi o agglutinazione o attivazione del complemento ed emolisi dei globuli rossi. Se la trasfusione non è discontinua, si può avere uno stato di shock con formazione di microtrombi all'interno dei vasi detta coagulazione intravascolare disseminata o CID, con pericolo di vita per il paziente. In chi sopravvive si sviluppa ittero e possibilità di danno renale acuto.

Per evitare questo, il siero del donatore viene mescolato in laboratorio con i globuli rossi del ricevente e viceversa; se non c'è compatibilità avviene agglutinazione. Questa procedura può mettere in evidenza una significativa incompatibilità fra sottogruppi antigenici (gruppi minori quali Lewis, Kell, ecc.).

Il *gruppo Rh* consiste in un gruppo di Ag espressi normalmente sulla superficie dei globuli rossi umani di cui solo tre hanno forte capacità antigenica: cde/CDE e di essi solo il d/D ha un significato pratico. Le persone con l'allele d/D dominante sono dette *Rh positive*; quelle con tutti e due i d/d recessivi, sono dette *Rh negative*. Circa il 15% del gruppo caucasico ed il 5% degli afro-americani sono Rh negativi (Rh-). A differenza degli antigeni del gruppo ABO, che presentano anticorpi naturali, presenti per esempio sulla nostra flora batterica intestinale, gli antigeni del gruppo Rh non presentano anticorpi naturali e si formano solo in persone Rh- a seguito di una trasfusione con sangue di gruppo Rh+. Inoltre è importante notare che le Ig contro i gruppi ABO sono IgM (troppo grandi per passare la placenta), mentre quelle contro il fattore Rh sono IgG (capaci di passare la barriera placentare). Ciò risulta importantissimo nella *incompatibilità materno-fetale* riguardo al fattore Rh. Tale incompatibilità è una delle principali cause della malattia emolitica del neonato e di diverse sindromi quali l'ictus gravidico del neonato, l'idrope fetale e la eritoblastosi (eritroblasti immaturi nel sangue periferico) fetale. In una madre Rh- durante la prima gravidanza con feto Rh+, al momento del parto, il sangue viene a contatto con gli antigeni D dei globuli rossi

del bambino contro cui si immunizza producendo IgG. Nella seconda gravidanza con feto Rh+, tali Ac, circolando liberamente attraverso la placenta, vengono a contatto con i globuli rossi del feto provocandone l'emolisi. Molto spesso, più che l'attivazione del complemento, che porterebbe alla emolisi intravasale, producono opsonizzazione stimolando la fagocitosi negli organi emocateretici. Il feto può morire in utero con evidenti segni di *idrope*. Ovvero, la distruzione dei globuli rossi provoca anemia, con conseguente ipossia tissutale e danno cardiaco; il midollo osseo viene stimolato alla produzione di nuove cellule rosse per compensarne la grave perdita con marcata eritropoiesi extramidollare nel fegato, nella milza e nei linfonodi. Il massivo aumento della bilirubina porta al suo passaggio attraverso la barriera emato-encefalica, preferenzialmente a livello dei gangli basali: la bilirubina è tossica e causa permanenti danni neuronali. Oggi si può intervenire con la *immunoprofilassi* inoculando alla madre entro 12 ore dal parto delle Ig anti-D (Rhogamm).

3.5.6. Vaccinazione e sieroprofilassi

Si intende per vaccinazione il trattamento di un soggetto con microrganismi, uccisi o attenuati o con qualche loro costituente, in modo da stimolare i meccanismi di difesa dell'organismo, ovvero di stimolare una risposta immunitaria. Questo farà sì che in caso di infezione vera e propria, l'organismo sarà in grado di reagire in modo pronto e specifico contro l'agente patogeno. Si ha l'induzione di una *immunità attiva*.

Per *sieroterapia* o *sieroprofilassi* si intende il trattamento di un soggetto a rischio di infezione, con un siero di un altro organismo precedentemente vaccinato, che contiene pertanto le immunoglobuline specifiche per quell'agente patogeno. Si parla in questo caso di *immunità passiva*, e la protezione fornita dal siero inoculato sarà transitoria.

Il siero era generalmente ottenuto da animali, soprattutto cavalli, immunizzati con anatoxine. Nel siero di questi animali però non c'erano solo Ig specifiche per esempio contro il tetano o il veleno di vipera, ma anche tutte le altre proteine plasmatiche, soprattutto albumina. L'individuo pertanto veniva salvato dal tetano, ma si immunizzava contro le proteine del cavallo. Se c'era necessità di una seconda iniezione di siero, magari dopo anni, e magari contro il veleno di vipera, se il siero antivipera era stato fatto nel cavallo, il paziente poteva andare incontro a shock anafilattico. Questo rischio si è ridotto molto in seguito alla introduzione in terapia delle immunoglobuline umane, ed alla diffusione della profilassi con la vaccinazione.