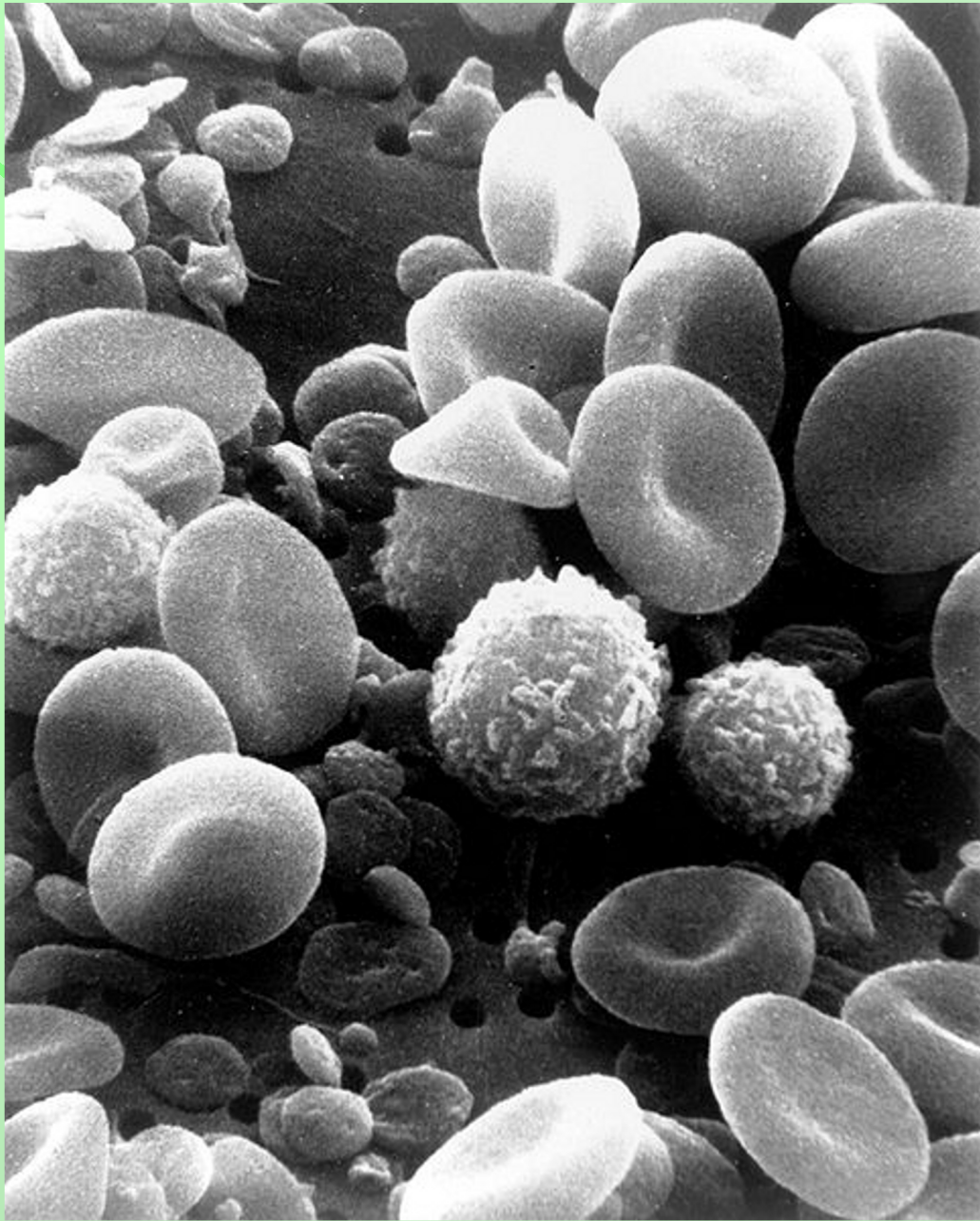


APPUNTI DI IMMUNOLOGIA

Giordano Perin

a.a. 2009/2010



INTRODUZIONE

Già storicamente l'esistenza della immunità acquisita era nota per la semplice osservazione: preso il vaiolo, per esempio, e guariti, non lo si prendeva più.

Il sistema immunitario in linea generale storicamente è associato alla difesa dell'organismo; nello studio di questo sistema si è partiti dalla manifestazione del sintomo passando quindi alla analisi del tessuto e infine alla comprensione della natura delle molecole coinvolte nel sistema immunitario; per questo motivo si tratta di una disciplina di natura recente.

IL COMPITO FUNZIONALE DEL SISTEMA IMMUNITARIO:

il sistema immunitario difende il corpo umano, gli animali inferiori presentano un sistema immunitario riscontrabile già a livello dai batteri e dei protozoi: gli animali inferiori hanno esigenze chiaramente differenti rispetto a quelle dell'organismo umano, ma permane in ogni caso la necessità di difendersi da sostanze presenti nell'ambiente quali:

- batteri
- virus
- protozoi
- funghi
- sostanze chimiche.

Con lo sviluppo dei vertebrati prima e dei mammiferi dopo, si arriva alla creazione di un SISTEMA IMMUNITARIO MOLTO PIÙ SVILUPPATO: nonostante le esigenze siano di fatto sempre le stesse, vale il principio per cui PIÙ COMPLESSO DIVIENE IL SISTEMA IMMUNITARIO, PIÙ DIVIENE DIFFICILE DA GESTIRE e più è probabile che si generino dei malfunzionamenti, per questo motivo il sistema immunitario del nostro corpo deve

- riconoscere e difenderci dal NOT SELF.
- controllare la funzionalità del sistema corpo stesso e degli organi che ne garantiscono il mantenimento.

Possiamo dire che evolutivamente diviene sempre maggiore il peso del secondo dei due compiti fondamentali: IL CONTROLLO DEL SELF MODIFICATO a partire dal cancro fino a patologie autoimmuni e molto altro. Possiamo dire fondamentalmente che il 30% delle risorse del sistema immunitario sono dirette al controllo del not self, il resto al controllo del self modificato.

LA DISTINZIONE E IL RICONOSCIMENTO DEL SELF:

il fattore essenziale per garantire la funzionalità del sistema immunitario è la CAPACITÀ DI DISTINZIONE TRA IL SELF E IL NOT SELF: il sistema immunitario deve quindi da un lato tollerare il self, dall'altro attaccare il not self tanto che si parla di TOLLERANZA IMMUNITARIA.

LA DIFESA NATURALE E LA DIFESA ADATTATIVA:

il sistema immunitario nel corso della vita dell'organismo incontra diverse volte uno stesso agente esogeno e acquisisce la capacità di riconoscerlo in tempi molto più brevi. Distinguiamo quindi due tipi di difesa:

- DIFESA NATURALE che riconosce in modo costante tutti i bersagli e agisce contro di essi nello stesso modo, questo sistema:
 - È ASPECIFICO.
 - SI ATTIVA IMMEDIATAMENTE.
 - NON SI ADATTA, agisce sempre allo stesso modo.

- **DIFESA ACQUISITA O ADATTATIVA** che presenta:
 - **SPECIFICITÀ**, si tratta di una difesa specifica per ogni bersaglio.
 - **PRESENTA MEMORIA IMMUNOLOGICA**, ricorda l'antigene precedentemente incontrato.
quindi agisce con un'arma specifica per ciascun antigene e ricorda di averlo incontrato¹.

I due sistemi presentano una **BASE MOLECOLARE DIFFERENTE**, ma tra loro possono collaborare: si paragona spesso il complesso del sistema immunitario ad una **RETE** caratterizzata da fenomeni di cross talk.

IL FUNZIONAMENTO DEL SISTEMA IMMUNITARIO:

Funzionalmente il sistema immunitario è molto simile al sistema nervoso, di distinguono:

- **FASE AFFERENTE**: abbiamo uno stimolo, riconosciuto dal sistema immunitario, che mette in moto il sistema di difesa e viene detto **ANTIGENE (Ag)**.
Gli antigeni sono quindi delle molecole capaci di attivare il sistema immunitario che elabora una risposta.
- Un sistema ricettivo che è capace di elaborare una risposta.
- **FASE EFFERENTE**: si tratta di una **RISPOSTA** che può essere:
 1. **EFFETTRICE** se l'antigene è:
 1. **NOT SELF**.
 2. **SELF MODIFICATO**.
ed ha una azione tipicamente distruttiva ed aggressiva.
 2. **TOLLERANTE** se l'antigene è di natura **SELF** e viene riconosciuto come tale.
in ogni caso entrambi gli antigeni, self e not self, vengono riconosciuti.

LA NATURA DELLA RISPOSTA EFFETTRICE:

la risposta effettrice all'antigene dipende da **CHI** e **COME** si mette in moto, può quindi essere:

- **NATURALE** che si attiva per la semplice percezione di un antigene e in tempi brevissimi, tale risposta si avvale di diversi agenti effettori:
 - **cellulari**: sicuramente le cellule maggiormente coinvolte sono i **FAGOCITI**², capaci di inglobare ed eliminare cellule e molecole pericolose.
 - **molecolari**: molto eterogenee, sono moltissime, si tratta di un sistema **RIDONDANTE**. Un caso molto significativo è il **SISTEMA DEL COMPLEMENTO (C)**: si tratta di un sistema di proteine che agisce soprattutto contro antigeni cellulari.
nonostante questa risposta possa essere sufficiente, viene attivato **IN OGNI CASO** il sistema della **RISPOSTA ADATTATIVA**.
- **ADATTATIVA**: il sistema adattativo si attiva anche se non necessario, si tratta infatti di un sistema essenziale per la **MEMORIZZAZIONE DELL'ANTIGENE NOT SELF**. Anche in questo caso abbiamo effettori:
 - **molecolari**: si tratta di **ANTICORPI (Ab o antibody)**, sono gli effettori della risposta acquisita.
 - **cellulari**: si tratta dei **LINFOCITI**, si tratta di una classe cellulare molto variegata.

L'ANTIGENE:

si tratta della molecola che mette in moto il sistema immunitario, con questo termine si

¹ fondamentale per le vaccinazioni.

² si tratta di una classe piuttosto eterogenea.

sottointende una quantità molto elevata di molecole e cellule, È necessaria in primis una **DISTINZIONE** tra:

- **ANTIGENI COMPLETI**: si tratta dell'antigene che si fa riconoscere in modo **DIRETTO**, mette in moto sia la via **AFFERENTE** che **EFFERENTE**.
- **ANTIGENI INCOMPLETI**: tale antigene come tale non si fa riconoscere, deve essere associato a qualcosa che lo presenti, ad un **CARRIER** e si parla in generale di **APTENE**³. In ogni caso questo antigene, una volta riconosciuto grazie al carrier, **SUBISCE LA RISPOSTA IMMUNITARIA**⁴.

LE CARATTERISTICHE DELL'ANTIGENE:

In una singola proteina associata ad un agente infettivo il sistema immunitario riconosce numerosi antigeni detti **EPITOPI** o **DETERMINANTI ANTIGENICI**, sono sostanzialmente parti della proteina che vengono riconosciute di fatto come antigeni e hanno potere di attivazione sul sistema immunitario. Possiamo dire quindi che un batterio contiene **NUMEROSE PROTEINE** ciascuna delle quali presenta **NUMEROSI EPITOPI** andando a costituire un sistema estremamente **COMPLESSO**; **LA RISPOSTA IMMUNITARIA** conseguente colpisce quindi **PIÙ EPITOPI** tra cui, generalmente, anche quello necessario ad uccidere l'antigene.

LE CARATTERISTICHE CHE RENDONO UN ANTIGENE PIÙ O MENO RICONOSCIBILE SONO FONDAMENTALMENTE LE SEGUENTI:

- deve essere **ESTRANEO**: più è diverso dal self, meglio viene riconosciuto⁵.
- la **DIMENSIONE** della molecola che porta l'antigene:
 - più grande è la molecola, maggiore è la probabilità della presenza di **EPITOPI RICONOSCIBILI O CHE VENGONO RICONOSCIUTI**.
 - più piccola è la molecola minore è la probabilità della presenza di epitopi riconoscibili o che vengono riconosciuti.

molecole al di sotto di 5000dalton presentano un potere antigenico bassissimo, sotto questo peso molecolare si collocano gran parte delle molecole **FARMACEUTICHE** e le componenti **ALIMENTARI** (queste possono poi comportarsi da apteni complessandosi e formando molecole di maggiore dimensione).

- **COMPLESSITÀ DELLA MOLECOLA**: indipendentemente dalla dimensione la molecola può presentare una struttura più o meno complessa, in generale più complessa è una struttura per distribuzione e varietà delle sue componenti, maggiore è il suo potere antigenico.
- **ACCESSIBILITÀ**: più sono accessibili gli **EPITOPI**, più elevato è il potere antigenico. Le strutture attivanti il sistema devono essere ad esso il più visibili il possibile⁶.
- **CARICA DELLA MOLECOLA** che rende possibile la interazione e il riconoscimento

³ A questa categoria appartengono anche farmaci che soli non sono in grado di agire, ma se associati ad un carrier possono generare una risposta fortissima; un ulteriore esempio è sicuramente il nichel che associandosi ai cheratinociti e alle loro proteine genera una reazione estremamente forte, si tratta di una **ALLERGIA VERA E PROPRIA**

⁴ I **FENOMENI DI ALLERGIA AGLI ANTIBIOTICI** e alla penicillina in particolare sono legati al carrier che trasporta la molecola attiva: si tratta infatti di apteni il cui carrier è un anello fenolico, senza di esso l'antibiotico stesso non funzionerebbe

⁵ il plasma trasfuso è composto di proteine molto diverse, ma queste, salvo certi casi, non portano a reazioni: le somministrazioni di insulina di maiale nei diabetici procedevano bene per un certo periodo, fintantoche il paziente non sviluppava una immunità per tale insulina, diversa per pochissimi amminoacidi.

⁶ questo è molto utile nella ricerca di molecole capaci di provocare reazioni immunitarie e quindi di memorizzazione (vaccini) **BIOTECNOLOGIE**.

della stessa.

- RIGIDITÀ DELLA MOLECOLA che rende maggiore la compatibilità con il recettore.
- FORMA FISICA DI SOMMINISTRAZIONE: gli antigeni, GLICOPROTEICI soprattutto, tendono ad AGGREGARE formando dei complessi; a livello antigenico diciamo che MOLECOLE COMPLESSATE e MOLECOLE DISCIOLTE hanno un potere antigenico molto diverso⁷.
- VIA DI SOMMINISTRAZIONE: i vaccini vengono somministrati per via sottocutanea generalmente in quanto è necessario bypassare la purificazione epatica che ne diminuirebbe notevolmente l'efficacia.
- GLI ADIUVANTI: si tratta di molecole o parti di molecole capaci di incrementare la risposta immunitaria alla presenza dell'antigene⁸. A livello procedurale è possibile inoculare tali sostanze con scopi diversi:
 - o si utilizza una miscela oleosa e la si unisce all'antigene, questo viene iniettato e la presenza della miscela porta ad un assorbimento lento e prolungato nel tempo generando una risposta molto prolungata.
 - altro obiettivo della inoculazione artificiale di queste sostanze è quello di preparare l'organismo stimolando le cellule che devono processarlo incrementando la rapidità e la funzionalità della risposta.

possiamo distinguere diversi tipi di ADIUVANTI in particolare ricordiamo:

- ADIUVANTE COMPLETO DI FREUND: si tratta di una miscela oleosa arricchita con micobacterium tuberculosis inattivato, batterio di parete consistente molto lipidica che incrementa la componente grassa della miscela. È più potente della sua controparte incompleta.
- ADIUVANTE INCOMPLETO DI FREUND: si tratta di un complesso di oli, acqua e antigeni al quale viene aggiunto un agente di natura solubilizzante la cui funzione è quella di produrre gocce lipidiche capaci di circondare l'antigene.
- ALUM o ALLUMINIO POTASSIO SOLFATO ha la capacità di prolungare il tempo di permanenza dell'antigene nel corpo da pochi giorni ad alcune settimane; viene molto usato.

oggi si studiano e utilizzano complessi BIOLOGICI, si tratta spesso di estratti batterici di sintesi, della famiglia delle CITOCHINE: le Citochine sono molecole che stimolano la produzione cellulare di molecole che incrementano la risposta immunitaria.

L'ADIUVANTE È SPESSO FONDAMENTALE PER GENERALE LA RISPOSTA ALL'ANTIGENE.

- CARATTERISTICHE GENETICHE DELL'INDIVIDUO: oltre al carattere dell'antigene è necessario prendere in considerazione altri effetti, in particolare si parla di individui:
 - iperresponsivi.
 - iporesponsivi.
 - normoresponsivi.

che rispondono in modo diverso alle diverse stimolazioni antigeniche, in particolare a questo tipo di ipersensibilità si associa la presenza di fenomeni di autoimmunità.

Sulla base delle caratteristiche sopra elencate possiamo dire quindi che la classe di

⁷ Per esempio le albumine complessate iniettate nel plasma animale hanno potere antigenico, mentre le forme non complessate non hanno potere antigenico.

⁸ lo studio degli adiuvanti è oggi materia di BIOTECNOLOGIA.

BIOMOLECOLE a MAGGIOR POTERE ANTIGENICO sono sicuramente le PROTEINE: si tratta di molecole COMPLESSE⁹ (spesso globulari) presentano CARICA e sono ABBASTANZA RIGIDE; GLI ZUCCHERI sono molecole che presentano, al contrario, MONOTONIA STRUTTURALE e per questo non sono degli ottimi antigeni¹⁰. I LIPIDI sono in assoluto i composti meno attivi dal punto di vista antigenico in quanto sono assolutamente privi di carica e di rigidità oltre ad essere molto simili tra loro. I NUCLEOTIDI non presentano potere antigenico se non in casi patologici estremamente gravi come il LUPUS.

ALCUNI ESEMPI DI ANTIGENI:

Esiste un sistema di colorazione molto utilizzato per identificare due grosse categorie batteriche sulla base della composizione generale della loro parete, si parla in particolare di:

- **BATTERI GRAM NEGATIVI** presentano una parete sottile fatta di peptidoglicani caratterizzati dalla presenza di un gran numero di glicoproteine che vengono esposte. questo LIPOPOLISACCARIDE (LPS o ENDOTOSSINA) viene LIBERATO DAI BATTERI, GENERALMENTE IN FASE DI MOLTIPLICAZIONE, PER POI SPOSTARSI NEL SANGUE dove può creare ENORMI DANNI. Non si tratta di un antigene forte in quanto è costituito da glucidi e da lipidi soprattutto.
- **BATTERI GRAM POSITIVI** si tratta di batteri così definiti in quanto presentano una parete molto più spessa di peptidoglicano, creano problemi di natura patologica per la loro capacità di creare ESOTOSSINE PROTEICHE che presentano un potere antigenico molto elevato.

I GRUPPI SANGUIGNI: si tratta di antigeni dal potere estremamente significativo, in particolare nella loro applicazione clinica: sono generalmente presenti su elementi corpuscolati nel sangue, a livello pratico e clinico ricordiamo due sistemi (formati da diversi antigeni):

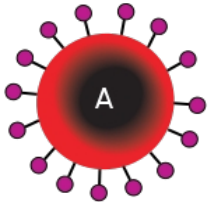
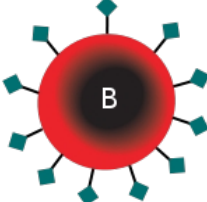
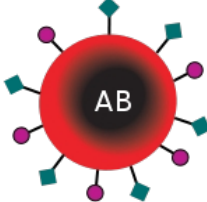
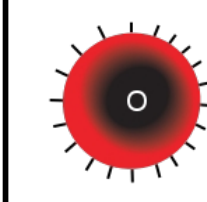
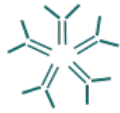

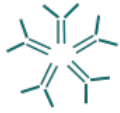



- SISTEMA AB0: questo sistema presenta due antigeni, A e B, presenti soprattutto, ma non solo, nei globuli rossi, che si possono organizzare formando quattro gruppi:
 - ◆ A che presenta l'antigene A.
 - ◆ B che presenta l'antigene B.
 - ◆ 0 che non presenta antigeni.
 - ◆ AB che presenta sia l'antigene A che l'antigene B.

A livello statistico nelle nostre zone, Europa occidentale, abbiamo una prevalenza elevata di A e 0 mentre i gruppi AB e B sono relativamente rari¹¹. A livello statistico invece possiamo dire che andando verso EST aumenta la frequenza dell'antigene B; caso particolare sono gli INDIOS che presentano una percentuale di 88% di 0.

⁹ esistono ovviamente delle eccezioni come il collagene, le cheratine, gli istoni; questi ultimi sono strutturalmente poco complessi.

¹⁰ esistono delle vaccinazioni basate su carboidrati, questi vaccini non sono molto efficaci e possono creare dei problemi.

¹¹ in Italia spostandosi verso sud aumenta la frequenza del gruppo B.

	Group A	Group B	Group AB	Group O
Red blood cell type				
Antibodies present	 Anti-B	 Anti-A	None	 Anti-A and Anti-B
Antigens present	A antigen 	B antigen 	A and B antigens 	None

questo sistema antigenico è composto di ZUCCHERI ASSOCIATI A LIPIDI DI MEMBRANA che si collocano sulle superfici delle cellule, le cellule che portano questi antigeni sono LE CELLULE CIRCOLANTI e che sono PRESENTI IN DIVERSA FREQUENZA ESPRESSIVA IN TUTTI I TESSUTI: per questo motivo è estremamente importante dal punto di vista clinico. L'80% degli individui presenta antigeni di questo tipo anche direttamente nel PLASMA e nelle SECREZIONI CORPOREE, associati in questo caso a PEPTIDI e NON A LIPIDI¹². Si tratta di fatto di una eccezione rispetto alla regola normale che prevede la presenza di un antigene e di un anticorpo ad esso correlato: chi possiede questo tipo di antigeni, presenta degli anticorpi contro gli antigeni che non possiede, chi è di gruppo A presenta antigeni contro il gruppo B e viceversa. Si tratta di ANTICORPI NATURALI che SI SVILUPPANO DOPO I PRIMI TRE MESI DI VITA¹³ e normalmente si presentano in una quantità molto bassa, infatti la produzione di questi anticorpi non è stimolata dall'esterno e legata ad un controllo di tipo ambientale: la vita di relazione ambientale produce un incremento degli anticorpi fisiologico. Questo fattore è dovuto al fatto che direttamente dalla nostra nascita noi cominciamo a convivere con BATTERI detti SAPROFITI che innescano una certa risposta immunitaria, tali batteri presentano delle strutture glicoproteiche simili a quelle dei gruppi sanguigni, che sono molto semplici, e che possono innescare una risposta immunitaria più o meno forte rispetto all'antigene del gruppo AB0 che il corpo non possiede.

GLI ANTIGENI AB0:

fondamentalmente si parte da una struttura glucidica di base che si modifica sotto l'effetto di geni formando diversi gruppi, QUINDI:

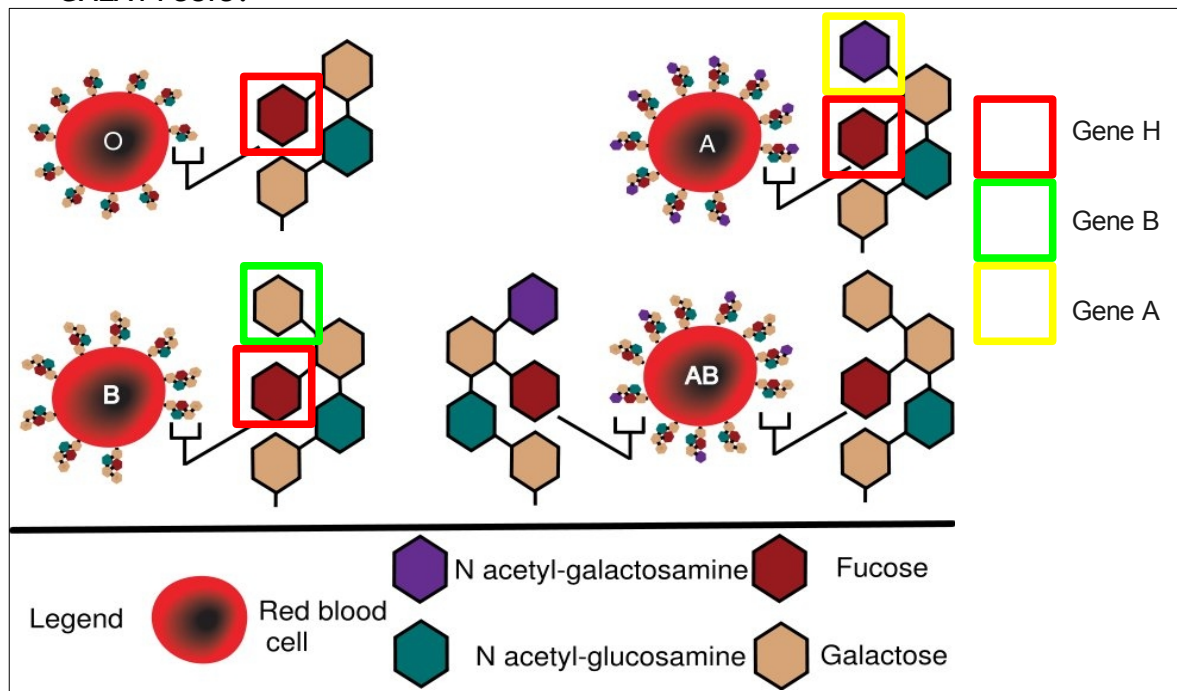
- ◆ LA PRESENZA DEL GENE H codifica per una TRASFERASI che porta alla

¹² è quindi possibile determinare il gruppo sanguigno a partire dalla saliva per esempio.

¹³ quindi si possono trasporre senza problemi, in linea generale, i neonati.

formazione del complesso glucidico detto GRUPPO 0: questo avviene per la unione di una molecola di FUCOSIO alla catena di base.

- ◆ LA PRESENZA DEL GENE H E DEL GENE A: il gene associa al medesimo galattosio al quale è associato il fucosio, una Nacetil galattosamina. distinguiamo quindi:
 - A1 che presenta la Nacetil galattosamina unicamente su una delle due catene.
 - A2 che presenta la Nacetil galattosamina su entrambe le catene.
- ◆ LA PRESENZA DEL GENE H E DEL GENE B genera una situazione simile alla precedente, ma lo zucchero trasposto non è la N acetil galattosamina ma il GALATTOSIO.



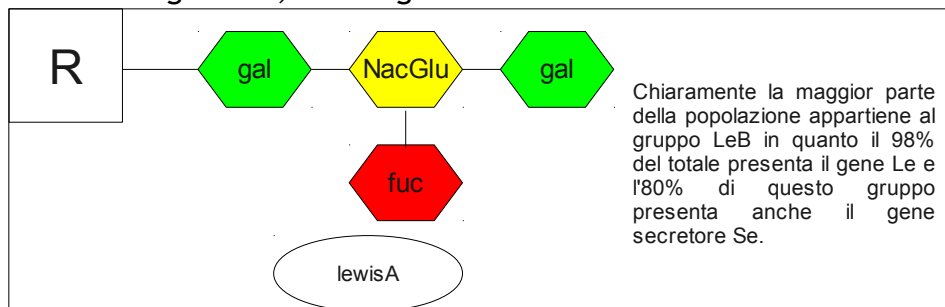
esistono anche DEGLI INDIVIDUI CHE PRESENTANO LA SOLA STRUTTURA DI BASE, priva di qualsiasi altra forma; questi individui NON POSSONO RICEVERE SANGUE DALLE PERSONE CHE PRESENTANO UN GRUPPO SANGUIGNO ABO ma solo da persone che presentano la stessa situazione; la popolazione in questione è ridottissima, circa un individuo su un milione di persone, e si parla di gruppo Bombay. Per la frequenza estremamente bassa degli individui omozigoti recessivi per il gene H si dice che tale gene è SUPER DOMINANTE.

possiamo identificare dei geni associati a questo tipo di sistema antigenico, in particolare ricordiamo:

- IL GENE SECRETORE che genera quel fenomeno di secrezione degli antigeni nei fluidi corporei e nel plasma; viene detto Se e presenta natura dominante. possiamo quindi distinguere due gruppi fenotipici:
 - SeSe + Sese che presentano il fenomeno di secrezione e rappresentano l'80% della popolazione.
 - sese che non presenta fenomeni di secrezione.
- A QUESTO SISTEMA SI ASSOCIA, ma unicamente per somiglianza a livello morfologico, ANCHE IL GENE LEWIS o Le: possiamo dire che gli individui che

presentano il gene Le PRESENTANO UN COMPLESSO POLISACCARIDICO IDENTICO AL GRUPPO H, MA CON UNA MOLECOLA DI FUCOSIO associata alla acetil glucosamina; nel complesso distinguiamo quindi:

- assenza del gene Le, manca l'antigene, la popolazione che fa parte di questa categoria è il 2%.
- LeA: si tratta di un gene che codifica per una trasferasi la cui azione porta alla ASSOCIAZIONE DELLA MOLECOLA DI FUCOSIO non al galattosio come per il gruppo H, MA ALLA N acetil GLUCOSAMINA che lo precede nella catena polisaccaridica.
- LeB: a questo gruppo appartengono quelle persone che presentano oltre al gene A anche il gene Se, cioè il gene secretore.



- IL SISTEMA Rh: viene così definito in quanto si sperimentò su antigeni prodotti tramite una scimmia, la Rhesus, in particolare possiamo distinguere due gruppi di pazienti:
 - ◆ chi reagisce agli anticorpi prodotti dalla scimmia Rhesus si definisce Rh+.
 - ◆ chi non reagisce agli anticorpi prodotti dalla scimmia Rhesus si definisce Rh-.in realtà con il tempo si è andato sviluppando un sistema di identificazione di antigeni più preciso basato sulla analisi molecolare che ci ha consentito di identificare 5 distinti antigeni, in particolare:
 - ◆ C
 - ◆ c
 - ◆ D
 - ◆ E
 - ◆ e

i soggetti politrasfusi possono sviluppare anticorpi per questo tipo di antigeni; inoltre oggi sappiamo che il titolo di Rh+ è legato alla PRESENZA O ASSENZA DELL'ANTIGENE D CHE È IL PIÙ POTENTE DEL SISTEMA ANTIGENICO, al contrario il d NON PRESENTA POTERE ANTIGENICO.

SI TRATTA DI UN APLOTIPO: questo complesso genetico si colloca nel cromosoma 1 e viene ereditato COME UN UNICO BLOCCO, gli antigeni cioè non sono separabili tramite CROSSING OVER e questo avviene per la estrema vicinanza tra i geni in questione. È quindi importante ricordare che:

- ➔ QUESTI ANTIGENI SONO PROTEICI E, di conseguenza, MOLTO POTENTI.
- ➔ SONO PRESENTI UNICAMENTE NEL SANGUE e non nei tessuti.
- ➔ PER I TRAPIANTI DI ORGANO NON CI SONO PROBLEMI.
- ➔ al contrario che per il gruppo ABO NON ESISTONO ANTICORPI NATURALI, questi vengono SVILUPPATI UNICAMENTE TRAMITE ESPOSIZIONE agli antigeni

in questione¹⁴.

→ ricordando che l'antigene più potente è il D, sono possibili numerosissime combinazioni alleliche. In ogni caso chi possiede almeno un gene codificante per l'antigene D presenta fenotipo Rh+.

- IL SISTEMA Ii: si tratta di un sistema di antigeni coinvolto in particolare nella produzione di EMOAGGLUTININE A FREDDO, si tratta di una patologia caratterizzata dalla produzione di emoagglutinine che attaccano il globulo rosso unicamente a temperature inferiori a 37°C, la emoagglutinazione si verifica quindi unicamente in periferia e nel momento in cui la temperatura ambientale sia abbastanza bassa. La produzione di tali anticorpi è fondamentalmente legata ad infezioni da mycoplasmi e il fenomeno presenta, generalmente, natura transitoria.

A livello di quantità ricordiamo che le cellule del sangue presentano una quantità di antigeni Rh estremamente limitata rispetto agli antigeni appartenenti al gruppo AB0.

¹⁴ Questo rende possibile una ipotetica prima trasfusione di sangue anche senza che sia nota la compatibilità del gruppo Rh.

01-IMMUNOLOGIA



FATTORI ATTIVI NELLA RISPOSTA IMMUNITARIA

il SISTEMA IMMUNITARIO (o S.I.) è il sistema che identifica l'antigene ed elabora la risposta immunitaria. Come accennato i modelli di risposta sono due:

- IL SISTEMA NATURALE.
- IL SISTEMA SPECIFICO.

entrambi i sistemi sono composti di elementi di natura cellulare e umorale che comunicano trasversalmente tra loro.

L'EMOCROMO:

Come sappiamo il sangue è composto per il 45% di componenti cellulari e per il 55% di componenti plasmatiche. Le componenti cellulari, che costituiscono l'emocromo, sono:

- globuli rossi:
 - 5ml/mm³ (cioè 5*10¹²/L) nel maschio.
 - 4,5ml/mm³ nella femmina.
- piastrine:
 - 250.000/mm³
- leucociti:
 - 6000/mm³

i leucociti sono estremamente eterogenei, in particolare si distinguono in:

- POLIMORFONUCLEATI presentano un nucleo non unico e rotondeggiante, ma polilobato; a questa categoria appartengono:
 - neutrofili 60-70% (cioè 3500-4000/mm³)
 - eosinofili 3%
 - basofili 0,5-1%
- MONONUCLEATI presentano un nucleo unico e rotondeggiante anche se non sempre regolare e centrale; a questa categoria appartengono:
 - monociti 5-10%
 - linfociti 20-30%

I LEUCOCITI:

I POLIMORFONUCLEATI:

I NEUTROFILI si tratta dei globuli bianchi più comuni, ricordiamo che:



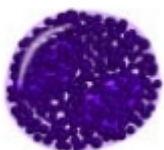
- il numero di lobi individuabili rispetto alla struttura nucleare è un indice della vitalità e giovinezza, presentano colorazione neutra.
- Sono ricchi di granuli.
- Non reagiscono con coloranti né acidi né basici.

EOSINOFILI, sono molto pochi:



- aumentano durante fenomeni allergici e parassitosi.
- si colorano soprattutto con l'EOSINA.

BASOFILI che sono la classe meno rappresentata:



- presentano granuli colorabili con ematossilina, sono quindi detti basofili.

Tutti i componenti della classe dei POLIMORFONUCLEATI presentano CAPACITÀ FAGOCITARIA.

I MONONUCLEATI:

LINFOCITI: sono cellule che si occupano soprattutto della immunità acquisita e specifica; si dividono in numerose e diverse sottocategorie con funzioni piuttosto diverse.



MONOCITI: si tratta di cellule:



- ad abilità FAGOCITARIA.
- Non presentano nucleo rotondeggiante ma presentano UN NUCLEO UNICO A FORMA DI FERRO DI CAVALLO.
- presentano alcuni granuli anche se pochi.

LE CELLULE NK

Non appartengono a nessuna delle categorie precedentemente citate, si associano infatti al COMPLESSO DELLA IMMUNITÀ NATURALE e:

- sono essenziali nella eliminazione delle cellule alterate.
- sono sentinelle contro le infezioni virali.
- vengono detti anche LGL large granule lymphocyte, hanno infatti dimensioni del 50% superiori agli altri linfociti.
- presentano evidenti granulazioni.

CELLULE STELLATE:

Sono cellule caratterizzate dalla presenza di DENDRITI; per la loro struttura e posizione sono IDEALI NEL PROCESSARE L'ANTIGENE, sono dette anche APC (antigen presenting cells). Queste cellule si collocano in numerosissimi tessuti.

LE COMPONENTI DEI SISTEMI DI DIFESA NATURALE:

il sistema naturale comprende numerosi meccanismi e autori della difesa, in linea generale possiamo dire che qualsiasi cosa è utile alla difesa dell'organismo in quanto agenti patogeni possono attaccare il corpo su qualsiasi superficie, la difesa deve, quindi, essere impostata in modo estremamente capillare.

FATTORI COMUNEMENTE PRESENTI E ATTIVI:

- LA CUTE: con la sua continuità difende il corpo dalle invasioni esterne; per poter penetrare nell'organismo è necessario che la cute sia interrotta in qualche punto. La cute è formata, come sappiamo, da:
 - ◆ EPIDERMIDE che dall'alto verso il basso risulta costituita di:
 - ➔ strato corneo.
 - ➔ strato lucido.
 - ➔ strato granuloso.
 - ➔ strato spinoso.
 - ➔ strato basale.
 - ◆ DERMA composto di tessuto connettivo.
 - ◆ SOTTOCUTE adiposo a funzione principalmente termoprotettiva.partecipano alla difesa anche annessi cutanei come:
 - ◆ le ghiandole SUDORIPARE che espellono componenti patogene e agenti

- antibatterici.
- ◆ le ghiandole SEBACEE che formano un sistema di espulsione lipidico degli agenti patogeni¹.
- ◆ la cute stessa inoltre presenta pH ACIDO e di conseguenza presenta funzione protettiva e spesso non è compatibile con agenti patogeni².
- LE SECREZIONI che rendono l'ambiente difficilmente ottimale se non letale per batteri e agenti patogeni, in particolare ricordiamo:
 - ◆ IL LISOZIMA: secreto in tutte le vie interne, si tratta di un composto:
 - ➔ NATURALE UMORALE.
 - ➔ Che ATTACCA IL PEPTIDOGLICANO CHE COMPONE LE MEMBRANE BATTERICHE uccidendo i batteri stessi, si tratta di un ottimo sistema di difesa sempre attivo.
 - ➔ RIDUCE LA CARICA ELETTRICA DELLA SUPERFICIE BATTERICA RENDENDO PIÙ FAGOCITABILE IL BATTERIO.
 - ◆ ANTIBIOTICI NATURALI o DEFENSINE non prodotti a livello chimico e assunti dall'esterno, ma prodotti direttamente dal nostro corpo:
 - ➔ VENGONO PRODOTTI LOCALMENTE.
 - ➔ QUASI TUTTI GLI ORGANI (anche il cuore) PRODUCONO QUESTI COMPOSTI che sono presenti soprattutto sulla CUTE e soprattutto nei granuli.
 - ➔ PRESENTANO DIVERSE CARATTERISTICHE.
 - ➔ STRUTTURALMENTE SONO PEPTIDI NATURALI.
- AMBIENTI interni come per esempio:
 - ◆ l'ambiente GASTRICO che come sappiamo presenta pH 2.
 - ◆ l'ambiente DUODENALE che come sappiamo è basico.
 - ◆ L'ambiente INTESTINALE in particolare rispetto alla PERISTALSI che rende l'insediamento batterico più difficile.
 - ◆ IL MUCO DELLE VIE RESPIRATORIE e le CIGLIA che intrappolano ed eliminano batteri e corpuscoli.³
 - ◆ L'AMBIENTE VAGINALE acido.
- I SAPROFITI: sono batteri che convivono con noi praticamente fin dalla nascita, dal punto di vista IMMUNITARIO questi batteri occupano posti chiave nel nostro organismo, in particolare si collocano tra I VILLI INTESTINALI dove presentano anche una funzione fortemente limitante la attività di altri agenti batterici patogeni.

FATTORI CELLULARI:

si tratta principalmente di FAGOCITI, sono cellule capaci di fagocitare agenti esogeni; si tratta fondamentalmente di MONOCITI e POLIMORFONUCLEATI, queste cellule presentano la capacità di:

1. percepire che c'è stata una invasione a livello cutaneo.
2. raggiungere un luogo al di fuori del torrente circolatorio.
3. eliminare l'agente esogeno.

Queste cellule viaggiano nel torrente circolatorio in PERIFERIA RISPETTO AL CENTRO DEL

¹ è possibile che il sebo, in casi patologici, divenga denso e stimoli le infezioni cutanee provocando un ristagno dei patogeni intrappolati in esso.

² eccessivi lavaggi cutanei possono creare problemi seri a livello della struttura della cute e della produzione della acidità fisiologica necessaria ad impedire infezioni.

³ il mancato movimento delle ciglia è fortemente predisponente alle infezioni respiratorie.



VASO aderendo alla superficie interna dello stesso e muovendosi molto lentamente.

Polimorfonucleati e monociti presentano in ogni caso delle differenze notevoli:

- I MONOCITI usciti dal torrente circolatorio DIVENGONO MACROFAGI e svolgono la loro funzione principalmente nei tessuti connettivi dove:
 - Presentano una vita molto più lunga rispetto alle componenti del sangue e ai polimorfonucleati.
 - hanno una attività molto più forte rispetto a quella della cellula circolante.
 - maggiore dimensione.
 - maggiore ricchezza di granuli.
 - possono essere:
 - macrofagi MOBILI che si spostano nel connettivo, rispetto alle cellule fisse si possono muovere verso l'agente patogeno grazie ad un processo di CHEMIOTASSI: si crea una sorta di gradiente chimico che attira la cellula macrofagica che si muove tramite PSEUDOPODI.
 - macrofagi FISSI che non si muovono, in particolare sono:
 - cellule macrofagiche della MILZA.
 - cellule di KUPFER.
 - cellule della MICROGLIA.
 - cellule MACROFAGICHE DELLA SINOVIA.
 - cellule DEL MESANGIO renali, fisse.
 - cellule fagocitarie ALVEOLARI.
 - cellule macrofagiche INTESTINALI.si dislocano insomma in diverse parti del nostro corpo.
- POLIMORFONUCLEATI presentano:
 - vita breve
 - I NEUTROFILI soprattutto, ma anche gli altri polimorfonucleati, sono cellule estremamente dinamiche, 2/3 dei neutrofili sono disposti in periferia e non sono visibili o quantificabili; spessissimo si collocano nella MILZA e nell'ENDOTELIO DEI VASI⁴.

PER GRANULOCITI E MONOCITI, al contrario di quanto avviene per i MACROFAGI che si trovano già nel tessuto connettivo o comunque nella sede della infezione, si rende necessario, per poter raggiungere il sito di azione, **ATTRAVERSARE LA PARETE DEL VASO**: come accennato tali globuli si muovono lentamente e perifericamente rispetto al lume del vaso sanguifero e questo facilita il riconoscimento del luogo di azione.

L'ATTRAVERSAMENTO DELLA BARRIERA ENDOTELIALE:

granulociti e monociti circolanti devono attraversare l'endotelio che è una **BARRIERA ESTREMAMENTE FITTA E COMPLESSA**; il processo avviene in questo modo:

- i granulociti percepiscono la presenza di fattori chemiotattici derivanti dal luogo della infezione.
- si avvicinano all'endotelio.
- cominciano a rotolare su di esso, si parla di **ROLLING**.
- si associano all'endotelio e contraggono rapporti molto stretti con le cellule endoteliali, si parla di **SPREADING**.
- si apre un varco tra due cellule endoteliali e il granulocita può passare.

TALE PROCESSO È STRETTAMENTE DIPENDENTE DAI FENOMENI DI ROLLING E SPREADING del GRANULOCITA RISPETTO ALL'ENDOTELIO; tali processi appartengono alla categoria

⁴ si possono quantificare in modo più preciso con somministrazioni di ADRENALINA: l'incremento della adrenalina porta a contrazione della milza che espelle polimorfonucleati nel sangue.

dei meccanismi di cross talk.

IL ROLLING DEL GRANULOCITA:

Poco dopo l'arrivo dello stimolo chemiotattico le cellule endoteliali, essendo ad esso sensibili, assumono la capacità di esprimere a livello della membrana delle molecole che risultano compatibili con il GRANULOCITA e con delle proteine espresse sulla sua membrana, consentendo in questo modo il RALLENTAMENTO DELLA CELLULA CIRCOLANTE e l'instaurarsi della relazione sopra descritta. Le molecole espresse dalle CELLULE ENDOTELIALI sono dette SELECTINE e sono molecole glicoproteiche.

LE SELECTINE sono delle molecole lipoproteiche ancorate alla membrana cellulare endoteliale; si riconoscono diversi tipi di selectine che reagiscono con cellule differenti presenti nel sangue, possiamo dire fondamentale è il DOMINIO EXTRACELLULARE molto sviluppato a conferire a tali molecole le loro caratteristiche, tale parte della molecola viene detta LEPTIN DOMAIN e consente alla molecola stessa di interagire con i glucidi ad essa compatibili. Complessivamente conosciamo ad oggi tre tipologie di selectine:

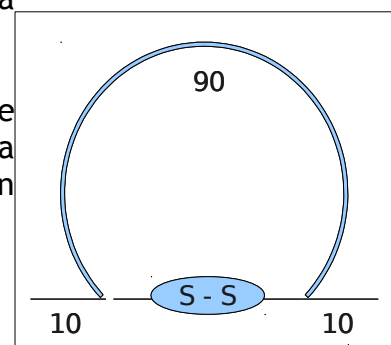
- E SELECTINE che sono le selectine endoteliali che vengono espresse in seguito alla ricezione di uno stimolo di natura patogeno-chemiotattica; vengono sintetizzate ed esposte in un secondo momento, successivamente alle P selectine.
- P SELECTINA fu scoperta inizialmente a livello della membrana piastrinica, ma, oggi sappiamo, si colloca anche sulla superficie endoteliale ma differisce dalla E selectina in quanto la P selectina viene SINTETIZZATA ed ACCUMULATA nei GRANULI DI WEIL-PALADE: si tratta di un complesso di granuli contenenti molecole proteiche che vengono secreti unicamente in caso di necessità e in risposta a stimoli specifici. La presenza e la velocità della esposizione di questo tipo di molecole determina la risposta più immediata allo stimolo chemiotattico.⁵
- L SELECTINA che si colloca sui LEUCOCITI e consente agli stessi di contrarre relazione con l'endotelio.

LA STRUTTURA DELLE COMPONENTI GLUCIDICHE di queste molecole è essenziale: si tratta di un complesso glucidico, caratterizzato da una molecola di acido sialico, esposto da tutti gli individui allo stesso modo e detto Lex.

LO SPREADING DEL GRANULOCITA:

anche in questo caso è l'endotelio ad esprimere i fattori essenziali per l'instaurarsi di questo tipo di relazione, si tratta di proteine dette ICAM (intracellular adhesion molecules) che, di fatto, sostituiscono le SELECTINE e consentono L'INSTAURARSI DI UNA RELAZIONE PIÙ STABILE E COSTANTE tra il granulocita e la cellula endoteliale; in vitro il passaggio tra queste due fasi avviene in circa 5 ore, il tempo necessario alla sintesi delle molecole ICAM. Essenziale è sicuramente il contributo della ICAM 1 che svolge un ruolo fondamentale. Queste molecole:

- presentano un piccolo dominio intracellulare.
- presentano un dominio esterno costituito di diverse pieghe o anse, per questo motivo appartengono alla SUPERFAMIGLIA DELLE IMMUNOGLOBULINE; l'ansa in questione è formata di 110 amminoacidi:
 - 10 all'origine dell'ansa.
 - 90 a costituire l'ansa vera e propria.
 - 10 al termine dell'ansa.



⁵ generalmente vengono esposte entro 10 minuti dall'inizio della infezione e possono essere dosate tramite anticorpi specifici, devono apparire subito ed entro una data quantità.

- un PONTE SOLFURO A CHIUDERE L'ANSA così costituita.
a questa superfamiglia appartengono anche molecole dette VCAM che interagiscono principalmente con i LINFOCITI e che sono, ovviamente, strutturalmente molto simili.

L'instaurarsi di una relazione stabile prevede L'ESPRESSIONE DA PARTE DEL GRANULOCITA di molecole di tipo CD o CLUSTER DI DIFFERENZIAZIONE⁶: in questo caso si tratta del dimero CD11/18, sono presenti infatti:

- una subunità alfa detta CD11.
- una subunità beta detta CD18.
- non sono legate tra loro da legami covalenti.
- per potersi associare alle ICAM endoteliali necessitano di CALCIO.

Queste molecole appartengono alla SUPERFAMIGLIA DELLE INTEGRINE: si tratta di fattori proteici la cui caratteristica è quella di legarsi a molecole presenti nell'endotelio o presenti nella matrice extracellulare del connettivo e capaci di dare questo tipo di interazioni; a livello strutturale tali molecole sono molto diverse tra loro, ma funzionalmente sono molto simili. Fondamentalmente distinguiamo due tipi di catene:

- INTEGRINE ALFA di diversi tipi.
- INTEGRINE BETA:
 - BETA1 che si lega con MOLTE E DIVERSE CATENE ALFA CREANDO MOLECOLE CAPACI DI GENERARE FENOMENI DI ASSOCIAZIONE MOLTO DIFFERENTI.
 - BETA 2 che può invece legarsi con un numero minore di catene alfa:
 - alfa L formando un dimero che si associa ai LINFOCITI.
 - alfa m formando un dimero, quello descritto precedentemente, che si associa ai MONOCITI e ai GRANULOCITI.
 - alfa x.

Queste molecole aumentano numericamente durante il processo di interazione IN MODO MOLTO CONSISTENTE.

L'APERTURA DEL PASSAGGIO:

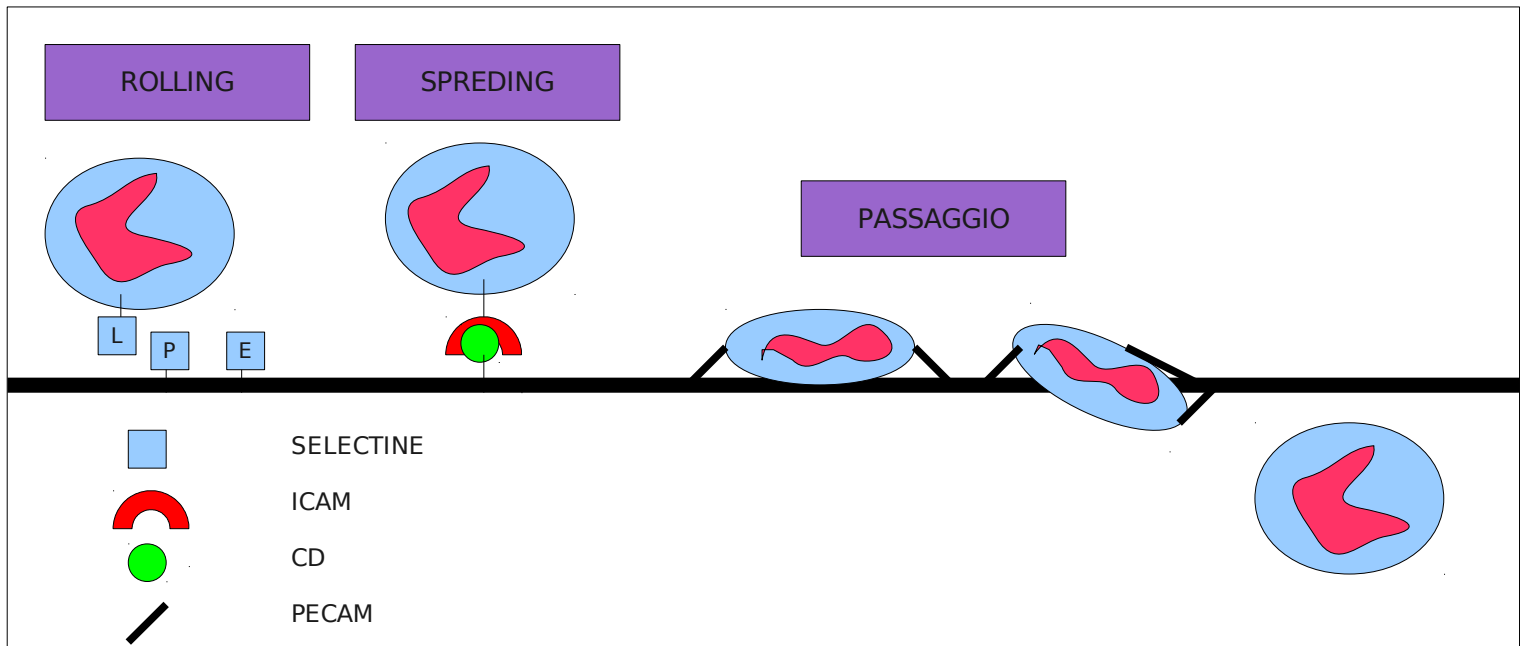
in questo caso intervengono delle proteine dette PECAM che consentono di generare fenomeni di adesione intercellulare molto forti, in particolare possiamo dire che:

- si apre la giunzione tra le PECAM endoteliali che mantengono l'integrità strutturale dell'endotelio.
- si instaura una relazione tra le PECAM endoteliali e le PECAM del leucocita.
- il leucocita SCIVOLA NELLA GIUNZIONE NEOFORMATA fino a passare oltre la superficie endoteliale.
- si reinstaura il legame tra le molecole PECAM endoteliali.

le molecole PECAM sono capaci di creare delle giunzioni estremamente resistenti isolanti tanto che durante il passaggio del leucocita il varco è così stretto che NON È POSSIBILE PER ALTRE MOLECOLE FILTRARE ATTRAVERSO LA BARRIERA ENDOTELIALE.

Tale sistema si attiva, ovviamente, a seguito dell'intervento macrofagico locale che scatena una prima risposta immunitaria che, se sufficiente, può non richiamare altre cellule bianche.

⁶ con il termine CD si intende indicare una serie di molecole che sono state scoperte negli ultimi anni grazie all'utilizzo di specifici anticorpi, tali molecole sono poi identificabili in modo univoco grazie in virtù del numero ad esse associato.



L'AZIONE DEI FAGOCITI:

I fagociti sono cellule a capacità fagocitica appartenenti, come accennato, alle classi dei granulociti e dei monociti macrofagi; essi svolgono una azione fondamentale nella difesa naturale.

IL RICONSCIMENTO DELL'AGENTE ESOGENO:

il fagocita deve riconoscere l'agente esogeno e fagocitarlo per distruggerlo; tale processo avviene in questo modo:

- la cellula prende contatto con l'agente esogeno.
- si invagina la membrana.
- si forma un fagosoma.
- il fagosoma si fonde con dei corpuscoli detti LISOSOMI presenti naturalmente nella cellula formando FAGOLISOSOMI.
- l'agente esogeno viene distrutto e gli scarti eliminati tramite esocitosi.

perché avvenga un processo di questo tipo è necessario che venga percepito l'agente esogeno, questo può avvenire:

- **TRAMITE IL RICONSCIMENTO DI MOLECOLE ESOGENE ASSOCIATE ALLA MEMBRANA PRINCIPALMENTE DELL'AGENTE ESOGENO STESSO**, in generale si parla DI **PRR, PATTERN RECOGNITION RECEPTORS**, CHE SONO UNA FAMIGLIA ESTREMAMENTE VARIEGATA DI MOLECOLE DI RICONSCIMENTO, in particolare possiamo dire che:
 - le membrane batteriche sono soprattutto **SONO RICCHE DI MANNOSIO** ma anche di altri glucidi; molti di questi recettori sono sensibili proprio a questo tipo di molecole.
 - esistono recettori detti **SCAVENGER** che individuano **SOSTANZE O CELLULE DA ELIMINARE** come:
 - cellule invecchiate
 - componenti inutili.
 - **molti recettori sono sensibili al LIPOPOLISACCARIDE dei batteri gram NEGATIVI** che quotidianamente ci colpiscono: tali endotossine devono **ESSERE ELIMINATE**

DAL NOSTRO ORGANISMO per impedire fenomeni di intossicazione⁷.

- TLR Toll Like receptors: si tratta di recettori coinvolti nelle pathway apoptotiche ma non solo, oggi se ne conoscono 22; si tratta di molecole estremamente conservate a livello evolutivo, sono presenti già nella drosophila, e che sono capaci di riconoscere e rendere eliminabili sostanze molto pericolose. Un esempio è relativo sicuramente all'LPS o lipopolisaccaride endotossinico:

- l'LPS viene ad associarsi con una LPS binding protein circolante.
- tale molecola viene percepita dal recettore fagocitario CD14.
- il recettore CD14 attiva la TLR-4 che ATTIVA IL PROCESSO DI ELIMINAZIONE DELLA MOLECOLA.

SINGOLI TLR RECEPTORS SONO SENSIBILI A DIVERSE MOLECOLE come per esempio l'RNA batterico o il PEPTIDOGLICANO DELLE PARETI BATTERICHE.

- TRAMITE UNA SECONDA ONDATA DI PROCESSI DI RICONOSCIMENTO, nel caso in cui la prima non bastasse, si tratta di processi DETTI DI OPSONIZZAZIONE e che sono resi possibili da un sistema di molecole circolanti che:
 - si associano a molecole esogene presenti nel sangue e derivate o associate a membrane batteriche.
 - attivano un sistema di natura recettoriale presente sui fagociti.
 - stimolano la FAGOCITOSI.

L'OPSONIZZAZIONE è il processo che consente il riconoscimento del batterio tramite la presenza di molecole circolanti: la molecola precedentemente citata capace di riconoscere l'LPS circolante e in grado di attivarne la eliminazione, fa parte di questa categoria di molecole.

QUESTI DUE SISTEMI SONO ESSENZIALI A GARANTIRE LA CLEARANCE DEL SANGUE DA MOLECOLE MOLTO PERICOLOSE quali sono le endotossine.

L'ELIMINAZIONE DELL'AGENTE ESOGENO:

Come sappiamo tali cellule presentano una grande quantità di GRANULI la cui funzione è quella, tramite la associazione con il fagosoma o la esocitosi, di uccidere il batterio o di facilitarne la fagocitosi.

Possiamo distinguere in ogni caso due meccanismi di azione utilizzati dai fagociti:

- KILLING O₂ DIPENDENTE si divide in due categorie:
 - AZIONE DEI GRANULOCITI: si tratta della esocitosi di GRANULI RICCHI DI AGENTI OSSIDANTI DERIVATI DALL'OSSIGENO; tale processo avviene in due fasi:
 - LA PRODUZIONE DELL'ANIONE SUPEROSSIDO:



- LA PRODUZIONE DI ACQUA OSSIGENATA:



SI PRODUCONO INSOMMA SOSTANZE AD ELEVATO POTERE OSSIDANTE CHE COLPISCONO LA CELLULA ESOGENA distruggendola molto spesso; nel caso in cui vengano prodotti anche radicali idrossilici può essere attivata la seguente reazione:



⁷ nel momento in cui venga meno la capacità del corpo di eliminare tali endotossine il paziente va in shock endotossinico che può portare anche alla morte.

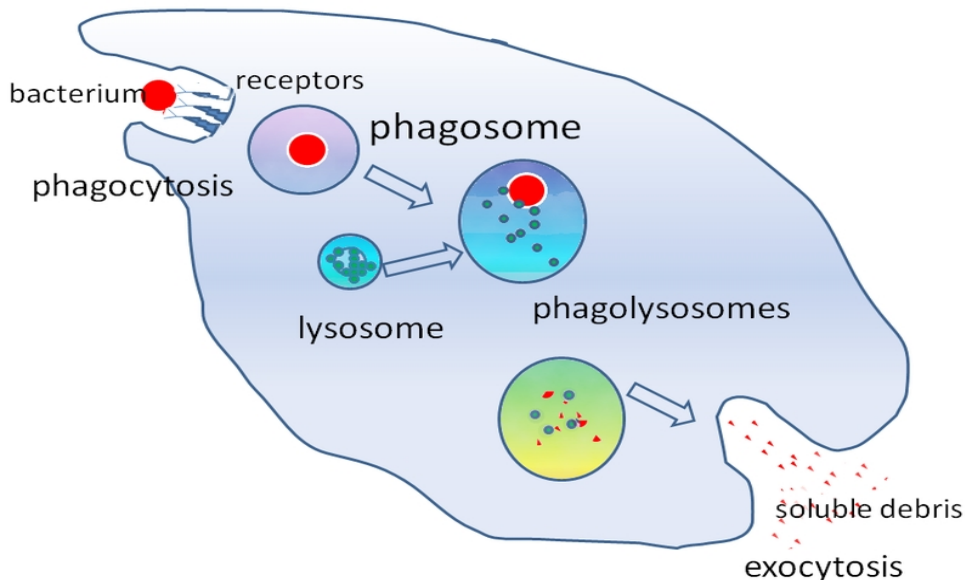
Nel caso in cui tale reazione non sia sufficiente, si formano GRAZIE ALLA AZIONE DELLA MIELOPEROSSIDASI, MOLECOLE come IPOCLORITI E IPOBROMITI che vengono secreti direttamente NEL FAGOLISOSOMA: si tratta di MOLECOLE A POTERE OSSIDANTE ANCORA MAGGIORE E FORTEMENTE LESIVE.

- AZIONE DEI MACROFAGI E DEI MONOCITI: si tratta di un altro tipo di killing O₂ dipendente che prevede l'utilizzo di MOLECOLE REATTIVE DELL'AZOTO in particolare l'OSSIDO NITRICO prodotto dalla NO SINTASI a partire dalla L-arginina.

È importante sottolineare la pericolosità di questo sistema: può essere sufficiente un qualsiasi fattore attivante per generare una risposta distruttiva rispetto ai tessuti circostanti, anche un semplice contatto⁸.

- KILLING O₂ INDIPENDENTE si basa su un sistema di granuli:
 - GRANULI PRIMARI:
 - lisozima.
 - microperossidasi.
 - defensine che sono antibiotici naturali.
 - elastasi.
 - catepsina G.
 - beta glucuronidasi.
 - catepsine B e D.
 - proteine cationiche.
 - GRANULI SECONDARI:
 - lisozima.
 - lattoferrina.

FONDAMENTALE è il complesso DELLE PROTEINE CATIONICHE.



I FATTORI UMORALI:

⁸ danni di natura aterosclerotica possono essere legati anche alla continua attività di questo tipo di molecole.

Il ruolo più significativo viene svolto dal sistema delle **PROTEINE DEL COMPLEMENTO**, ci sono tuttavia una enorme quantità di molecole attive nella difesa del nostro organismo. In particolare ricordiamo:

- **COLLECTINE**: si tratta di molecole costituite di due parti:
 - strutture globulari molteplici periferiche.
 - gambo costituito di una struttura fibrosa simile al collagene.
 - si tratta di un complesso estremamente vasto di molecole alcune delle quali fanno parte del sistema del complemento. Condividono la struttura delle **PROTEINE DEL SURFACTANTE** e hanno potere opsonizzante.
- **PROTEINE DELLA FASE ACUTA** sono proteine che si modificano durante un evento acuto come un'infezione sistemica, una infiammazione acuta batterica, un intervento chirurgico o qualsiasi evento particolare e differente dal solito (anche di natura **PSICOLOGICA** o **NEUROLOGICA**). Tali molecole hanno la funzione di modificare le condizioni fisiologiche di modo da superare la condizione acuta; diciamo che nel territorio colpito si crea, generalmente, un processo di **FLOGOSI**: le cellule che intervengono in questa sede producono **CITOCINE** la cui funzione è quella di portare messaggi specifici a distanza onde riadattare le condizioni fisiologiche del soggetto. Queste proteine sono prodotte generalmente dai **MACROFAGI** e:
 - **AGISCONO SULL'IPOTALAMO** inducendo il rialzo della temperatura corporea.
 - **AGISCONO SUL FEGATO** stimolando la produzione di proteine circolanti di vario tipo tra cui anche le **PROTEINE DELLA FASE ACUTA**.
 - **AGISCONO SUL MIDOLLO OSSEO**: in qualsiasi condizione acuta stimolano la produzione di **LEUCOCITI**. La differenza tra cellule prodotte ex novo e quelle presenti nella periferia si può visualizzare sulla base del numero di lobi dei monociti.

LE **PROTEINE DELLA FASE ACUTA** sono principalmente capaci di opsonizzare i batteri, queste sono:

- **proteina C reattiva**: aumenta nelle fasi acute e viene utilizzata in clinica per monitorare numerosissime situazioni critiche, soprattutto infezioni batteriche. Tale proteina reagisce con i batteri e ne stimola la fagocitosi.
- **aptoglobina**: si tratta di una molecola molto utile per il riconoscimento di crisi emolitiche, soprattutto è essenziale la sua produzione:
 - per bloccare la filtrazione della emoglobina liberata dalla lisi attraverso la barriera ematoencefalica del bambino non ancora completamente formata.
 - per evitare insufficienze renali legate al blocco della filtrazione.
- **ceruloplasmina** che ha anche la funzione di bloccare la superossido dismutasi.
- **GLI INTERFERONI**: sono molecole prodotte da cellule **INFETTATE DA PATOGENI VIRALI**, in particolare ne distinguiamo in tre tipi:
 - **ALFA** interferone naturale.
 - **BETA** interferone naturale.
 - **GAMMA** interferone autoimmune.

tutte queste molecole hanno la capacità di rispondere ad infezioni **VIRALI**: fanno attivare, una volta recepite dalle cellule, **LA OLIGOADENILATO SINTETASI** che ha la

CAPACITÀ DI BLOCCARE LA TRASCRIZIONE DI DNA O RNA VIRALE.

- **LE CHININE**: sono molecole capaci di permeabilizzare gli epitelii aumentandone la vascolarizzazione e la capacità secretiva.

Proteine prodotte dal fegato e utili a fenomeni di COAGULAZIONE possono essere fondamentali nel limitare l'accesso di patogeni.

LE COMPONENTI DELLA DIFESA ACQUISITA:

Le cellule coinvolte in questo tipo di immunità sono sicuramente i LINFOCITI, per moltissimo tempo non si conosceva quale fosse la natura delle diverse categorie di linfociti. I linfociti si distinguono chiaramente per il loro NUCLEO COMPATTO, ma presentano una eterogeneità notevole visibile già a livello dello striscio di sangue:

- variano in dimensione da 6-7 micron a 12-13 micron.
- presentano un nucleo che occupa praticamente tutta la superficie della cellula, tale caratteristica è MAGGIORMENTE MARCATA nei LINFOCITI PIÙ PICCOLI.
- nelle cellule PIÙ GRANDI si possono trovare anche GRANULAZIONI e si parla di LGL large granular lymphocyte, o cellula NK: tali cellule presentano un nucleo RENIFORME simile quindi a quello del monocita anche se molto più grande; in ogni caso si distinguono da questi in quanto non sono capaci di FAGOCITARE.

Da 40 anni a questa parte si sono fatte scoperte notevolissime sul sistema linfocitario in particolare tramite LA SEPARAZIONE LINFOCITARIA CON FICOLI ISOPAQUE:

- si utilizza una sostanza detta Ficoli Isopaque.
- si centrifuga il campione di sangue adattivato con Ficoli Isopaque.
- l'interfaccia gellosa del composto in questione si pone tra:
 - globuli rossi e cellule polinucleate del sangue, che hanno una densità maggiore.
 - cellule mononucleate quindi LINFOCITI e MONOCITI.

superficialmente alle componenti cellulari si pone, ovviamente, il plasma.

in questo modo è possibile, viste le percentuali, isolare fondamentalmente una GRANDE QUANTITÀ DI LINFOCITI (che rappresentano la stragrande maggioranza dei mononucleati). Incubando tali cellule con estratti esogeni di qualsiasi natura e mantenendoli in incubazione per alcuni giorni si assiste ad un fenomeno di questo tipo:

- le cellule si trasformano in modo significativo.
- incrementano in numero in modo molto considerevole.

Con il tempo alcune delle cellule trasformate tornano alla loro conformazione precedente.

Analizzandole al microscopio scopriamo che LE CELLULE PRODOTTE TRAMITE LA ESPOSIZIONE DEI LINFOCITI AD AGENTI ESOGENI SONO CELLULE STAMINALI: si tratta di cellule con nucleo a cromatina lassa e citoplasma basofilo, hanno una notevole CAPACITÀ RIPRODUTTIVA. Tali cellule possono quindi:

- tornare al loro stadio staminale.
- specializzarsi.
- riprodursi.

LA CELLULA LINFOCITARIA È QUINDI PROGRAMMATA IN MODO DA POTERSI ADATTARE A CIÒ CHE INCONTRA: durante questi processi di rispecializzazione queste cellule assumono degli antigeni specifici CHE LE RENDONO CAPACI DI RISPONDERE IN MODO SPECIFICO AD UN EPITOPO O AD UN ANTIGENE. Se un organismo viene esposto ad un antigene, specifici reagiranno con esso una quantità limitata di CELLULE LINFOCITARIE. Tale sistema è così funzionale che CON IL SOLO PASSAGGIO DI LINFOCITI SENSIBILIZZATI DA UN ORGANISMO

AD UN ALTRO È POSSIBILE SENSIBILIZZARE IL SISTEMA IMMUNITARIO DI UN SECONDO ORGANISMO in modo estremamente selettivo.

BREVE STORIA DELLA RICERCA SUI LINFOCITI:

I linfociti, oltre a presentare una specifica reattività, presentano anche una FORTE DIVERSITÀ FUNZIONALE: vennero eseguiti numerosi esperimenti in particolare rispetto alla attività di dati organi come il timo.

MILLER:

il ricercatore timectomizzava i topi alla nascita; egli osservò:

- che il topo sopravviveva molto meno.
- andava incontro ad una sindrome di logoramento o wasting disease.
- diminuiva la dimensione delle linfoghiandole.

notata questa differenza morfologica, il ricercatore decise di somministrare ANTIGENI e osservò che:

- la risposta immunitaria normale diminuiva ma in modo non considerevole.
- i trapianti venivano accettati in modo molto migliore rispetto a topi non timectomizzati.

si ipotizzò quindi che il TIMO PRODUCESSE UNA SERIE DI LINFOCITI DI ORIGINE TIMICA, QUINDI DI TIPO T, CHE:

- condiziona la risposta ai trapianti.
- ha una importanza relativamente limitata nella risposta immunitaria (quantomeno rispetto alla risposta naturale).

Altri esperimenti vennero eseguiti SU VOLATILI in particolare VENIVA RIMOSSA LA BORSA DEL FABRIZIO, linfoghiandola coinvolta nelle risposte di tipo immunitario: i polli che vennero utilizzati NON RISPONDEVANO CON ANTICORPI AGLI ATTACCHI DEGLI AGENTI ESOGENI; tali linfociti vennero quindi definiti LINFOCITI B.

CUPS:

Il ricercatore decise di provare a mettere in contatto LINFOCITI UMANI con ERITROCITI BOVINI e osservò che ALCUNI LINFOCITI VENIVANO CIRCONDATI DA GLOBULI ROSSI DI MONTONE; proseguendo nelle sue ricerche egli OSSERVÒ CHE CHI ERA PRIVO DI CELLULE T NON FORMAVA QUESTO TIPO DI COMPLESSI detti rosette, E NON IDENTIFICAVA TRAMITE IL SISTEMA LINFOCITARIO GLI AGENTI ESOGENI.

ALTRI RICERCATORI decisero quindi di miscelare linfociti con molecole anticorpali ANTI IMMUNOGLOBULINE marcate in fluorescenza: si scoprì quindi che linfociti CHE NON AVEVANO FORMATO LE ROSETTE complessavano con ANTICORPI ANTI IMMUNOGLOBULINE ovviamente divenendo fluorescenti.

Attraverso l'utilizzo di questo tipo di marcatori divenne possibile determinare a quale dei due tipi di linfociti si associ la immunodeficienza.

Ad oggi è possibile determinare quantitativamente in un campione di sangue periferico linfociti B e T, in particolare, una volta isolati linfociti e monociti, possiamo calcolare che:

- 75% dei linfociti sono LINFOCITI T.
- 10-15% dei linfociti sono LINFOCITI B.
- 5% sono CELLULE NK o LGL.
- 5-10% sono MONOCITI.

Tra i linfociti B e i linfociti T c'è un rapporto di circa 1 a 7; le cellule NK sono rappresentate in modo ancora inferiore. CAPIAMO QUINDI COME I LINFOCITI T ABBIANO UN RUOLO FONDAMENTALE NELLA RISPOSTA IMMUNITARIA; la maggior parte dei linfociti circolanti sono i T helper.

COMPLESSIVAMENTE I LINFOCITI IN UN CAMPIONE DI SANGUE SONO CIRCA 1000-1500 per millimetro cubo; è necessario valutare anche numericamente, e non solo in percentuale, quanti siano i singoli linfociti a livello clinico soprattutto nella diagnosi di alcune

patologie specifiche.

IL T CELL RECEPTOR:

chiaramente è logico ipotizzare la presenza di specifici recettori per un dato antigene, depositaria di tale compito è sicuramente la SUPERFAMIGLIA DELLE IMMUNOGLOBULINE: in particolare si tratta di molecole proteiche, IDENTIFICABILI TRAMITE ANTICORPI ANTI IMMUNOGLOBULINE, caratterizzate da una struttura ad anse. A livello sperimentale non fu semplice comprendere quale fosse la struttura dei recettori dei linfociti T: questo è divenuto possibile negli ultimi 30 anni grazie alla costruzione di ANTICORPI MONOCLONALI estremamente specifici; tali anticorpi CONSENTIRONO DI SCOPRIRE MOLECOLE NUOVE SPECIFICHE ED ESTREMAMENTE SELETTIVE oggi note come TCR o T CELL RECEPTORS; tali molecole:

- sono ETERODIMERI.
- presentano peso molecolare intorno ai 42 kD per monomero.
- i due monomeri FANNO PARTE DELLA SUPERFAMIGLIA DELLE IMMUNOGLOBULINE: presentano infatti due anse costituite di 110 amminoacidi.
- presentano una struttura ancorata alla membrana con un dominio intracellulare molto limitato rispetto a quello extracellulare; si tratta prevalentemente di una coda idrofobica che risulta però associata ad alcuni amminoacidi carichi positivamente rivolti verso la parte idrofilica della membrana:
 - lisina per la catena alfa.
 - Lisina e arginina per la catena beta.
- le due catene alfa e beta sono CODIFICATE DA CROMOSOMI DIVERSI che estremamente ETEROGENEI ANCHE DAL PUNTO DI VISTA ALLELICO, in particolare:
 - le catene alfa sono codificate sul cromosoma 14.
 - le catene beta sono codificate sul cromosoma 7.
- Strutturalmente queste molecole devono essere in grado di riconoscere diverse componenti esogene e in particolare sono costituite di:
 - UNA COMPONENTE FISSA detta v che non cambia mai.
 - UNA COMPONENTE VARIABILE detta c, estremamente mutevole, che è la parte sensibile della molecola.
- La capacità di costruire una tale varietà di strutture recettoriali è la seguente:
 - un solo gene codifica per la parte costante.
 - moltissimi geni, dalla elevatissima eterogeneità allelica, codificano per la parte variabile.
- su uno stesso gene viene montata una diversità enorme di molecole proteiche, si parla di milioni di geni.

I LINFOCITI T gamma-delta sono linfociti che presentano un TCR differente, costituito di due monomeri gamma e delta: anche in questo caso i cromosomi sono gli stessi, 14 e 7, e la molecola recettoriale è costituita sulla stessa base, nello stesso modo. La funzione di questo tipo di cellule non è ancora nota, in ogni caso è importante sottolineare il fatto che il 95% dei LINFOCITI È DI TIPO T alfa beta. Alcune funzioni ipotizzate sono:

- queste molecole potrebbero essere un anello di contatto tra la difesa immunitaria innata e quella acquisita.
- Potrebbero essere un presidio linfocitico per il riconoscimento degli antigeni incontrati più di frequente.



A prescindere da quale sia il recettore, la parte VARIABILE sarà la parte sensibile della molecola e l'epitopo andrà ad inserirsi tra di esse.

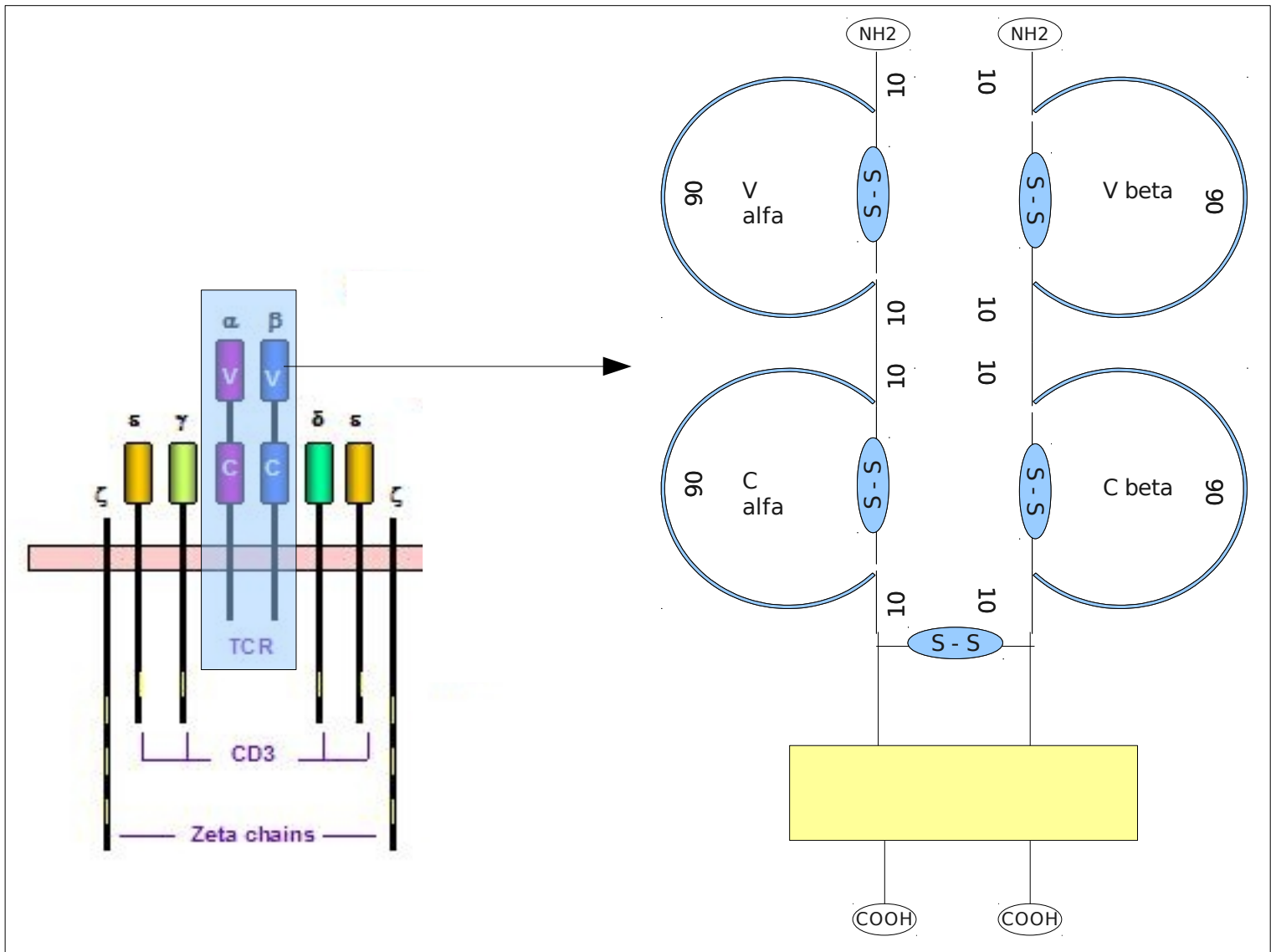
LA TRASDUZIONE DEL SEGNALE:

Al dominio INTRACELLULARE corrisponde chiaramente il compito di trasmettere lo stimolo proliferativo: il DOMINIO INTRACELLULARE del recettore È tuttavia TROPPO CORTO per svolgere questo compito che viene affidato infatti AI CORECETTORI. I corecettori sono una serie di molecole, che complessivamente portano la sigla CD3; tali molecole:

- sono COMPOSTE DI TRE MONOMERI detti GAMMA EPSILON E DELTA.
- NON prendono contatto con l'antigene.
- SONO IN STRETTA RELAZIONE CON IL TCR e cooperano con esso trasducendo il segnale.
- nel DOMINIO INTRACELLULARE tali molecole presentano un particolare dominio che consente la comunicazione costituito di circa 48-81 amminoacidi.
- SONO STRUTTURATE IN COPPIE in particolare risultano tra loro associate subunità epsilon-delta epsilon-gamma.

a questa categoria APPARTENGONO ANCHE ALTRE MOLECOLE che non fanno parte della classe delle molecole CD, tali molecole:

- presentano un dominio intracellulare molto PIÙ AMPIO che va allungandosi nelle classi ETA E ZETA; la catena zeta sappiamo presenta un dominio intracellulare di 113 amminoacidi.
- senza questo tipo di molecola NON È POSSIBILE LA TRASMISSIONE INTRACELLULARE DEL SEGNALE, sono CRITICHE, la parte più critica è la CATENA ZETA.
- sono organizzati in COPPIE in particolare possono formare coppie zeta-zeta o eta-zeta.



Complessivamente il complesso CORECETTORIALE è associato a livello intracellulare a SEQUENZE DETTE ITAM o immunoreceptor tyrosine based activation motif: si tratta di

sequenze sensibili alla fosforilazione ed essenziali alla attivazione del segnale intracellulare.

La esposizione di questo complesso avviene in un'unica fase: non viene infatti esposto sulla membrana se prima non è stato completamente assemblato.

IL B CELL RECEPTOR:

Si tratta di una molecola recettoriale che si trova sulla membrana dei LINFOCITI B che consente agli stessi di INDIVIDUARE L'ANTIGENE ESPOSTO e di PRODURRE ANTICORPI AD ESSO ADEGUATI; una volta attivate queste cellule, per poter agire, devono:

- moltiplicarsi.
- maturare.
- produrre anticorpi.

questo recettore è costituito in modo simile al TCR ma si discosta dallo stesso in quanto:

- è molto più grande del TCR.
- è simile alle immunoglobuline solubili anticorpali.
- anche in questo caso IL DOMINIO INTRACELLULARE È MOLTO BREVE e questo presuppone una incapacità di trasmettere il segnale, sono necessari quindi dei CORECETTORI; questi:
 - disposti a corona intorno al recettore.
 - sono composti di due catene:
 - Ig alfa.
 - Ig beta.

sono fisicamente vicini al recettore e presentano un grande dominio intracellulare che rende possibile la attivazione della trascrizione a livello nucleare.

IL LINFOCITA B, una volta attivato, dovrà trasformarsi in un'altra cellula che assume il nome di PLASMACELLULA: LA PLASMACELLULA è la cellula deputata a produrre e secernere una grande quantità di immunoglobuline solubili nel plasma, gli ANTICORPI. Rispetto ad un classico linfocita B, tale cellula:

- presenta un nucleo decentrato.
- ha una dimensione decisamente maggiore.
- presenta un livello di sintesi proteica molto elevato.
- si trova soprattutto NEGLI ORGANI LINFOIDI dove avviene la risposta immunitaria.

LE IMMUNOGLOBULINE O ANTICORPI:

sono gli effettori finali della risposta immunitaria specifica UMORALE; si tratta di:

- proteine multimeriche composte di quattro catene:
 - ◆ due catene leggere.
 - ◆ due catene pesanti.
- possono essere CIRCOLANTI O ASSOCIATE ALLA MEMBRANA DEI LINFOCITI B come visto in precedenza.
- già all'inizio del 1900⁹ era nota la presenza nel sangue di sostanze capaci di:
 - ◆ precipitare tossine batteriche.
 - ◆ agglutinare batteri.

venne quindi coniata una prima definizione: gli anticorpi vennero definiti sostanze capaci di interagire in modo specifico con batteri ed agenti esogeni.

LA SCOPERTA DEGLI ANTICORPI:

Alla base delle nostre attuali conoscenze relativamente a questo tipo di molecole ci sono

⁹ vennero definite in modo molto diverso: antitossina, agglutinina, precipitina.

osservazioni sperimentali molto importanti.

EMIL VON BERING:

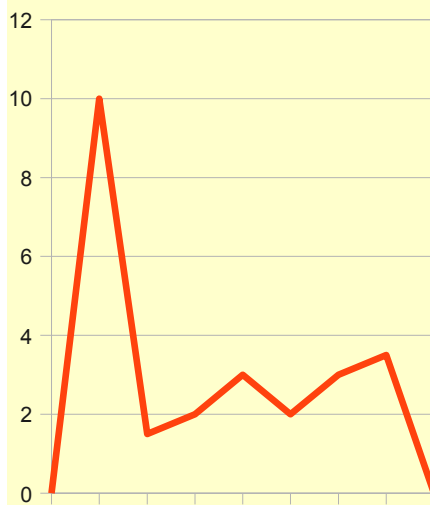
Lo studioso, immunizzando dei conigli tramite inoculazione di tossina tetanica e trasferendo il sangue immunizzato ad un altro coniglio, scoprì che il secondo animale ne risultava a sua volta immunizzato.

EMILE ROUX:

fu il primo a sperimentare l'efficacia del siero immunizzato direttamente sull'uomo, in particolare contro il bacillo difterico.

TISELIUS E KABAT:

questi due ricercatori, nel 1939, misero a punto un metodo per separare diverse proteine del siero, la **ELETTROFORESI SU CARTA**: attraverso tale sistema è possibile separare le proteine del siero sulla base del loro **PESO MOLECOLARE** e della **CARICA**. Complessivamente, eseguendo tale operazione su un soggetto sano, otteniamo un grafico di questo tipo:



dove chiaramente:

- in **ASCISSA** troviamo la posizione delle bande.
- In **ORDINATA** troviamo il valore della assorbanza.

Tale risultato è ottenibile unicamente tramite l'utilizzo di un spettrodensitometro capace di determinare la densità di una parte del campione elettroforetico traducendola in colore.

È possibile a questo punto valutare quali siano le proteine chiave nei processi dell'immunità: in particolare si determinò che a seguito della **IMMUNIZZAZIONE DI UN ANIMALE** le **GAMMA GLOBULINE AUMENTAVANO IN MODO MOLTO CONSISTENTE**. A dimostrazione di questa tesi si decise di **INCUBARE LE GAMMA GLOBULINE CON L'ANTIGENE** che LE AVEVA GENERATE, in tal caso oovalbumina, scoprendo che LA **RELAZIONE È ESTREMAMENTE SPECIFICA** tanto che con le albumine migrano sulla piastra elettroforetica, in quanto associati strettamente

ad esse, anche gli anticorpi.

Con il tempo si rese necessario incrementare la sensibilità di questo tipo di processo soprattutto ricercando dei mezzi capaci di isolare le proteine mantenendo intatta la loro funzionalità, cosa che la elettroforesi non può fare: oggi sappiamo che gli anticorpi possono essere separati sulla base del loro peso molecolare, in particolare le nostre immunoglobuline hanno un **COEFFICIENTE DI SEDIMENTAZIONE DI TIPO C** corrispondente ad un peso molecolare di circa 150kD.

RODNEY, PORTER, GERALD ed EDELMANN:

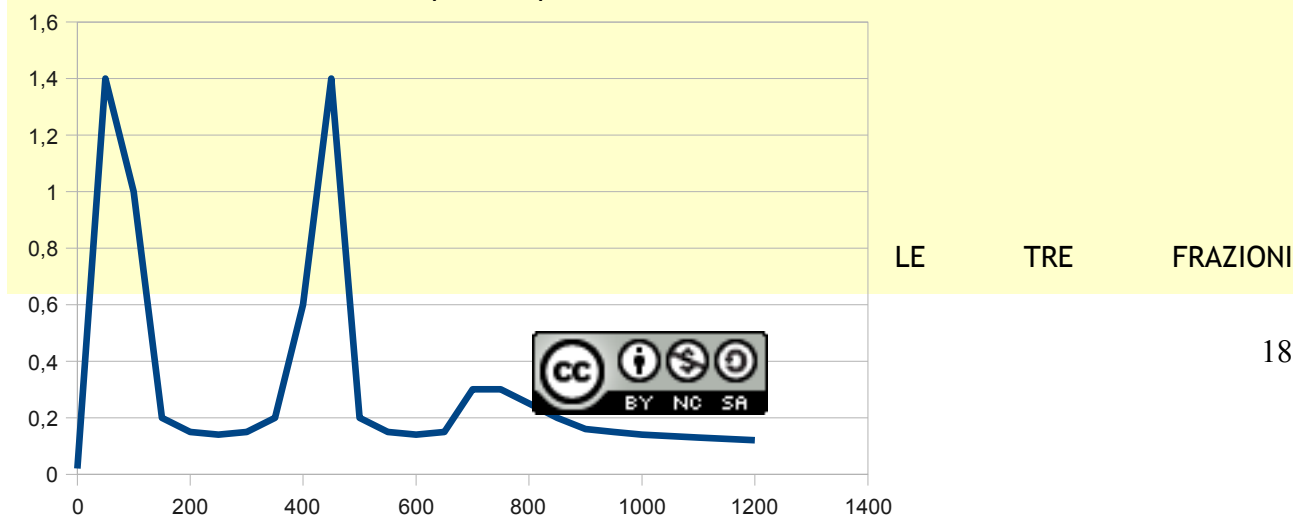
i quattro ricercatori studiarono la reazione degli anticorpi con enzimi di tipo proteolitico nel tentativo di determinare la loro struttura molecolare.

LA DIGESTIONE CON PAPAINA:

i ricercatori decisero di utilizzare un enzima proteolitico derivato dalla papaya in questo modo:

- si digerisce la proteina con **PAPINA**.
- si esegue una **PURIFICAZIONE CON UNA RESINA A SCAMBIO ANIONICO** che consente di separare i frammenti in base alla loro carica.

Si ottiene infine un risultato di questo tipo:



DIFFERISCONO IN MODO SIGNIFICATIVO TRA LORO:

- la prima frazione e la seconda sono ancora capaci di legare l'antigene: si parla di fragment antigen binding o FAB.
- la terza frazione invece tende a cristallizzare in situazioni di bassa forza ionica e pH neutro: si parla di Fc frammento che cristallizza.

A livello strutturale possiamo dire che le tre frazioni coincidono con le tre componenti funzionali della molecola: le due parti superiori e la parte inferiore.

DIGESTIONE CON PEPSINA:

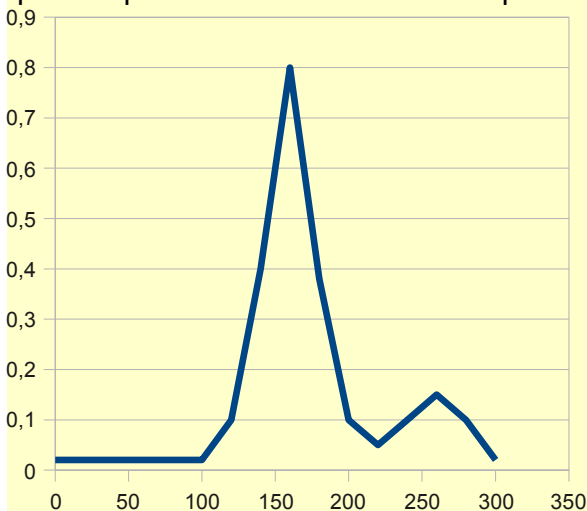
A seguito di tale digestione si ottiene un unico frammento che presenta di fatto un peso di un terzo inferiore rispetto alla molecola originale. Tale frammento, se esposto ad antigeni, si associa ad essi: la funzione della immunoglobulina è quindi intatta. Tale frazione venne definita F(ab')₂.

A livello molecolare sappiamo che la PEPSINA agisce sulla parte inferiore della immunoglobulina recidendola in più punti.

A partire da questi modelli sperimentali è stato possibile determinare un modello di anticorpo che prevede:

- due parti capaci di legare l'antigene.
- una parte incapace di legare l'antigene.

Si decise quindi di trattare la immunoglobulina con processi di RIDUZIONE E ALCHILAZIONE funzionali alla rottura dei ponti disolfuro: tale processo dovrebbe consentire di dividere le subunità della struttura della molecola proteica. Complessivamente con una operazione di questo tipo si ottiene un risultato di questo genere:



catena leggera.

inoltre possiamo dire che SONO PRESENTI NUMEROSI PONTI DISOLFURO che tengono insieme le quattro catene descritte in precedenza.

RODNEY PORTER:

Tale ricercatore riuscì a determinare come fossero associati i frammenti studiati in precedenza tramite la creazione di anticorpi specifici per le parti isolate della proteina:

- iniettò FAB e l'animale produsse anticorpi sia contro le subunità pesanti sia contro le subunità leggere.
- iniettò FC e l'animale produsse unicamente anticorpi contro le catene pesanti.

BENCE:

Questo studioso si occupò di pazienti affetti da MIELOMA MULTIPLA: gli affetti da tale patologia presentano delle plasmacellule che producono anticorpi continuamente, in particolare si tratta di complessi proteici dal peso molecolare minore di 65000 kD, tali proteine vengono escrete ed è possibile, quindi, SEQUENZIARLE. Il ricercatore studiò anticorpi di diversi pazienti ottenendo

complessivamente si può quindi intuire che la molecola sia formata di:

- due catene da 50kD dette H o pesanti composte di QUATTRO DOMINI IMMUNOGLOBULINICI:
 - VH che costituisce la parte variabile della catena pesante.
 - CH 1-2-3 che costituiscono la parte fissa della catena pesante.
- due catene da 25kD dette L o leggere composte di DUE DOMINI IMMUNOGLOBULINICI:
 - VL che costituisce la parte variabile della catena leggera.
 - CL che costituisce la parte fissa della

un risultato di questo tipo:

- in particolare scoprì che LE CATENE LEGGERE VARIANO IN MODO SENSIBILE e unicamente nella loro estremità AMMINICA; complessivamente tali catene sono classificate in due categorie:
 - KAPPA che si trovano nel 60% degli anticorpi.
 - LAMBDA che si trovano nel 40% degli anticorpi.
 - Analizzando le CATENE PESANTI in modo analogo alle catene leggere scoprì che anche queste sono particolarmente variabili e le classificò in cinque categorie:
 - GAMMA.
 - MI.
 - ALFA.
 - EPSILON.
 - DELTA.
- a peso molecolare differente.

Fondamentalmente oggi sappiamo che un anticorpo:

- presenta una forma ad Y.
- È costituito di quattro catene peptidiche a due due uguali e dette:
 - catene leggere, di tipo kappa e lambda.
 - Catene pesanti, di tipo gamma, mi, alfa, epsilon, delta.

Tali catene sono associate tra loro secondo la struttura riportata a lato e sono tenute unite dalla presenza di numerosi ponti solfuro; contribuiscono alla stabilizzazione della molecola legami non covalenti. Tra le diverse classi di immunoglobuline possiamo riconoscere delle differenze a livello della localizzazione dei ponti solfuro.

Sulla base della natura della catena pesante si possono classificare le MOLECOLE ANTICORPALI in cinque CLASSI:

- G con catena pesante gamma; queste catene presentano tra loro delle piccole differenze, in particolare riconosciamo quattro sottoclassi:
 - gamma1.
 - Gamma2.
 - Gamma3.
 - Gamma4.
- M con catena pesante mi.
- A con catena pesante alfa che a sua volta possono essere classificate in due sottoclassi:
 - alfa1
 - alfa2
- E con catena pesante epsilon.
- D con catena pesante delta.

naturalmente tutte queste catene pesanti POSSONO ESSERE ASSOCIATE A CATENE LEGGERE KAPPA o LAMBDA indifferentemente.

IL SITO DI LEGAME PER L'ANTIGENE:

complessivamente un dominio di tipo immunoglobulinico associato alla percezione dell'antigene risulta costituito di due strati di beta foglietto ognuno dei quali costituito di 3/5 strand in parallelo tra loro. Ciascun sito di legame si divide in una regione IPERVARIABILE e una REGIONE CORNICE.

LA REGIONE IPERVARIABILE:



si tratta della tasca che viene a crearsi tra le sequenze di WH e WL, le parti variabili delle due catene; a questo livello viene a formarsi una **RELAZIONE MOLTO STRETTA TRA EPITOPO E SITO DI LEGAME**, distinguiamo in particolare tre regioni dette complementary-determining regions o CDR:

- CDR1.
- CDR2.
- CDR3: si tratta generalmente della regione più variabile e coinvolta in modo stretto nel legame con l'antigene.

Non sempre tutte queste regioni sono coinvolte nel legare l'antigene. Strutturalmente queste regioni sono strutturalmente:

- LOOP che tengono uniti i foglietti beta del dominio.
- Sequenze di circa 10 amminoacidi.

Che prendono contatto con l'antigene.

LA REGIONE CORNICE:

Le regioni che circondano tali CDR sono invece meno variabili e vengono dette **REGIONI CORNICE** e svolgono un ruolo essenziale nel mantenere stabile il complesso antigene-anticorpo.

LA REGIONE CERNIERA è la regione che si colloca tra i due gruppi di siti sensibili: l'elasticità di tale zona consente la **ASSOCIAZIONE DEI DUE SITI SENSIBILI DELLA MOLECOLA A DIVERSI ANTIGENI ESPOSTI DA UNA SOLA CELLULA** formando angoli di diversa apertura.

Non tutte le immunoglobuline presentano tale cerniera, in particolare ricordiamo che:

- le immunoglobuline IgA, IgD, IgG presentano una regione CERNIERA che risulta variabile da 10 a 60 amminoacidi nei diversi isotipi.
- Le immunoglobuline IgE, IgM presentano invece un dominio aggiuntivo sostitutivo che **LE RENDE MENO ELASTICHE**.

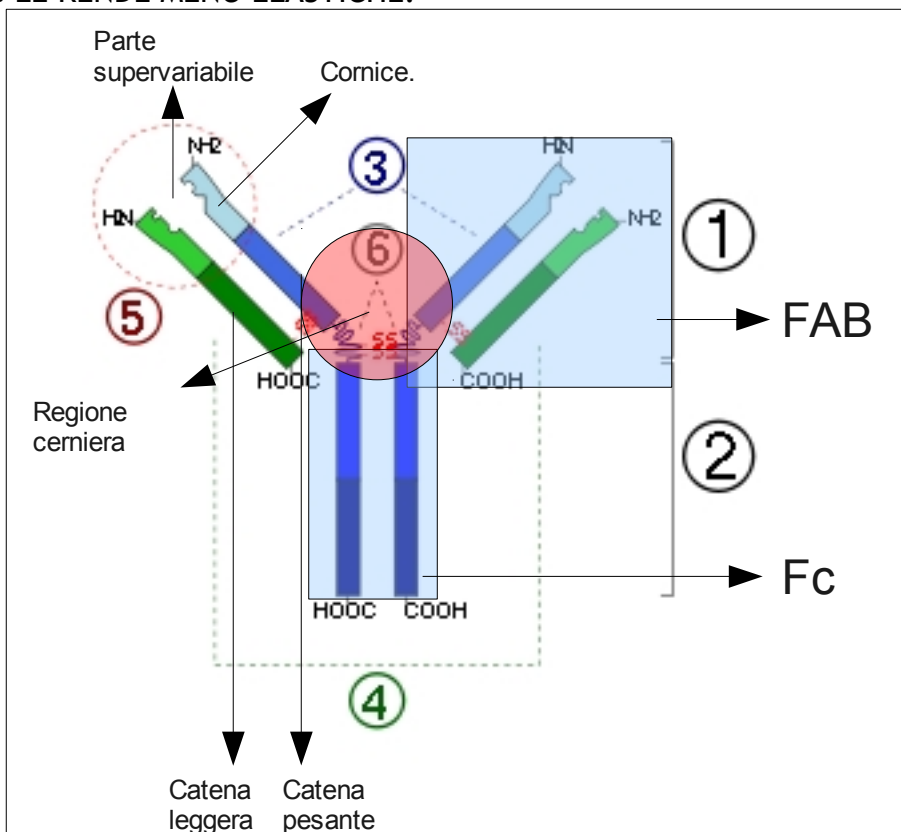


immagine tratta e modificata da wikipedia

IL FRAMMENTO FC E I SUOI RECETTORI:

si tratta di quel frammento che SI OCCUPA DI GENERARE LA RISPOSTA CELLULARE al contatto con l'antigene, in particolare determina:

- **FISSAZIONE DEL COMPLEMENTO:** a seconda della immunoglobulina prodotta questa sarà più o meno capace di fissare molecole del complemento che possono portare alla lisi della cellula bersaglio.
- **OPSONIZZAZIONE:** permette cioè al fagocita di FAGOCITARE LA CELLULA BERSAGLIO.
- **CITOTSSICITÀ ANTICORPO DIPENDENTE:** gli anticorpi rendono riconoscibili gli antigeni a cellule come:
 - LE CELLULE NK che distruggono cellule infette da infezioni virali o alterate.
 - GLI EOSINOFILI che con la loro degranolazione attaccano soprattutto i parassiti.

I RECETTORI FC DEI LEUCOCITI:

si tratta dei recettori che consentono il riconoscimento degli anticorpi da parte dei leucociti; tali recettori:

- **RICONOSCONO LA COMPONENTE Fc** delle immunoglobuline e si dividono in tre categorie principali:
 - CD16 a bassa affinità.
 - CD32 a bassa affinità.
 - CD64 ad alta affinità.
- sono presenti unicamente per le immunoglobuline di tipo IgG IgE IgA.
- si trovano su:
 - fagociti sui quali si trovano tutte le tre categorie di CD.
 - cellule NK, in particolare il CD16.
- le IgE presentano inoltre due diverse tipologie di recettori:
 - AD ALTA AFFINITÀ che si collocano su Mastociti, Basofili ed Eosinofili.
 - A BASSA AFFINITÀ che si collocano su Linfociti B, eosinofili e cellule di Langherans.
- le IgA presentano recettori a BASSA AFFINITÀ presenti sui NEUTROFILI, EOSINOFILI E MONOCITI.

LE IgG SONO DI FATTO LE IMMUNOGLOBULINE ANTICORPALI CHE SVOLGONO LA MAGGIOR PARTE DELLE FUNZIONI DI MEDIAZIONE in quanto vengono riconosciute da moltissime cellule. Le IgM, al contrario, non presentano recettori.

LA TRASDUZIONE DEL SEGNALE:

la trasduzione del segnale innescato dal legame con l'anticorpo è legata al fatto che TUTTI QUESTI RECETTORI presentano o delle sequenze ITAM a livello intracellulare, capaci di ATTIVARE LA CELLULA, o delle sequenze ITIM, capaci di inibire la attività cellulare, in particolare:

- CD32 associato ad ITAM stimola la fagocitosi da parte dei fagociti.
- CD32 associato ad ITIM inibisce la attività dei linfociti B e la produzione di immunoglobuline.

Le associazioni quindi tra dominio recettoriale e trasduttore non sono esclusive ovviamente.



LE DIVERSE IMMUNOGLOBULINE:

come abbiamo visto tra i diversi individui si possono individuare chiaramente differenti immunoglobuline e si riscontra una grande varietà di queste molecole anche in uno stesso individuo. La diversità strutturale di queste molecole è stata studiata soprattutto:

- tramite l'utilizzo di agenti riducenti.
- tramite l'utilizzo di anticorpi prodotti da animali.

Ad oggi sappiamo che le catene pesanti e leggere di un individuo, se iniettate in un altro, non generano fenomeni di RISPOSTA IMMUNITARIA di nessun tipo, mentre inserendo tali immunoglobuline o parti delle stesse in altre specie, si ottiene una risposta: questo è dovuto al fatto che, chiaramente, ci sono delle differenze più o meno notevoli tra le immunoglobuline delle diverse specie.

LE CATENE LEGGERE:

Basandosi sulla possibilità di creare anticorpi per immunoglobuline umane nei conigli o altri animali, si scoprì che le NOSTRE CATENE LEGGERE DIFFERISCONO TRA LORO e che sono suddivisibili in particolare in due categorie:

- KAPPA presente nel 60% delle immunoglobuline del nostro organismo.
- LAMBDA presente nel 40% delle immunoglobuline del nostro organismo.

naturalmente una stessa immunoglobulina presenta o due catene kappa, o due catene lambda, non sono possibili forme miste da questo punto di vista.

LE CATENE PESANTI:

È possibile analizzare in modo ANALOGO le CATENE PESANTI; ad oggi sappiamo che le catene pesanti sono classificabili in cinque classi:

- alfa a loro volta classificabili in:
 - alfa1.
 - Alfa2.
- epsilon.
- mi.
- delta.
- Gamma a loro volta classificabili in:
 - gamma1.
 - gamma2
 - gamma3.
 - gamma4.

COMPLESSIVAMENTE quindi noi possediamo una serie di immunoglobuline che possono portare catene pesanti di cinque tipi e catene leggere di due tipi: per quanto riguarda l'espressione di questo tipo di molecole è importante sottolineare il fatto che non vi sono differenze di espressione tra le diverse razze o popolazioni umane. Si tratta di ISOTIPI O MARKERS ISOTIPICI: si tratta di markers antigenici che ci consentono di individuare specificità legate ad una specie animale o vegetale che sia.

LE IgG:

si tratta delle immunoglobuline in assoluto più espresse nel nostro corpo, in particolare le loro concentrazioni nel plasma vanno da:

- 8 mg/ml.
- 14 mg/ml.

rispetto ad una concentrazione complessiva delle proteine nel plasma di 70mg/ml; si tratta della seconda classe proteica più rappresentata nel plasma dopo le albumine che si collocano intorno a 42mg/ml. La presenza di un range di concentrazione è legata,

ovviamente, a diversità personali legate molto spesso a modificazioni fisiologiche. Queste molecole:

- sono **BIVALENTI** in quanto presentano due braccia e possono tramite esse riconoscere tipicamente due antigeni uguali.
- presentano un peso molecolare complessivo di 150 kD suddivisi in:
 - due catene leggere da 25 kD.
 - due catene pesanti da 50 kD.
- presentano una componente **GLUCIDICA** che si colloca principalmente a livello del **FRAMMENTO Fc ASSOCIATO ALLA SECONDA ANSA DELLA CATENA PESANTE**; strutturalmente il 2-3% della molecola è costituito di glucidi.
- **A LIVELLO DI CONCENTRAZIONE** ricordiamo che:
 - 1/3 di queste molecole si colloca **AL DI FUORI DEL TORRENTE CIRCOLATORIO**: tali molecole sono essenziali nella loro funzione di prima barriera contro le invasioni batteriche.
 - 2/3 di queste molecole si collocano **NEL TORRENTE CIRCOLATORIO**.
- **QUESTE MOLECOLE POSSONO INOLTRE PASSARE ATTRAVERSO LA PLACENTA**:
 - difendendo il feto dalle invasioni.
 - Formando le prime difese immunitarie del neonato che vive per i primi tre mesi di vita dagli anticorpi materni.
- tali immunoglobuline **PRESENTANO UNA EMIVITA DI TRE SETTIMANE**, e sono in assoluto le più efficaci a livello terapeutico proprio per questo: nel trattamento di pazienti affetti da incapacità di produrre anticorpi, si utilizza questo tipo di molecole.
- Esistono naturalmente delle **IMMUNOGLOBULINE AUTOIMMUNI**: tali immunoglobuline riconoscono in modo erroneo molecole presenti nel nostro corpo. Tali patologie si curano tramite **PLASMA EXCHANGE** cioè procedure di sostituzione del plasma: tale trattamento funziona solo parzialmente in quanto **I DUE TERZI DI IgG CHE SI TROVANO NEI TESSUTI TORNANO NEL PLASMA PURIFICATO**.
- il **FRAMMENTO Fc È ESSENZIALE PER LA AZIONE DIFENSIVA DELLA MOLECOLA**, in particolare due sono i frammenti attivi:
 - Cgamma2, che si colloca sul frammento Fc; la sua azione è quella di **ATTIVARE IL COMPLEMENTO**.
 - Cgamma2 e Cgamma3 che insieme **STIMOLANO I RECETTORI DI MACROFAGI E FAGOCITI IN GENERALE**.

Questo frammento consente inoltre:

- il passaggio delle immunoglobuline attraverso l'endotelio.
- il passaggio delle immunoglobuline attraverso la placenta.

ESISTONO TRE TIPI DI RECETTORI CELLULARI per le gamma globuline:

- **CD64** che presenta una elevata affinità: tali recettori sono capaci di riconoscere le immunoglobuline **LIBERE** da antigene. Questo tipo di recettore è **ESSENZIALE PER LA ELIMINAZIONE DELLE IMMUNOGLOBULINE INVECCHiate** da parte di **MACROFAGI**.
- **CD16 e 32** che presentano invece una bassa affinità: tali recettori sono capaci di vedere le immunoglobuline unicamente se **LEGATE ALL'ANTIGENE**. Questo recettore presenta una azione ovviamente molto importante nella stimolazione della attività fagocitica cellulare.

Il recettore CD16 può inoltre:



- essere associato anche a cellule NK.
- essere associato a LINFOCITI B.
- con funzioni diverse.

LE SOTTOCLASSI DELLE IMMUNOGLOBULINE G:

si tratta di quattro sottoclassi fondamentalmente differenti in maniera minima a livello strutturale; tali sottoclassi differiscono tra loro a livello funzionale:

- IgG1 → 66%.
- IgG2 → 23%.
- IgG3 → 7%.
- IgG4 → 4%. Tali immunoglobuline sono prodotte preferenzialmente:
 - nelle parassitosi.
 - nelle allergie.

Tali sottoclassi a livello funzionale differiscono tra loro per la diversa capacità attivatoria rispetto a al COMPLEMENTO e affinità AI RECETTORI SOPRA DESCRITTI

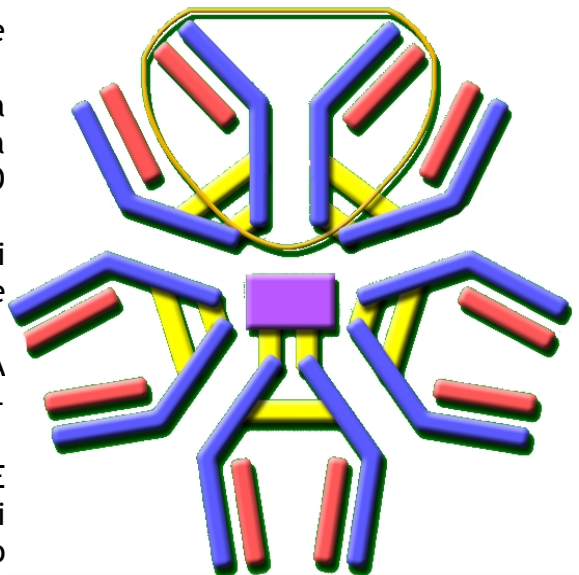
LE IgM:

le IgM presentano una forma stellata, e non a forma a Y come le IgG; tali molecole:

- sono teoricamente decavalenti: presentano cinque subunità capaci di riconoscere uno stesso tipo di antigene; la complessità della molecola e la sua dimensione tuttavia la rende PENTAVALENTE nella realtà dei fatti e le da una CERTA INSTABILITÀ nel legame con GLI ANTIGENI.
- I cinque monomeri sono tenuti insieme da UNA CATENA J di circa 15.000 DALTON che unifica tutta la molecola.
- LA STRUTTURA DELLE SINGOLE UNITÀ è identica a quelle delle IgG o ne differisce in maniera minima; distinguiamo infatti:
 - CATENE LEGGERE che possono sempre essere di tipo kappa e lambda.
 - CATENE PESANTI dal peso non di 50 ma di 70kD: questa differenza è dovuta alla presenza di un EXTRADOMINIO IMMUNOGLOBULINICO detto C μ x4.

Il peso molecolare complessivo diviene di circa 900kD e per questo tali molecole vengono dette MACROIMMUNOGLOBULINE.

- presentano una CONCENTRAZIONE SIERICA di circa un quinto rispetto alle IgG: 1,5-2mg/ml circa.
- tali molecole si TROVANO ESCLUSIVAMENTE IN CIRCOLO, non presentano capacità di attraversare né la placenta né l'endotelio dei vasi sanguiferi, a meno che, ovviamente, non siano presenti alterazioni delle barriere in questione.
- presentano una EMIVITA di circa 4-5 giorni e questo le rende inadatte a terapie di natura immunologica.
- circa il 2-3% della struttura molecolare presenta natura saccardica.
- Il frammento Fc PRESENTA chiaramente anche in questo caso DELLE FUNZIONI EFFETTRICI:
 - NON ESISTONO RECETTORI Fc A LIVELLO DEI FAGOCITI, quindi tali



immunoglobuline non hanno potere opsonizzante.

- PRESENTANO CAPACITÀ ATTIVATORIA SUL COMPLEMENTO.

IgA:

le IgA sono delle immunoglobuline particolari, possono infatti essere presenti in due forme differenti, mono e dimerica; complessivamente ricordiamo che:

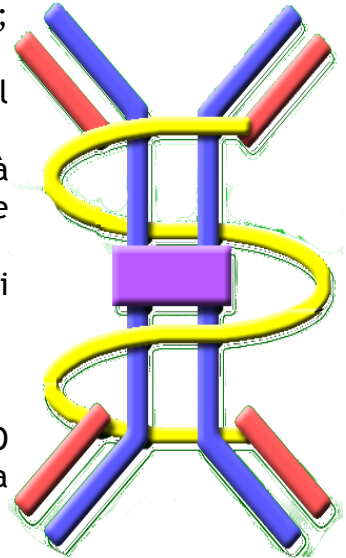
- hanno una concentrazione di circa 1,5-2 mg/ml nel plasma.
- sono presenti unicamente per 1/5 della loro quantità totale nel torrente circolatorio, la maggior parte di queste molecole si trova a livello delle mucose.
- Strutturalmente sono SIMILI ALLE IgG, risultano infatti costituite di quattro catene:
 - 2 PESANTI.
 - 2 LEGGERE.

presentano un peso molecole LIEVEMENTE PIÙ ELEVATO rispetto alle IgG e pari a 180kD: tale differenza è legata alla presenza di una maggiore quantità di GLUCIDI.

- Sono presenti nel nostro corpo in due forme:
 - MONOMERICHE circolanti.
 - DIMERICHE costituite di due monomeri associati coda-coda e fissati tramite la presenza di una proteina J di giunzione.
- La loro azione plasmatica è minima:
 - non hanno capacità opsonizzante.
 - non attivano il complemento.
- le IgA si trovano principalmente nelle MUCOSE dove formano UN IMMUNE BLANCKETT, un enorme tappeto protettivo che riveste tutta la mucosa.
- le IgA circolanti presentano una emivita molto bassa, 2-3 giorni; non possiamo determinare quale sia l'emivita delle stesse molecole nelle mucose, ma si ritiene sia simile.
- SONO PRODOTTE DIRETTAMENTE A LIVELLO DELLA MUCOSA: qualunque mucosa, soprattutto quella intestinale, è strettamente associata al tessuto linfoide così organizzato:
 - la componente cellulare si colloca immersa nel tessuto connettivo sottostante la barriera epiteliale ed è composta principalmente di LINFOCITI B che producono IgA dimeriche.
 - La componente anticorpale si colloca a livello della superficie della mucosa ed è composta principalmente di IgA.

Le molecole prodotte al di sotto della barriera epiteliale devono poi oltrepassare tale barriera per poi associarsi alla mucosa superficiale. Il passaggio avviene in questo modo:

- la CELLULA EPITELIALE riconosce a livello del dominio basale la IgA e la LEGA, presenta infatti un recettore ad alta affinità.
- IL COMPLESSO VIENE INTERNALIZZATO.
- ATTRAVERSA LA CELLULA EPITELIALE in una vescicola: all'interno della vescicola degli ENZIMI attaccano il recettore formando:



- una parte che viene eliminata.
- una parte che resta associata alla molecola e ne costituisce il cosiddetto NASTRO SECRETORIO che si pone come una serpentina intorno alla struttura del dimero.

LA CELLULA EPITELIALE secerne quindi la IgA all'esterno.

- LE IgA CI DEVONO PROTEGGERE DA AGENTI POTENZIALMENTE PATOGENI CHE ARRIVANO DALL'ESTERNO e svolgono la loro azione:
 - associandosi all'agente esogeno.
 - impedendone l'ingresso:
 - BLOCCANDO I MECCANISMI DI ADESIONE ALLE MUCOSE.
 - AGGREGANDO PIÙ BATTERI E FORMANDO COMPLESSI CHE POSSONO ESSERE ELIMINATI dai SISTEMI DI DIFESA NORMALI quali ciglia, peli e molto altro.

LE SOTTOCLASSI DELLE IMMUNOGLOBULINE A:

Le sottoclassi sono in questo caso due: differiscono tra loro per LA DIVERSA ELASTICITÀ E DIMENSIONE DELLA ZONA CERNIERA, in particolare:

- la IgA2 presenta una zona cerniera più piccola di 20 amminoacidi rispetto alla IgA1 e presenta una minore elasticità.
- La IgA1 presenta invece una zona cerniera più grande e quindi maggiormente elastica.

Un individuo può produrre solo uno di questi due tipi di IgA e in modo esclusivo; ALCUNI BATTERI sono capaci di creare molecole CHE ATTACCANO GLI ANTICORPI IgA tramite enzimi: in virtù della loro conformazione meno elastica le IgA2 sono meno vulnerabili. Il nastro secretorio protegge inoltre la molecola dall'attacco di enzimi proteolitici batterici. Batteri che presentano tale abilità sono per esempio patogeni CHE CAUSANO LA MENINGITE.

IgD:

tali molecole

- sono PREVALENTEMENTE ESPRESSE A LIVELLO DELLE SUPERFICI CELLULARI.
- Si trovano nel sangue a concentrazioni nell'ordine di MICROGRAMMI per millilitro di plasma.
- strutturalmente sono identiche alle IgG, hanno un peso molecolare lievemente maggiore dovuto alla presenza di ZUCCHERI utili a garantire la adesione con le cellule linfocitarie.

IgE:

sono ancora meno presenti delle IgM:

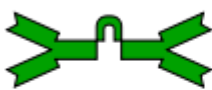
- sono presenti nel plasma con ordini di concentrazione di nanogrammi.
- presentano un EXTRADOMINIO come le IgM, il loro peso è quindi maggiore a quello delle IgG.
- presentano una CITOFILIA molto consistente e presentano dei recettori SPECIFICI.
- pur essendo così poco rappresentate sono gli anticorpi delle ALLERGIE.

immunoglobulina		concentrazione nel plasma	struttura	funzione	peso molecolare	emivita
IgG		8-14 mg/ml	monomerica	opsonizzanti e attivanti il complemento	150kD	più di 7gg
	IgG1	66,00%				
	IgG2	23,00%				
	IgG3	7,00%				
	IgG4	4,00%				
IgM		1,5-2 mg/ml	pentamerica	attivanti il complemento	180kD * 5 = 900kD	4-5gg
IgA		1,5-2 mg/ml	monomerica o dimerica	difesa delle mucose	180kD * 2 = 360kD	
	IgA1		cerniera più elastica			
	IgA2		cerniera meno elastica			
IgD		microgrammi	monomerica			
IgE		nanogrammi	monomerica			

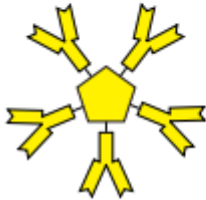


Monomer
IgD, IgE, IgG

Complessivamente un uomo di 70kg produce circa 2-3g di anticorpi al giorno, di questi circa 2/3 sono IgA prodotte a livello delle mucose.



Dimer
IgA



Pentamer
IgM

© Corrado Baranelli 2015

DIFFERENZA TRA IMMUNOGLOBULINE SOLUBILI E DI MEMBRANA:

si tratta chiaramente di molecole differenti, infatti:

- La forma **POSTA SULLA MEMBRANA** presenta alcuni amminoacidi in più di natura **IDROFOBICA** che ancorano le molecole alla membrana. In particolare
 - per le IgM e le IgD è molto corto, unicamente tre amminoacidi a carica positiva.
 - Per le IgG e le IgE è più lungo, ben trenta amminoacidi alla base dei quali si colloca sempre una tripletta di amminoacidi carichi positivamente.
- Le due forme vengono **SINTETIZZATE** da uno stesso **CROMOSOMA** per **SPLICING ALTERNATIVO**, varia quindi l'RNA ma non il gene di base.
- a livello della membrana i rapporti di concentrazione sono invertiti:
 - sono molto presenti le IgM e le IgD.
 - Sono poco presenti le IgG.
- LA **IgM PRESENTE A LIVELLO DELLE MEMBRANE LINFOCITARIE** è una **IgM MONOMERICA**, non pentamerica come quella circolante.

Oggi sappiamo che il nostro sistema immunitario:

- ad una prima ondata di invasione il corpo risponde con la produzione di IgM.
- ad una seconda ondata di invasione il nostro corpo risponde con la produzione di IgG.

Il sistema immunitario quindi muta la sua risposta con il tempo, questo avviene perché:

- le IgM sono efficaci nel legare l'antigene, ma non hanno una efficace capacità stimolatoria rispetto alla risposta immunitaria.
- le IgG sono estremamente efficaci in quanto il loro frammento Fc presenta:

- una grande quantità di recettori sulle membrane linfocitarie.
- una forte capacità attivatoria rispetto alle molecole del complemento.

I MARKERS:

I markers sono delle strutture che consentono, tramite l'utilizzo di anticorpi, di distinguere tra loro molecole simili di origine specifica o individuale differente.

MARKER ISOTIPICO:

L'isotipo è un marker antigenico che consente di identificare, tramite la produzione di anticorpi, molecole immunoglobuliniche specifiche per una data specie e di classificarle in diverse classi.

MARKER ALLOTIPICO:

si tratta di markers antigenici, riconoscibili sempre con anticorpi, che consentono di distinguere immunoglobuline di individui della stessa specie. Diversi soggetti possono sviluppare immunoglobuline sensibili a tali antigeni in caso di TRASFUSIONI per esempio: si tratta di un evento relativamente raro, si verifica soprattutto:

- a seguito di una gravidanza: durante il parto normale, al distacco della placenta, si ha un reflusso del sangue fetale nel circolo uterino della madre dell'entità di circa 3-4cc; a seguito di tale evento i markers allotipici paterni possono stimolare la produzione di anticorpi specifici antimmunoglobuline di derivazione paterna. Dal punto di vista clinico lo sviluppo di tali anticorpi ha una importanza minima sulle gravidanze successive.
- nei politrasfusi che entrano in contatto con numerosi diversi antigeni.

i markers allotipici si TROVANO SOLTANTO SU ALCUNE PARTI DELLA STRUTTURA DELLA IMMUNOGLOBULINA, sia sulla catena kappa che sulla catena LAMBDA.

SULLA CATENA LEGGERA KAPPA distinguiamo in particolare tre markers allotipici:

- kn1-2 che presenta una Alanina in posizione 153 e una Leucina in posizione 191.
- kn3 che presenta invece una Alanina in posizione 153 e una Valina in posizione 191.
- k3 che presenta una Valina in posizione 153 e una Leucina in posizione 191.

le differenze sono MODESTISSIME quindi, ma sufficienti a garantire la identificazione di tre grandi gruppi di catene kappa, quindi relativi unicamente al 60% delle immunoglobuline prodotte, quelle che portano la catena kappa, mentre le catene LAMBDA sono PRIVE DI MARKERS ALLOTIPICI.

SULLE diverse CATENE PESANTI¹⁰ possiamo identificare:

- diversi markers allotipici su tutte le sottoclassi di IgG.
- sulla catena pesante delle IgA2, cioè la catena alfa2.
- non si individuano invece markers allotipici sulle catene mi, delta ed epsilon.

Una delle immunodeficienze più comuni è RELATIVA A DIFETTO SELETTIVO DELLA PRODUZIONE DI IgA: la frequenza è molto alta, 1/3000. I soggetti affetti da questo tipo di patologia, per motivi indipendenti dalla immunodeficienza in questione, possono rientrare nella categoria dei POLITRASFUSI: se ricevono ripetutamente plasma ricco in IgA, questi individui svilupperanno degli ANTICORPI CONTRO LE IgA ALLOTIPICHE e ad una ulteriore trasfusione potranno andare incontro a shock anafilattico; non è noto quale sia la ragione SPECIFICA di questa reazione, ma i dati clinici registrati ci dicono questo.

I MARKERS IDIOTIPICI:

si tratta anche in questo caso di markers antigenici, riconoscibili quindi unicamente tramite ANTICORPI. Gli idiotipi sono dei markers antigenici che consentono di

¹⁰ tali allomorfismi venivano utilizzati in MEDICINA LEGALE per il riconoscimento o disconoscimento della paternità, oggi si utilizzano altri metodi molto più precisi.

identificare non solo immunoglobuline prodotte dai diversi individui di una specie, ma anche le Ig di uno stesso individuo tra loro: tali markers si collocano NELLE REGIONI VARIABILI delle immunoglobuline e sono strettamente associati alla variabilità anticorpale di queste molecole. Generalmente tali fenomeni si verificano NEL MOMENTO IN CUI QUELLA SPECIFICA IMMUNOGLOBULINA INCREMENTA LA SUA CONCENTRAZIONE nel plasma. Le differenze che possono rendere queste molecole dei markers idiotipici si riscontrano nella parte VARIABILE della molecola e a seconda della loro collocazione specifica presentano funzione differente:

- GENERALMENTE tali markers collocano nella parte ipervariabile della molecola in quanto questa risulta:
 - specifica per un dato antigene.
 - specifica per ciascun individuo anche in rapporto ad uno stesso antigene.
- PIÙ RARAMENTE si possono trovare markers idiotipici nelle regioni cornice in quanto queste regioni sono relativamente costanti.

Questi anticorpi interagiscono generalmente CON LE MOLECOLE IMMUNOGLOBULINICHE ESPOSTE DAI LINFOCITI B e INTERAGISCONO CON ESSI A LIVELLO FUNZIONALE:

- ANTICORPI IDIOTIPICI ANTI REGIONE IPERVARIABILE: in questo caso l'anticorpo derivato dal marker agisce in modo da COMPETERE con l'antigene presentando una ATTIVITÀ STIMOLATORIA RISPETTO AL RECETTORE CHE SI SITUA SULLA CELLULA. Anche al termine della risposta immunitaria quindi, la reazione si prolunga e permane efficace; tali anticorpi derivati da markers idiotipici si possono utilizzare per PRODURRE VACCINI EFFICACI senza isolare componenti epitopiche¹¹.
- Un anticorpo idiotipico rivolto contro la CORNICE della parte variabile della immunoglobulina ha un effetto NEGATIVO SULLA RISPOSTA CELLULARE: legandosi alla molecola la altera stericamente nella sua parte supervariabile e blocca la sua capacità di legare l'antigene. Queste molecole svolgono un ruolo molto importante nel controllo della risposta immunitaria.

Una volta prodotti tali anticorpi possono interagire sia con immunoglobuline di membrana che con immunoglobuline solubili: l'effetto più significativo si avrà in ogni caso rispetto alle isoforme che si collocano sui linfociti piuttosto che su quelle che si collocano nel plasma.

Risvolti patologici possono essere legati al fatto che il sistema immunitario può malinterpretare la presenza di tali anticorpi o ne produca di aberranti:

- possono essere prodotti anticorpi antiidiotipici contro molecole self generando fenomeni di autoimmunità.
- il frammento Fc dell'anticorpo antiidiotipico può generare un fenomeno di attacco contro il linfocita cui l'anticorpo in questione è legato.

È possibile anche che vengano sintetizzati ANTICORPI CONTRO LA PARTE SUPERVARIABILE DEI TCR, non solo contro immunoglobuline dei linfociti B.

LE RISPOSTE CLONALI:

Una molecola esogena è sempre costituita da un insieme di epitopi, LA RISPOSTA IMMUNITARIA SPECIFICA POTRÀ QUINDI INTERESSARE EPITOPPI DIVERSI E CLONI DIVERSI presenti nel nostro corpo; distinguiamo quindi:

- una RISPOSTA MONOCLONALE: diretta contro un solo epitopo associato a quell'antigene e che coinvolge un'unica serie di cloni.
- RISPOSTA OLIGOCLONALE che interessa invece alcuni epitopi e alcune serie di

¹¹ Si tratta a tutt'oggi di studi sperimentali la cui efficacia non è stata sperimentata.

cloni.

- RISPOSTA POLICLONALE che interessa invece un gran numero di epitopi e di serie di cloni.

HLA E MOLECOLE ACCESSORIE:

I recettori delle cellule B e T NON SONO SUFFICIENTI A GARANTIRE UNA RISPOSTA IMMUNITARIA EFFICACE CONTRO TUTTI I TIPI DI ANTIGENE, sono necessarie delle molecole dette DI ISTOCOMPATIBILITÀ¹²; le molecole più importanti da questo punto di vista gli ANTIGENI DI ISTOCOMPATIBILITÀ DELL'HLA: tali molecole sono essenziali per il riconoscimento del self.

Come il sistema Rh anche questo sistema, detto appunto HLA, è complesso e costituito di diversi antigeni, in particolare riconosciamo due classi:

- HLA di CLASSE I che comprende tre gruppi di antigeni:
 - A.
 - B.
 - C.

tale classe È PRESENTE IN TUTTI I TESSUTI, le uniche cellule che non lo presentano sono quelle prive di nucleo come i globuli rossi e le piastrine.

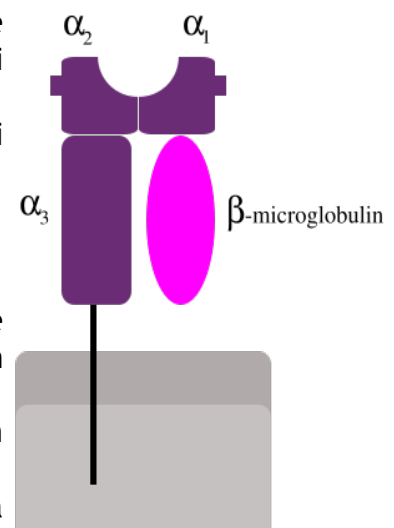
- HLA di CLASSE II che comprende altri tre gruppi di antigeni:
 - DR.
 - DP.
 - DQ.

è più selettiva come collocazione, si trova unicamente su alcune cellule, le APC o antigen presenting cells, un gruppo molto eterogeneo di cellule.

a livello STRUTTURALE sono tali antigeni sono costituiti in questo modo:

LA CLASSE PRIMA in tutte le sue sottocategorie presenta una struttura molto simile:

- risulta costituita di due catene:
 - ALFA costituita di TRE DOMINI:
 - alfa1 che si colloca più all'esterno della molecola.
 - alfa2 che si colloca più all'esterno della molecola a livello della precedente.
 - alfa3 che invece ancora la molecola alla membrana e che si associa ad una proteina tipica dei linfociti T citotossici: CD8.
 - BETA: pesa circa 12kD e non è associata alla catena alfa con legami covalenti, risulta semplicemente appaiata ad essa, e non è nemmeno associata alla membrana. Essendo così leggera e labilmente associata a strutture fisse tende a staccarsi ed essere filtrata, degradata e riassorbita a livello renale¹³.
 - VIENE SINTETIZZATA DA GENI CHE SI COLLOCANO SUL CROMOSOMA 15.
 - i domini di entrambe le subunità presentano una organizzazione



¹² un antigene di istocompatibilità è il sistema AB0 per esempio.

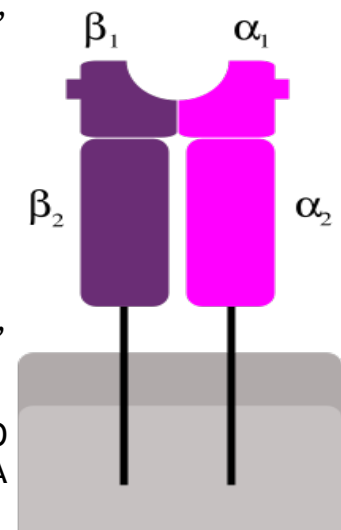
¹³ per anni tale molecole venne utilizzata per determinare la funzionalità di alcune parti del tubulo.

IMMUNOGLOBULINICA.

- TALE MOLECOLA È CAPACE DI VEDERE L'ANTIGENE: le due anse alfa1 che alfa 2 costituiscono un letto amminoacidico, vista la conformazione a beta foglietto che le caratterizza, che lega l'antigene: in tale regione troviamo una VARIABILITÀ ESTREMA da individuo ad individuo; tale variabilità coinvolge in parte anche l'ansa alfa 3, ma in maniera minore.
- SI TRATTA DI SELF ANTIGENS che vengono quindi visti ma ai quali non segue una risposta immunitaria, delle dimensioni di circa 8-11 amminoacidi.
- STRUTTURALMENTE il sito di legame è costituito di 8 foglietti antiparalleli che supportano due alfa eliche.

LA CLASSE SECONDA rispetto alla precedente si presenta strutturalmente diversa:

- presenta anche in questo caso due subunità alfa e beta, ma differenti tra loro:
 - ALFA che presenta due domini:
 - alfa1.
 - Alfa2.per un peso molecolare di circa 32-33kD.
 - BETA che presenta due domini:
 - beta1.
 - Beta2: contiene il sito di legame per il CD4, molecole tipica dei linfociti T.per un peso complessivo di circa 28kD.
- ENTRAMBE QUESTE SUBUNITÀ SONO CODIFICATE A LIVELLO DEL CROMOSOMA 6, lo stesso della subunità alfa dell'HLA di classe prima.
- ANALOGAMENTE AL SISTEMA HLA1, tali molecole PRESENTANO, a livello dei domini alfa1 e beta1, una serie di BETA FOGLIETTI tramite cui RICONOSCONO ANTIGENI PROVENIENTI DALL'ESTERNO DELL'ORGANISMO; in questo caso il peptide presentato può essere lungo da 10 a 30 amminoacidi anche se la lunghezza ideale va da 12 a 16.



TALI MOLECOLE SONO MOLTO DIVERSE TRA LORO e devono essere capaci di IDENTIFICARE QUALSIASI ANTIGENE, in caso contrario non ci sarà risposta.

Entrambi i complessi SE NON ASSOCIATI AD UN PEPTIDE ELABORATO SONO INSTABILI.

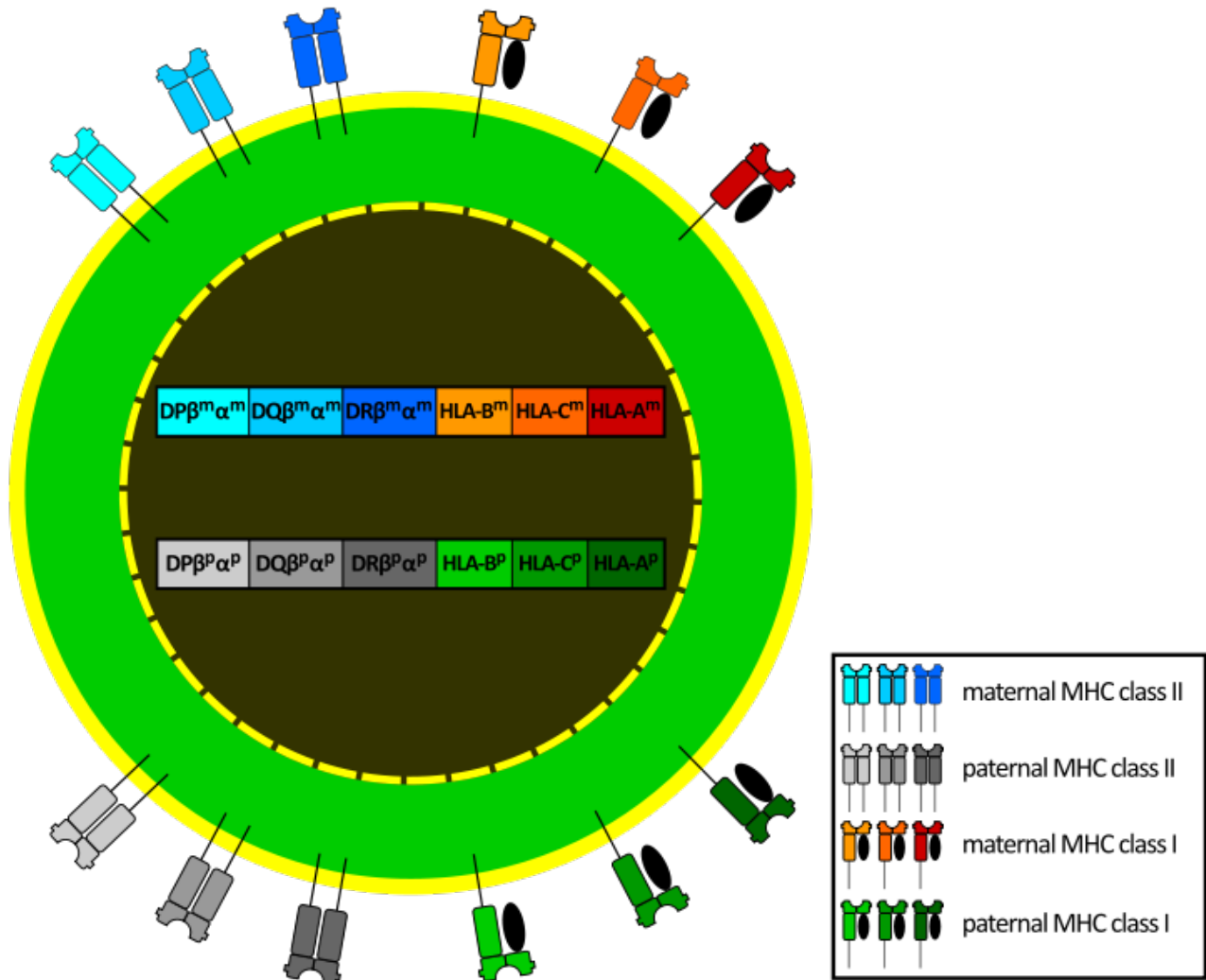
RICONOSCERE I DIVERSI HLA:

IL SISTEMA HLA è estremamente polimorfo: ognuno di noi presenta diverse combinazioni e le espressioni alleliche ad oggi registrate sicuramente ci dicono che abbiamo 300 forme diverse di A, 600 forme diverse di B e così via in una variabilità di combinazioni ESTREMA. L'unico metodo possibile per determinare il livello di polimorfismo tra i diversi antigeni è l'utilizzo di anticorpi: tali anticorpi, storicamente, furono ricavati dai LEUCOCITI che si sviluppano a seguito del distacco della placenta per la miscelazione del sangue materano e fetale o dai POLITRASFUSI.

ESPRESIONI FENOTIPICHE:

le espressioni fenotipiche per ciascuna categoria in un individuo sono DUE: UNA PER CIASCUN GENITORE; ogni cellula nucleata del nostro corpo porterà quindi 6 differenti antigeni di questo tipo eccezion fatta per le APC che ne presenteranno 12.





ORGANIZZAZIONE GENICA DEL SISTEMA HLA:

Tutti questi antigeni si collocano sul cromosoma 6, in particolare sul suo BRACCIO CORTO; troviamo in questa sede:

- HLA di classe prima.
- HLA di classe seconda.
- MHC di CLASSE III che codifica per componenti dell'MHC.

L'MHC o MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX è un enorme complesso che comprende l'HLA ma non solo; ad esso appartengono numerosissime proteine tra cui anche alcune PROTEINE DELLA CLASSE DEL COMPLEMENTO.

FISICAMENTE a livello del cromosoma 6 possiamo dire che:

- verso il centromero si collocano i geni che codificano per la classe II.
- verso l'estremo del braccio corto del cromosoma si collocano i geni che codificano per le proteine della classe I; in ordine verso l'estremità del cromosoma stesso troviamo le classi B, C ed A. Naturalmente la catena beta si colloca sul cromosoma 15.
- in mezzo si trovano i geni per la classe III; tra di essi ricordiamo geni che codificano per:
 - HSP hit shock proteins.
 - TNF tumor necrosis factors.

e molte altre molecole.

In ordine dal centromero possiamo identificare i geni per DP, DM e DQ.

la classe III non sarà quindi coinvolta nella risposta immunitaria in senso stretto.

A livello di queste regioni cromosomiche possiamo identificare una serie di geni, diversi da quelli precedentemente descritti, facenti parte dei sistemi HLA I e II: TALI GENI NON PRESENTANO UN POLIMORFISMO NEANCHE LONTANAMENTE PARAGONABILE A QUELLO DEI GENI A, B, C, DP, DM e DQ. Ricordiamo quindi che:

- A, B, C, DP, DM, DQ SONO CRITICI PER IL POLIMORFISMO in una popolazione e sono estremamente variabili.
- TUTTI GLI ALTRI GENI sono MONOMORFI o pochissimo mutabili, non sono quindi definibili critici.

Geni associati all'HLA e molto importanti sono:

- TAP: si tratta di una proteina capace di trasportare l'antigene elaborato a livello lisosomiale al reticolo endoplasmatico dove potrà essere integrato con l'HLA di tipo I.
- proteine funzionali alla degradazione degli antigeni citoplasmatici associate alla formazione dell'IMMUNOPROTEOSOMA.
- Citochine.

Una cellula normale presenterà quindi 6 espressioni alleliche solo di classe prima, mentre una cellula APC presenterà 12 espressioni alleliche, sei di classe prima, sei di classe seconda.

È possibile tipizzare un individuo per questo tipo di antigeni con primers genetici appositi, si tratta di tecniche di biologia molecolare il cui utilizzo è FONDAMENTALE NELLA TIPIZZAZIONE PER I TRAPIANTI DI ORGANI.

EREDITABILITÀ DEL SISTEMA HLA:

tale sistema presenta una EREDITÀ ALOTIPICA: UN INTERO ALLELE VIENE EREDITATO da un genitore non è possibile separare i diversi geni che si collocano su un cromosoma. Tale impostazione alotipica è legata al fatto che i geni si collocano tutti sullo stesso CROMOSOMA, il cromosoma 6, e MOLTO VICINI TRA LORO e questo rende sostanzialmente impossibili, o molto improbabili, fenomeni di CROSSING OVER. Può capitare tuttavia che in alcune popolazioni vi siano delle ECCEZIONI e che si verifichino quindi DEI CROSSING OVER: la diversa frequenza di separazione a seguito di crossing over ha consentito di mappare la posizione dei geni sopra descritti nel cromosoma. È comunque importante sottolineare il fatto che la frequenza dei CROSSING OVER è ESTREMAMENTE BASSA.

L'USO PRATICO DELL'HLA:

senza questo tipo di molecole non sono possibili risposte immunitarie e situazioni patologiche legate a questo aspetto sono, per fortuna, rare; ma dal punto di vista della pratica clinica la conoscenza e la tipizzazione di tali complessi è essenziale:

- NEI TRAPIANTI onde stabilire la compatibilità di organi.
- NELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO DI MALATTIA: si possono associare particolari geni del sistema HLA a predisposizioni più o meno evidenti per malattie diverse legate soprattutto al sistema immunitario ma non solo. Avere un certo fenotipo HLA può, insomma, portare all'instaurarsi di fenomeni patologici come:
 - SPONDILITE ANCHILOSANTE: si tratta di una patologia che comporta un netto calo della elasticità dei dischi intervertebrali e blocco della funzionalità del rachide. Chi possiede un FENOTIPO HLA B27 presenta un rischio del 90% maggiore di contrarre tale malattia.

- ARTRITI SIERO NEGATIVE.
- DIABETE MELLITO INSULINO DIPENDENTE: tale patologia è associata ad una eterozigosi DR4/DR3 la cui presenza comporta un notevole incremento del rischio relativo che sale al 20%. la differenza genotipica si estrinseca chiaramente in una mutazione a livello della composizione amminoacidica delle molecole recettoriali:
 - una persona normale presenta in una posizione critica una asparagina.
 - una persona diabetica spesso presenta, al posto di una asparagina, una molecola di serina o alanina o valina o altri e diversi amminoacidi.anche in questo caso ricordiamo non si tratta di una associazione certa ma di un semplice incremento della probabilità di contrarre tale malattia, si può parlare, soprattutto per il diabete mellito insulino dipendente, di PREDISPOSIZIONE.
RICORDIAMO:

malattia	allele HLA	rischio relativo
artrite reumatoide	DR4	6
diabete mellito insulino dipendente	DR3/DR4	20
pemfigo volgare	DR4	24
epatite cronica attiva	DR3	14
sindrome di Sjogren	DR3	10
celiachia	DR3	12
spondilite anchilosante	B27	90

La presenza di dati HLA può anche scatenare fenomeni di AUTOIMMUNITÀ legati, molto spesso, al mancato riconoscimento di una componente antigenica come self: gli individui che presentano un HLA di questo tipo sono MOLTO PIÙ SOGGETTI A MALATTIE AUTOIMMUNI. Esistono anche delle persone che NON RISPONDONO, per il loro particolare HLA, ad antigeni artificiali dei vaccini¹⁴, quando si produce un vaccino, quindi, è necessario prestare attenzione alle reazioni fenotipiche che esso può generare nella popolazione.

LA SUPERVARIABILITÀ ANTIGENICA:

Fino a qualche tempo fa per poter rendere l'idea della supervariabilità delle molecole del sistema immunitario si utilizzava il termine GOD, generation of diversity, per SOTTOINTENDERE l'esistenza di un SISTEMA CHE IL NOSTRO ORGANISMO HA PER GENERARE TALE ENORME DIVERSITÀ. All'epoca esistevano due teorie:

- LA TEORIA GERMINALE per cui noi nasciamo con un dato patrimonio antigenico che viene mantenuto nel tempo.
- TEORIA SOMATICA o DELLE MUTAZIONI SOMATICHE secondo cui a generare la enorme diversità fenotipica delle nostre immunoglobuline è una SERIE DI MUTAZIONI MOLTO RAPIDA che si innesca con la risposta immunitaria.

Oggi sappiamo che nessuna delle due teorie è vera; il ricercatore che per primo riuscì a intuire quale fosse la reale organizzazione del nostro sistema immunitario fu TONEGAWA che gettò le basi per la comprensione di questo sistema estremamente complesso. Tonegawa prese delle CELLULE EMBRIONALI DI TOPO, tali cellule non producono ovviamente immunoglobuline, e le mise a confronto con cellule mielomiche che, al contrario, li producono. Già all'epoca il ricercatore sapeva che:

¹⁴ IL VACCINO: perchè un vaccino sia efficace nella eliminazione di un agente patogeno è necessario che il 90% degli individui SIA PROTETTO DAL PATOGENO.

- LA CATENA KAPPA si trovava sul cromosoma 2.
- LA CATENA LAMBDA si trova sul cromosoma 22.
- LE CATENE PESANTI si trovano invece sul cromosoma 14.

il suo intento era quello di scoprire come si specializzava la cellula embrionale per produrre poi tali molecole anticorpali; egli:

- estrapolò:
 - il GENOMA dalla cellula embrionale.
 - il GENOMA dal MIELOMA.
 - L'RNA DEL MIELOMA codificante per l'anticorpo.
- frammentò i genomi prelevati.
- IBRIDIZZÒ i due DNA con L'RNA ESTRAPOLATO DAL MIELOMA e TRACCIATO.

In questo modo egli scoprì che i geni che codificano per tali molecole.

- nella cellula EMBRIONALE sono presenti ma si COLLOCANO DISTANTI TRA LORO.
- nella cellula MIELOMICA LA SEQUENZA:
 - È UNICA e CODIFICA PER UN RNA LINEARE SU UNO DEI DUE CROMOSOMI.
 - È IDENTICA O SIMILE A QUELLA DELLA CELLULA EMBRIONALE SULL'ALTRO CROMOSOMA.

Il ricercatore scoprì quindi che il LINFOCITA era andato incontro ad un fenomeno di RIARRANGIAMENTO GENICO e UNICAMENTE SU UNO DEI DUE ALLELI DEL GENE IN QUESTIONE con un fenomeno che viene detto ESCLUSIONE ALLELICA.

MODIFICAZIONI DEL PATRIMONIO GENICO DEL LINFOCITA:

oggi sappiamo che un linfocita, per divenire capace di produrre uno specifico anticorpo, deve andare incontro a due processi fondamentalmente:

- RIARRANGIAMENTO GENICO: cioè lo spostamento e la ricombinazione del materiale genico di un cromosoma.
- ESCLUSIONE ALLELICA: cioè la esclusione di uno dei due alleli codificanti per una dato anticorpo che non subisce il fenomeno di RIARRANGIAMENTO GENICO.

Passando da una cellula embrionale ad una adulta, uno dei due cromosomi subisce delle modificazioni RADICALI, mentre l'altro no e permane inattivo.

I processi di riarrangiamento ed esclusione sono poi ovviamente analoghi per i diversi cromosomi e per le diverse catene.

LE MODIFICAZIONI GENICHE si traducono poi ovviamente in MODIFICAZIONI STRUTTURALI DELLE MOLECOLE IMMUNOGLOBULINICHE soprattutto per LE PARTI VARIABILI.

LE PARTI VARIABILI DELLA CATENA LEGGERA:

tale catena sappiamo è costituita di due domini di 110 amminoacidi ciascuno e viene codificata:

- DA UN SOLO GENE per i 110 amminoacidi FISSI.
- DA MOLTI E DIVERSI GENI per costruire i 110 amminoacidi della PARTE VARIABILE; in particolare possiamo dire che di questi 110 amminoacidi:
 - 90 sono codificati da geni detti V CHE SAPPIAMO SONO CIRCA 250 POSTI IN SERIE e separati da INTRONI.
 - 20 sono codificati da geni J CHE SAPPIAMO SONO CIRCA 4 separati, ovviamente, da INTRONI.

TRA I DUE CROMOSOMI 22 E 2 la variabilità è molto più elevata nel cromosoma 2, quindi nelle catene di tipo K.

Complessivamente quindi, per dare vita ad una immunoglobulina, si devono combinare insieme una catena fissa, una catena codificata da un gene V e una catena codificata da un gene J.

LE PARTI VARIABILI DELLA CATENA PESANTE:

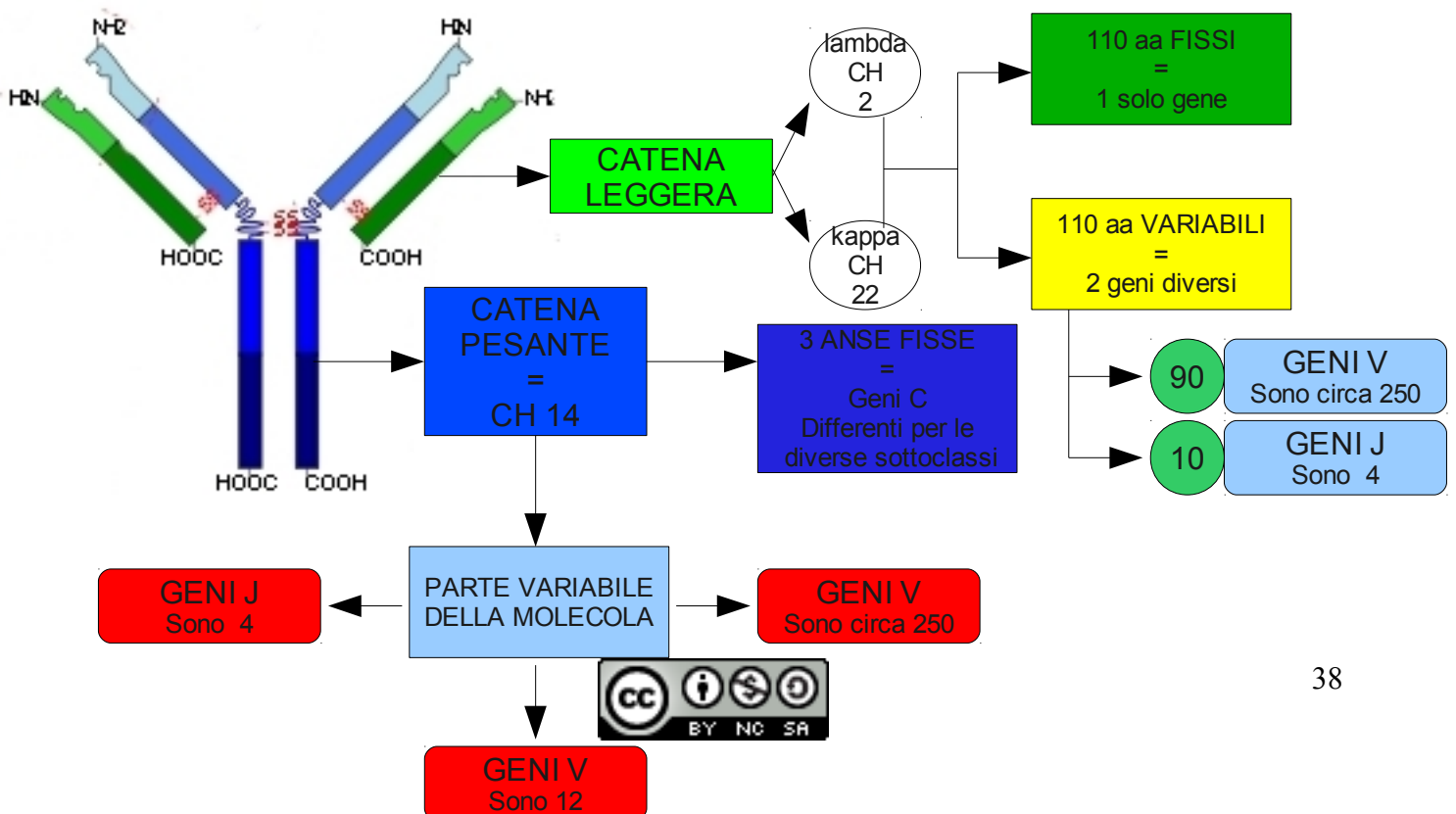
IL CROMOSOMA 14 da origine alle catene pesanti e, ovviamente, deve lavorare in

coordinato o con il cromosoma 22 o con il cromosoma 2. A livello del cromosoma 14 la situazione risulta lievemente più complessa:

- PER LA PARTE FISSA DELLA CATENA possiamo riconoscere diversi geni C associati, ovviamente, a diverse sottoclassi.
- PER LA PARTE VARIABILE possiamo individuare:
 - NUMEROSI GENI V in numero variabile tra 250 E 1000.
 - 4 GENI J.
 - 12 GENI di tipo D che si collocano, nella sequenza, tra i precedenti due.

Per formare una catena completa, ovviamente, è necessario accostare il prodotto di un gene V, il prodotto di un gene J e il prodotto di un gene D.

Una tale variabilità genica da vita ad un numero di combinazioni geniche elevatissimo.



[immagine tratta e modificata da wikipedia](#)

RIARRANGIAMENTO ED ESCLUSIONE GENICI:

LA ASSOCIAZIONE DEI DIVERSI GENI codificanti le diverse catene amminoacidiche, TRA LORO avviene IN MODO CASUALE: l'organismo umano crea una serie di cloni che maturando ricombinano il medesimo materiale genetico acquisendo una capacità di generare un pool anticorpale enorme. IL FENOMENO DI RIARRANGIAMENTO, come accennato in precedenza, È COMPLETAMENTE CASUALE: il nostro patrimonio anticorpale potenziale è enorme, sarà l'arrivo dell'antigene a determinare la PROLIFERAZIONE DELLA CELLULA ADATTA A CONTRASTARLO.

OPERATIVAMENTE una singola cellula sceglie quali geni combinare: perché tale ricombinazione avvenga, tra i geni devono esserci delle sequenze di riconoscimento apposite; queste si collocano:

- al 3', quindi a valle, del V scelto per essere ricombinato.
- al 5', quindi a monte, del J scelto per essere ricombinato.

tali sequenze sono si caratterizzano per essere PALINDROMICHE e a volte anche RIPETUTE il che le rende riconoscibili IN MODO SPECIFICO.

Complessivamente sul cromosoma si organizzano in questo modo in direzione 5' → 3':

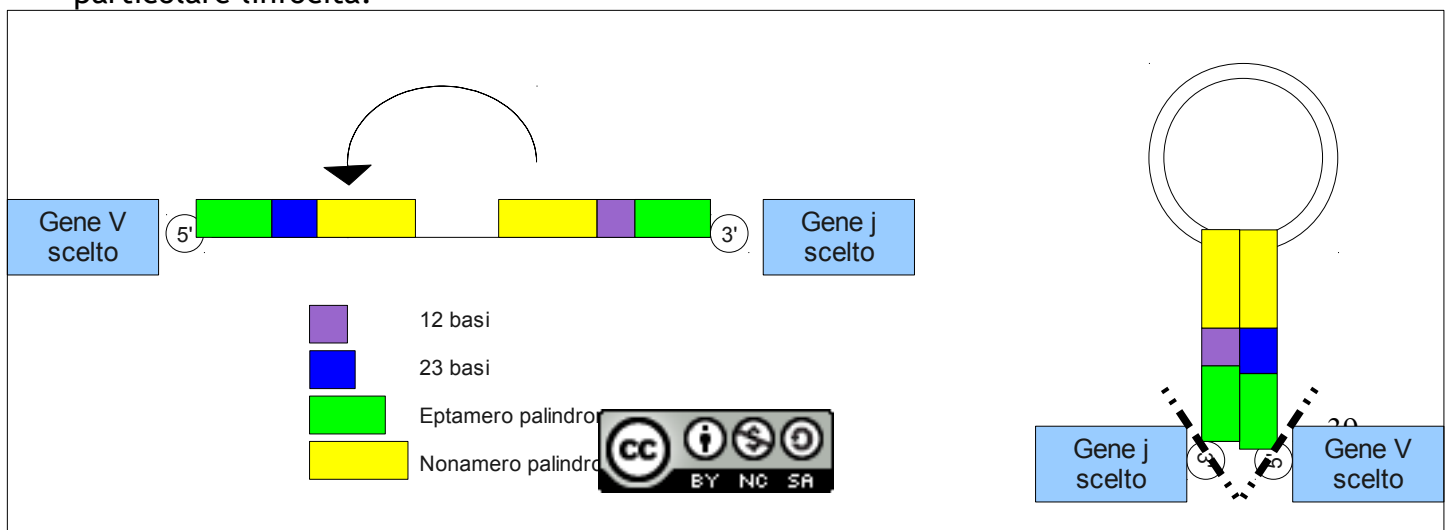
- GENE V scelto per la ricombinazione.
- sequenza palindromica di riconoscimento di sette basi.
- 23 basi.
- sequenza di riconoscimento di nove basi.
- sequenza che deve essere espunta.
- sequenza di riconoscimento di nove basi.
- 12 basi.
- sequenza palindromica di riconoscimento di sette basi.

LA RICOMBINAZIONE AVVIENE IN QUESTO MODO:

le sequenze di riconoscimento si individuano reciprocamente e rispettivamente tra loro e:

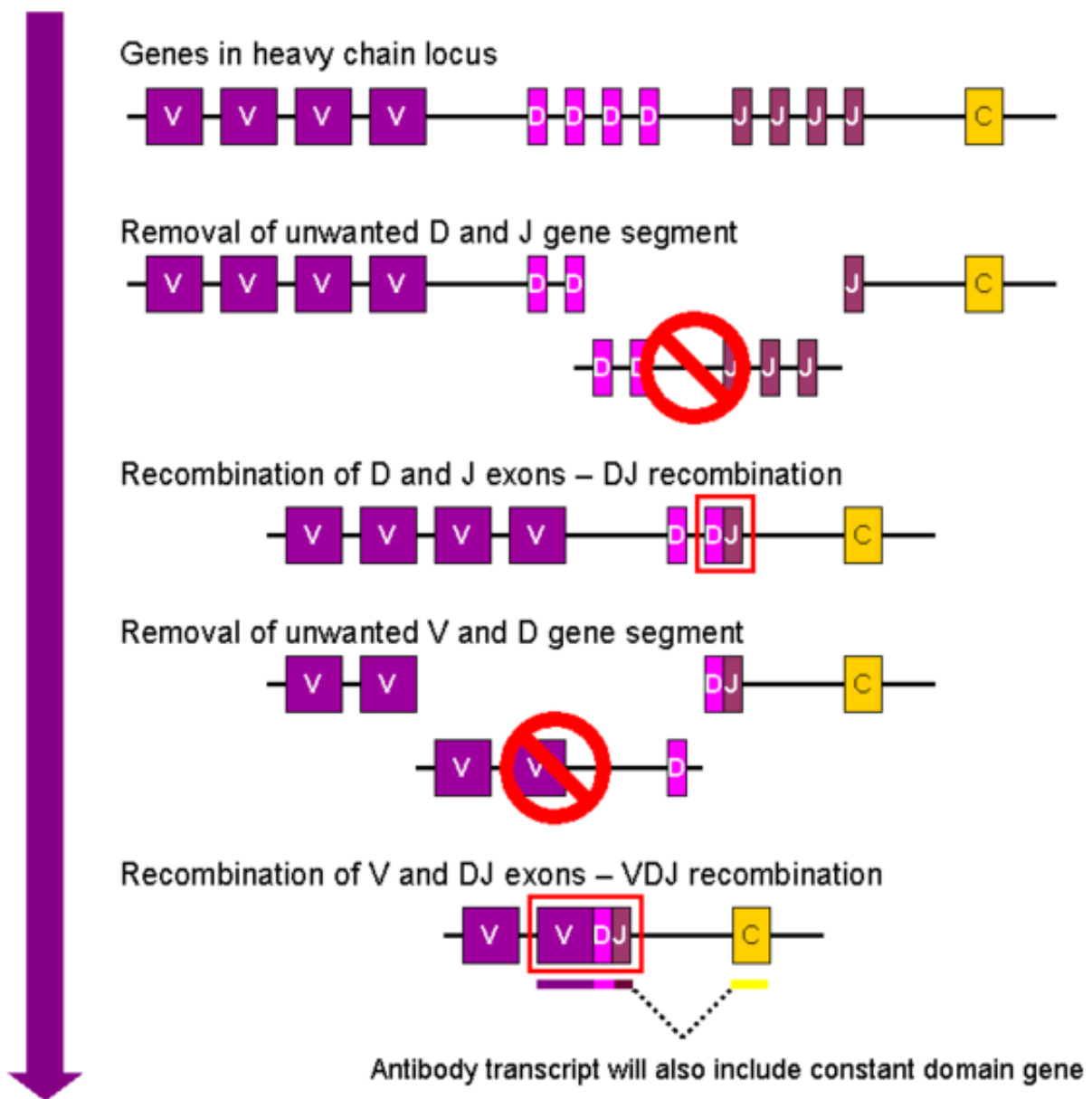
- si appaiano sovrapponendosi tra loro e formando un LOOP.
- alla base della sovrapposizione si appaiano i due geni V e J.
- interviene un enzima che TAGLIA IL DNA ALLA BASE DEL LOOP.
- l'enzima ASSOCIA LE DUE ESTREMITÀ TAGLIATE eliminando il LOOP che non viene recuperato.

Tale operazione, estremamente precisa e controllata, avviene in una cellula piuttosto che in un'altra e per due geni piuttosto che per altri in modo assolutamente casuale o comunque non valutabile per l'enorme numero di variabili coinvolte. La stessa presenza delle SEQUENZE PALINDROMICHE è CASUALE e il loro utilizzo dipende da molti fattori tra cui il numero di ripetizioni e la affinità dell'enzima presente all'interno di quel particolare linfocita.



Questo fenomeno vale sia per la catena pesante che per la catena leggera, l'unica differenza è che nella ricombinazione necessaria alla formazione della sequenza per la catena pesante:

- il primo passo è l'unione dei due geni D e J scelti.
- il secondo passo prevede la unione del gene V al complesso dei geni D e J scelti.



L'UNICA VARIAZIONE SIGNIFICATIVA dal punto di vista della disposizione delle componenti è relativa alla posizione delle sequenze di 12 e 23 amminoacidi:

- rispetto alla sintesi della catena LAMBDA troviamo prima la sequenza di 23 poi quella di 12 amminoacidi,.
- rispetto alla sintesi della catena KAPPA troviamo prima la sequenza di 12 poi quella di 23 amminoacidi.
- rispetto alla sintesi della CATENA PESANTE troviamo prima la sequenza di 23 poi quella di 12 amminoacidi.

LE CIRCOSTANZE che danno vita ad una certa ricombinazione piuttosto che ad un'altra, sono completamente casuali o legate a fattori NON ANCORA COMPRESI.

Nei processi di ricombinazione dei cromosomi umani possiamo ricordare che i geni coinvolti si trovano in tale numero:

	k	λ	H
V	40	30	40
D	0	0	25
J	5	4	6

nonostante il numero complessivo di combinazioni sia molto elevato:

- 1.200.000 combinazioni possibili per una immunoglobulina composta di una catena kappa e una catena pesante.
- 720.000 combinazioni possibili per una immunoglobulina composta di una catena lambda e una catena pesante.

Calcolando tutti i fattori, matematicamente il nostro corpo potrebbe produrre una quantità di immunoglobuline differenti nell'ordine di 10^9 .

ALTRI FATTORI incidono poi SULLA EFFETTIVA REALIZZAZIONE DELLE COMBINAZIONI che sono molte meno, circa 10^4 ; in ogni caso sono possibili dei fenomeni di amplificazione che incrementano le possibilità di realizzazione di diverse immunoglobuline:

- LA RICOMBINASI: spesso eseguono dei tagli imperfetti la cui variabilità porta all'incremento delle possibilità di ricombinazione.
- ALTRI NUCLEOTIDI vengono aggiunti a livello della sequenza tagliata incrementando la variabilità fenotipica.

non si giunge MAI COMUNQUE all'enorme numero teorizzato a partire dai dati numerici.

LE MUTAZIONI SOMATICHE DEL LINFOCITA:

Esiste anche la possibilità, e si verifica molto di frequente, che il sistema immunitario SI ADATTI ALLA PRESENZA DI ANTIGENI SPECIFICI: se un antigene incontra un animale poco sensibilizzato, è possibile che la sua presenza generi MUTAZIONI GENETICHE, anche puntiformi, di territori particolarmente sensibili, in particolare le PARTI IPERVARIABILI delle molecole; in linea generale possiamo dire che:

- arriva l'antigene a livello della LINFOGHIANDELLA.
- si attiva una serie di LINFOCITI.
- i LINFOCITI SI MOLTIPLICANO.
- durante la MOLTIPLICAZIONE ci sono POSSIBILITÀ MOLTO ELEVATE CHE SI VERIFICHINO MUTAZIONI SOMATICHE utili ad incrementare e rendere efficace l'anticorpo prodotto:
 - ◆ tali mutazioni somatiche aumentano in probabilità con l'andare del tempo nel corso della prima esposizione.

◆ aumentano con le successive immunizzazioni legate a quell'antigene specifico. Tale processo si innesca, ovviamente, unicamente PER I LINFOCITI STIMOLATI DALL'ANTIGENE: è possibile anche che un antigene non sia riconosciuto da nessun anticorpo ma questo avviene molto raramente in quanto una molecola di tipo anticorpale, esposta sulla membrana del linfocita è spesso compatibile trasversalmente con più antigeni.

IL SISTEMA IMMUNITARIO BASA LA SUA ESTREMA VARIABILITÀ SU DUE FASI DISTINTE:

- prenatale in particolare rispetto ai processi di ricombinazione ed esclusione allelica. Questa fase avviene a prescindere dalla presenza di antigeni nell'ambiente, si verifica normalmente.
- postnatale dovuta al contatto antigene-linfocita che porta alla formazione di anticorpi mutati.

LA SINTESI DELL'ANTICORPO:

A seguito dei processi di esclusione allelica e di ricombinazione è stato possibile avvicinare tra loro diverse catene di DNA codificanti per geni differenti ma che complessivamente danno vita unicamente alla parte variabile della molecola; NON È QUINDI ANCORA POSSIBILE per il momento costruire la immunoglobulina completa in quanto I GENI CODIFICANTI LE PARTI FISSE DELLA MOLECOLA sono LONTANI DALLE PARTI CODIFICANTI LA PARTE VARIABILE.

LA FORMAZIONE DELL'RNA COMPLETO È strettamente legata a FENOMENI DI SPLICING ALTERNATIVO: vengono codificate diverse catene che possono poi essere RIDOTTE o AMPIATE sulla base delle necessità.

LO SWITCH ISOTIPICO E LA SCELTA DELLA CATENA PESANTE:

Per quanto riguarda le catene pesanti, dobbiamo ovviamente SCEGLIERE TRA DIVERSI TIPI DI CATENE C FISSE, inoltre è necessario che tale scelta NON SIA ESCLUSIVA di modo da poter associare ad una data PARTE VARIABILE una data e diversa CATENA PESANTE A SECONDA DELLA NECESSITÀ. LO SWITCH ISOTIPICO è il fenomeno che consente di mutare l'associazione tra una parte variabile della immunoglobulina, che permane fissa nelle diverse trasformazioni, e una catena c che viene invece cambiata.

Esistono due teorie relative allo switch isotipico: una, sostenuta tra gli altri dal PROFESSOR TEDESCO, sostiene sia un fenomeno RNA dipendente, la seconda che sia un fenomeno DNA dipendente.

RNA DIPENDENTE:

teoria sostenuta fino ad alcuni anni fa per la somiglianza tra gli enzimi che si occupano di questo tipo di processo ed enzimi strettamente RNA compatibili; alcune ricerche sostengono da 6 anni a questa parte che questo non sia vero, altri ricercatori, come il PROFESSOR TEDESCO, ritengono invece sia l'unica teoria riconosciuta¹⁵.

LA PRIMA ESPRESSIONE DELLA CATENA PESANTE:

Ad una stimolazione il linfocita B attiva il cromosoma 14 per codificare le catene pesanti necessarie; a livello di tale cromosoma si collocano i geni codificanti per tutte le catene pesanti; la sequenza viene in ogni caso codificata COMPLETAMENTE e la scelta della immunoglobulina avviene a livello posttrascrizionale cioè per SPLICING ALTERNATIVO:

- LA SEQUENZA di attivazione INIZIALE È ASSOCIATA A DUE CATENE C:
 - anzitutto LA CATENA mi che viene immediatamente prodotta formando IgM.
 - Quindi LA CATENA delta e vengono prodotte IgD.
- LA ESPRESSIONE DI ALTRE CATENE PESANTI è LEGATA ALLA PRESENZA DI CITOCHINE

¹⁵ Si sottointende che la seconda teoria, quella che sostiene che lo switch è DNA dipendente, non è riconosciuta dal Professore.

SPECIFICHE CHE ATTIVANO SEQUENZE SEGNALE che sono ASSOCIATE ALLE DIVERSE CATENE C che vengono quindi prodotte.

CIOÈ diverse sequenze segnale vengono attivate PER GENERARE COMPLESSI DI ASSOCIAZIONE DIVERSI.

ESSENDO LA PRIMA Ig PRODOTTA, TUTTI GLI ANTIGENI VENGONO SOTTOPOSTI AD UNA ANALISI DA PARTE DI IgM, la scelta della Ig successiva, sarà dipendente dal tipo di antigene.

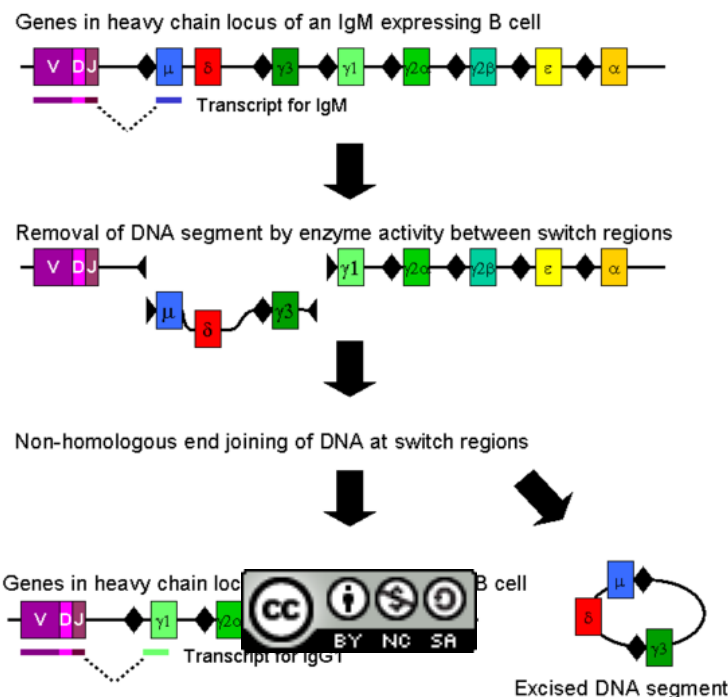
Ricordiamo che le sequenze di RNA codificanti per IgA1 e IgE sono molto vicine sul trascritto e sono spesso attivate insieme nei FENOMENI ALLERGICI generando reazioni molto pericolose.

DNA DIPENDENTE¹⁶:

Secondo questa teoria sostenuta da numerosi studiosi, il meccanismo di class switch sarebbe associato a modificazioni del DNA e non dell'mRNA; complessivamente possiamo dire che:

- il linfocita B riceve uno stimolo generico di attivazione e produce IgM e IgD in quanto le due sequenze geniche sono associate ad una unica sequenza promotrice e vengono quindi prodotte insieme.
- A seguito di stimoli specifici si attiva un meccanismo di RICOMBINAZIONE GENICA che prevede:
 - la deminazione di residui di citosina a livello della sequenza genica da parte di una APPOSITA DEAMINASI: tale operazione produce dei residui URIDINICI nella sequenza del DNA che sono chiaramente aberranti.
 - Si attiva una lunga serie di meccanismi, che coinvolgono anche enzimi di riparazione del DNA che PORTA ALLA FORMAZIONE DI SITI DI RICONOSCIMENTO SPECIFICI.
 - Tali siti DIVENGONO SUBSTRATO DI UN COMPLESSO ENZIMATICO che CATALIZZA LA ELIMINAZIONE DELLE SEQUENZE GENICHE CHE SI INTERPONGONO TRA LA SEQUENZA INIZIALE E LA SEQUENZA CODIFICANTE PER LA IMMUNOGLOBULINA CHE DEVE ESSERE SINTETIZZATA.
- Il linfocita B diviene quindi capace di produrre quel DATO TIPO DI IMMUNOGLOBULINA.

Naturalmente IL LINFOCITA NON SARÀ PIÙ CAPACE DI PRODURRE IgM e IgD UNA VOLTA ESCLUSE LE SEQUENZE.



¹⁶ Per questa teoria vi <http://www.cbs.um> e a <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC119000/>

LA SINTESI DEI TCR:

ANCHE I TCR, analogamente ai BCR, PRESENTANO DELLE REGIONI VARIABILI, anche in questo caso abbiamo a che fare con un ETERODIMERO. La variabilità di questo tipo di molecole presenta una radice molto simile a quella dei BCR: anche in questo caso sono presenti geni diversi e anche in questo caso dobbiamo essere necessari costruire

- UNA PARTE FISSA.
- UNA PARTE VARIABILE.

come sottolineato in precedenza nel nostro corpo individuiamo due tipi di TCR costituiti di catene rispettivamente di tipo alfa-beta e gamma-delta. Le catene in questione sono codificate su cromosomi diversi:

- sul cromosoma 7 troviamo geni codificanti per le catene BETA e GAMMA.
- sul cromosoma 14 troviamo geni codificanti per le catene ALFA e DELTA.

IN OGNI CASO DEVONO ESSERE ATTIVATI DUE CROMOSOMI DIFFERENTI PER GENERARE UNA MOLECOLA COMPLETA.

- La sintesi LA CATENA ALFA presenta strutturalmente delle somiglianze con le catene leggere dei BCR, presenta infatti due geni codificanti, V e J.
- LA CATENA BETA presenta invece delle somiglianze con le catene pesanti dei BCR presenta infatti tre geni codificanti, D, V e J che si collocano sempre sul cromosoma 14.

IL PROCESSO DI RIARRANGIAMENTO GENICO È IDENTICO A QUELLO DEI BCR: si associano grazie alla azione delle ricombinasi le sequenze apposite corrette, per splicing alternativo si va poi ad accostare la componente FISSA.

LA SINTESI DELLE IMMUNOGLOBULINE:

Ig DI SUPERFICIE E SOLUBILI SONO PRODOTTE PRINCIPALMENTE DAI LINFOCITI DI TIPO B, tuttavia possiamo distinguere tra::

- linfociti B che sintetizzano molecole di MEMBRANA.
- linfociti B TRASFORMATI che sintetizzano molecole SOLUBILI e sono detti PLASMACELLE.

LE Ig DI MEMBRANA HANNO LA FUNZIONE DI RICONOSCERE L'ANTIGENE, una volta fatto questo PROLIFERANO e SI DIFFERENZIANO in plasmacellule e cellule di memoria.

Le differenze tra questi tipi di cellule sono molte:

- I LINFOCITI B si trovano:
 - principalmente in circolo, in piccola quantità rispetto ai linfociti di tipo T.
 - nelle mucose.
 - nei tessuti linfoidei.

strutturalmente:



- sono piccoli.
 - presentano un nucleo che occupa quasi tutto il citoplasma.
- i linfociti B DEVONO RICONOSCERE L'ANTIGENE e presentano quindi una grande quantità di recettori immunoglobulinici esposti a livello della membrana plasmatica.

Si tratta di cellule che sviluppano anche fenomeni di memoria, non sono cellule terminali e presentano anche una vita piuttosto lunga.

- LE PLASMACELE si trovano unicamente in TERRITORIO EXTRAVASCOLARE, quindi:
 - nelle mucose.
 - nelle linfoghiandole.

Strutturalmente ricordiamo che tali cellule presentano:

- un nucleo spostato perifericamente
- sono molto grandi.
- Presentano una cromatina detta "a ruota di orologio" molto lassa e attiva.
- il citoplasma è molto basofilo vista la enorme quantità di ribosomi attivi e proteine in fase di sintesi.

Le PLASMACELE producono una enorme quantità di anticorpi solubili che vengono esocitati.

Si tratta di CELLULE TERMINALI: non possono perdere la loro specializzazione, hanno inoltre una vita molto più breve rispetto ai loro precursori linfocitari.

possiamo dire che I LINFOCITI B fanno parte della fase AFFERENTE della risposta immunitaria mentre le PLASMACELE di quella EFFERENTE anche se di fatto entrambe le tipologie cellulari sono in grado di produrre immunoglobuline solubili.

LA PRODUZIONE DEGLI ANTICORPI SOLUBILI:

una plasmacellula per produrre una IgG intera deve:

- produrre DUE TIPI DI TRASCRITTI uno per la catena leggera, uno per la catena pesante.
- ASSOCIARE tali trascritti a due gruppi di POLIRIBOSOMI distinti di modo da iniziare una produzione massiva della molecola proteica.
- ASSEMBLARE le due strutture che sono state sintetizzate all'INTERNO DEL RETICOLO ENDOPLASMICO. IL RITMO DI PRODUZIONE è differente tra i due tipi di catene: le catene leggere, che sono più piccole, vengono prodotte ad un ritmo decisamente più elevato.
- A questo punto le diverse catene prodotte devono essere associate:
 - si possono FORMARE TUTTE LE COMBINAZIONI POSSIBILI tra catene leggere e pesanti.
 - L'UNICA ASSOCIAZIONE NON POSSIBILE È QUELLA TRA DUE CATENE LEGGERE che sarebbe aberrante rispetto alla struttura in fase di sintesi.
- a questo punto viene associato il complesso GLUCIDICO a livello dell'apparato GOLGI e la molecola è pronta per essere escretata.

È importante sottolineare che, eccetto per cellule di tipo neoplastico, le catene leggere prodotte in surplus NON VENGONO MAI ESCRETE.

LA ATTIVAZIONE CROMOSOMICA E ALLELICA:

Già all'inizio del processo di sintesi si devono ATTIVARE DIVERSI FENOMENI DI SILENCING ED ENHANCING cromosomici e allelici; in particolare:

- la scelta tra KAPPA E LAMBDA, che deve essere ESCLUSIVA, avviene all'inizio del processo di sintesi, se in una cellula si dovessero attivare contemporaneamente i

cromosomi 22 e 2, infatti, SI BLOCCHEREBBE L'INTERO PROCESSO. In linea generale ricordiamo che:

- si attiva il cromosoma 2.
- se il cromosoma 22 risulta attivo e viene sintetizzata una catena lambda significa che c'è stata qualche anomalia di attivazione nel primo.

Complessivamente quindi possiamo dire che:

- UN CROMOSOMA VIENE SILENZIATO in un episodio di esclusione genica nella scelta tra le due catene leggere.
- UN ALLELE DEL GENE ATTIVATO VIENE SILENZIATO in un episodio di esclusione allelica: tale processo di è in ogni caso GIÀ VERIFICATO CON LA PRIMA RICOMBINAZIONE GENICA.
- la scelta tra le diverse catene pesanti NON RICHIEDE ESCLUSIONE CROMOSOMICA ma ALLELICA.

LA RIPOSTA CLONALE:

a seconda del numero di cloni che si attivano in risposta alla esposizione a dati tipi di epitopi distinguiamo:

- LA RISPOSTA POLICLONALE nella quale sono coinvolti:
 - diversi cloni.
 - diversi tipi di immunoglobuline.
- LA RISPOSTA MONOCLONALE che prevede invece il coinvolgimento di:
 - un solo clone.
 - un solo tipo di anticorpo.
- AL RISPOSTA OLIGOCLONALE che prevede invece la attivazione di una scarsa quantità di cloni e pochi epitopi.

Dal punto di vista diagnostico è possibile determinare se a seguito della esposizione ad un antigene la risposta sia di tipo MONO o POLI clonale; diciamo che generalmente SE GLI ANTICORPI PRODOTTI PRESENTANO TUTTI CATENE DI TIPO LAMBDA O DI TIPO KAPPA LA RISPOSTA VIENE CONSIDERATA MONOCLONALE, infatti:

- un singolo clone può produrre unicamente O catene leggere di tipo KAPPA O di tipo LAMBDA.
- La presenza di un solo tipo di catena leggera a livello anticorpale si considera un marker di monoclonalità.

tale situazione può essere confusa con la OLIGOCLONALITÀ per un numero piccolo di cloni, tuttavia la situazione clinica è tale per cui non vi sono molte differenze dal punto di vista del paziente.

LA ELETTROFORESI SU GEL:

si tratta di un esame che consente di identificare le diverse tipologie di proteine presenti nel plasma e di classificarle in classi sulla base della loro CARICA ELETTRICA e della loro DIMENSIONE. Ricordiamo che IN PARTICOLARE GLI ANTICORPI FANNO PARTE DELLA CLASSE DELLE GAMMA GLOBULINE. Dal punto di vista clinico possiamo avere livelli decisamente diversi di proteine sieriche, in particolare:

- in una situazione normale si osserva un netto picco di ALBUMINE, sicuramente molto rappresentate, mentre le altre classi proteiche sono relativamente poco presenti.
- la mancanza di gamma globuline può essere associata a immunodeficienze gravi.
- si possono avere incrementi considerevoli in altezza e larghezza della curva delle gamma globuline che appare come una curva a CAMPANA: ad una tale conformazione del campione si associa generalmente una RISPOSTA POLICLONALE.

- si possono avere incrementi considerevoli in altezza della curva gamma: tali conformazioni sono associate generalmente a risposte MONOCLONALI.

I picchi possono poi spostarsi, a livello grafico, a seconda della classe che risulta aumentata: se viene eseguito l'esame nel momento in cui sono alte le IgM, si ha un incremento del picco direzionato in modo diverso rispetto alla esecuzione di un test nel momento in cui sono più concentrate le IgG.

Si tratta in ogni caso di TEST ORIENTATIVI che non possono essere interpretati come indici specifici.

CURVE MOLTO STRETTE e spesso ripetute nel tempo possono ESSERE INDICE DI NEOPLASIE LINFOCITARIE dette LINFOMI DI TIPO B: non si tratterebbe infatti di una risposta specifica, ma di una risposta anomala concentrata su un unico tipo di anticorpo. Generalmente si procede in questi casi:

- analizzando tramite IMMUNOELETTROFORESI quale tipo di Ig siano presenti nel plasma del paziente.
- determinando se tale risultato sia dovuto ad una specifica risposta monoclonale o piuttosto ad una patologia neoplastica.

DUE PATOLOGIE in particolare sono associate a questo tipo di molecole e, in generale, alle cellule B:

- I MIELOMI MULTIPLI: patologie non aggressive a sviluppo lento, prevedono una PRODUZIONE DI Ig DI TUTTE LE CLASSI in modo indiscriminato; IN ORDINE DI FREQUENZA SI MANIFESTANO IPERPRODUZIONI DI:

- IgG.
- IgA.
- IgD.
- IgE.

Le plasmacellule divengono aggressive e possono portarsi anche a livello DEL RACHIDE dove vanno a creare seri problemi soprattutto A LIVELLO OSSEO. Generalmente si manifesta come primo sintomo con FRATTURE PATOLOGICHE cioè estremamente frequenti e ingiustificate. Essendo nota oggi la eziologia della malattia è possibile studiare l'evolversi della neoplasia a partire semplicemente dal livello sierico di tali proteine.

- MACROGLOBULINEMIA DI WALDENSTROM: si tratta di un mieloma delle cellule B, soprattutto LINFOCITI e non plasmacellule, che si traduce in una IPERPRODUZIONE DI IgM.

Per entrambi i tipi di patologie si eseguono esami specifici; LA BANDA MONOCLONALE viene poi individuata e ETICHETTATA IN CARTELLA CLINICA SULLA BASE DEL TIPO DELLA CATENA LEGGERA CHE IL MONOCLONE PRESENTA. L'indicatore di fatto più attendibile è il rapporto tra immunoglobuline prodotte con catena k e immunoglobuline prodotte con catena lambda: se il rapporto è nettamente sbilanciato, è generalmente presente una patologia.

Si distinguono dei MIELOMI SECERNENTI dove le cellule B neoplastiche secernono le catene leggere prodotte in eccesso; tali proteine:

- circolano nel sangue.
- vengono filtrate a livello RENALE.
- vengono GENERALMENTE RIASSORBITE a livello del TUBULO PROSSIMALE.

Con il procedere della NEOPLASIA tali catene leggere aumentano in concentrazione nel plasma e non vengono più completamente riassorbite a livello renale. Queste catene a

livello clinico hanno assunto il nome di catene BENCE JONES e possono dare vita a delle TUBULOPATIE OSTRUTTIVE. Tali proteine sono identificabili tramite ANTICORPI specifici:

- NELLE URINE direttamente.
- NEL PLASMA dove è però necessario utilizzare DEGLI ANTICORPI CHE COLPISCANO UNA PARTE CHE:
 - NELLA CATENA LEGGERA LEGATA È NASCOSTA e non accessibile al ligando.
 - NELLA CATENA LEGGERA LIBERA È VISIBILE e attaccabile dall'anticorpo specifico.

Il punto ideale di attacco è strettamente bloccato nella forma completa della molecola dal ponte disolfuro che consente la associazione tra catene leggere e catene pesanti.

ALTRO SINTOMO tipico di questo tipo di pazienti è una FORTE PREDISPOSIZIONE ALLE INFEZIONI legata soprattutto al fatto che una tale produzione di anticorpi richiede un dispendio di energie molto notevole.

GLI ANTICORPI MONOCLONALI:

FABBRICARE ANTICORPI MONOCLONALI diretti contro un epitopo specifico è oggi un obiettivo molto perseguito, tali anticorpi potrebbero essere utilizzati sia dal punto di vista DIAGNOSTICO sia dal punto di vista CLINICO.

UTILIZZO DIAGNOSTICO:

Anticorpi specifici si possono per esempio utilizzare al fine di individuare singoli antigeni specifici, per esempio sulle membrane batteriche, che non sarebbero visibili in alcun modo senza tali tecniche: attraverso tale tecnica è stato possibile individuare e classificare specie CELLULARI differenti altrimenti non individuabili.

MILSTEIN E KOHLER:

Questi due ricercatori vinsero il premio nobel FABBRICANDO ANTICORPI MONOCLONALI dalla creazione di CELLULE IBRIDE TRA:

- cellule di MIELOMA DI TOPO.
- cellule di LINFOCITA B specifiche prelevate dalla milza di un topo.

tutto questo è stato possibile unicamente unificando la capacità del LINFOCITA DI PRODURRE ANTICORPI SPECIFICI e del MIELOMA DI PRODURNE IN ENORME QUANTITÀ.

A LIVELLO PROCEDURALE i due scienziati dovettero affrontare sostanzialmente due problemi:

- come far fondere due cellule diverse tra loro: tale problema fu risolto tramite l'uso di UN CEMENTANTE adatto.
- come SELEZIONARE LE CELLULE IBRIDE ed ELIMINARE TUTTE LE ALTRE CELLULE PRESENTI NEL CAMPIONE.

Le cellule, come sappiamo, presentano due modi per produrre e avere a disposizione NUCLEOTIDI:

- SINTESI EX NOVO che risulta inibita nelle cellule di mieloma da un medicinale detto AMMINOPTERINA.
- SINTESI PER RECUPERO delle BASI che avviene per due vie:
 - a partire dalla IPOXANTINA tramite l'enzima guanina/ipoxantina fosforibosil transferasi per le PURINE.
 - a partire dalla TIMIDINA per le PIRIMIDINE.

fondamentalmente i ricercatori procedettero in questo modo:

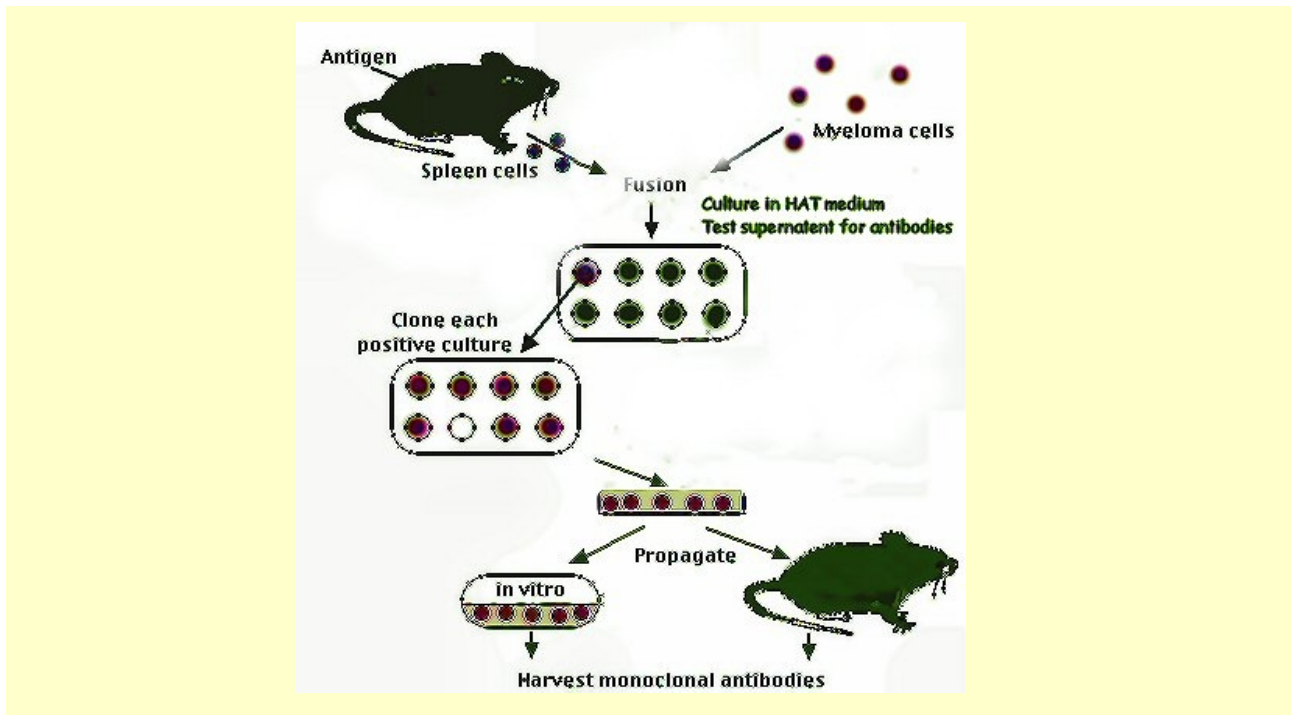
- isolarono delle cellule di MIELOMA DI TOPO.
- le fecero riprodurre fino ad ottenere spontaneamente un ceppo cellulare neoplastico PRIVO DELLA GUANINA/IPOXANTINA FOSFORIBOSIL TRANSFERASI.
- inocularono nella milza di UN TOPO IMMUNIZZATO CONTRO L'ANTIGENE INTERESSATO:
 - le cellule DI MIELOMA MUTATE.

- una sostanza CEMENTANTE.
- OTTENENDO COSÌ UNA SERIE DI CELLULE DIFFERENTI:
- cellule B non fuse e appartenenti al corredo del topo.
 - cellule IBRIDE.
 - cellule MIELOMICHE non fuse.

a questo punto risulta necessario selezionare le cellule di MIELOMA dalle altre cellule presenti nel mezzo, QUINDI:

- si tengono le cellule in un terreno povero.
- si spostano le cellule in un terreno ricco di TIMIDINA, GUANINA E AMMINOPTERINA detto HAT dalle iniziali delle tre componenti:
 - H ipoxantina.
 - A amminopterina.
 - T timidina.
- IL TERRENO PER LA PRESENZA DI AMMINOPTERINA BLOCCA LA VIA ENDOGENA DI SINTESI DEL DNA e quindi:
 - le cellule B muoiono, ma morirebbero comunque dopo un certo tempo.
 - le cellule di MIELOMA NON SONO CAPACI, per la selezione eseguita all'inizio dell'esperimento, DI PRODURRE NUCLEOTIDI PER RECUPERO e di conseguenza MUOIONO.
 - le cellule IBRIDE sopravvivono in quanto condividono con i linfociti B una parte del genoma che consente loro di svolgere la sintesi per recupero.

In questo modo VENGONO CREATI DEGLI IBRIDI capaci di FARE ANTICORPI AD UN RITMO INCREDIBILE. Oggi, giunti a questo punto, si attua una strategia di detta LIMITING DILUTION CHE CONSENTE DI DILUIRE IL CAMPIONE FINO A GENERARE DELLE PROVETTE CONTENENTI SINGOLE CELLULE, tali cellule vengono poi COLTIVATE fino a generare una serie di CLONI capaci di produrre ANTICORPI MONOCLONALI TUTTI UGUALI. Un grosso vantaggio è anche legato al fatto che queste cellule si possono CONSERVARE CONGELANDO IN AZOTO LIQUIDO e SI POSSONO MOLTIPLICARE E UTILIZZARE SENZA PROBLEMI.



L'UTILIZZO CLINICO:

DAL PUNTO DI VISTA CLINICO questi anticorpi non sono FABBRICABILI DIRETTAMENTE NELL'ESSERE UMANO per il semplice fatto che non risulta possibile mantenere in coltura le cellule di mieloma umano.

Anticorpi prodotti nel topo e utilizzati nell'uomo in questa forma:

- alla prima somministrazione funzionano.
- alla seconda somministrazione l'INDIVIDUO SVILUPPA ANTICORPI ANTI ANTICORPO detti HAMA (human anti-mouse antibody) che:
 - rendono completamente inutile la somministrazione.
 - possono formare immunocomplessi pericolosissimi per la funzionalità renale.

ANTICORPI CHIMERICI E UMANIZZATI:

si tratta di anticorpi monoclonali modificati per poter essere utilizzati nell'uomo, in particolare distinguiamo:

- anticorpi CHIMERICI: si tratta di immunoglobuline nelle quali si è cercato di ridurre al minimo, con tecniche di biologia molecolare, le parti MURINE; IN QUESTO MODO è stato possibile:
 - togliere l'Fc DEL TOPO e SOSTITUIRLO CON QUELLO UMANO, questo si esegue soprattutto su IgG che presentano:
 - una maggiore capacità di attivazione rispetto al sistema immunitario.
 - presentano una emivita lunga.
 - possono oltrepassare i vasi sanguigni.
- anticorpi UMANIZZATI: si tratta di anticorpi che presentano UNICAMENTE PARTI UMANE eccetto LA PARTE VARIABILE elaborata in modo specifico con i metodi descritti in precedenza.

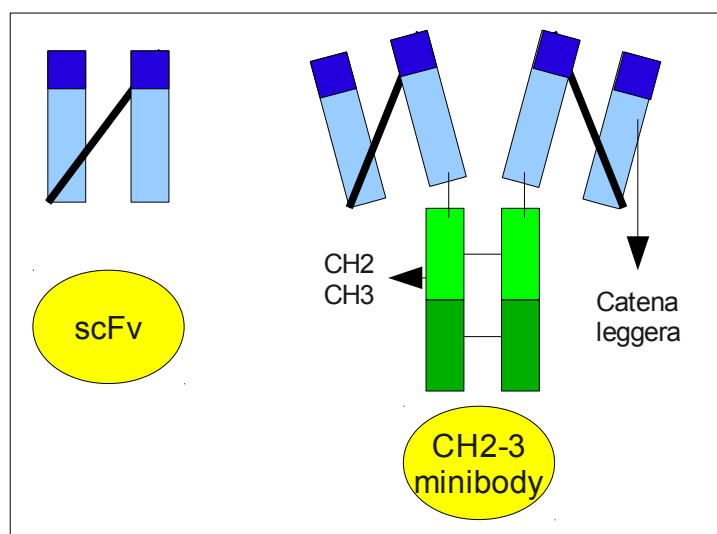
Questo tipo di molecole non da la certezza di eliminare i fenomeni di RIGETTO, ma riducono in modo considerevole i rischi di produzione di HAMA.

LE LIBRERIE FAGICHE:

Ad oggi SI È RIUSCITI A CREARE MOLECOLE NUOVE COMPLETAMENTE UMANE, e questo è stato possibile grazie alla formazione di LIBRERIE FAGICHE: si possono modificare dei

FAGI di modo da renderli NON INFETTANTI ma CONTENENTI IL GENOMA CHE CI INTERESSA CONSERVARE. Si procede in questo modo:

- SI PRENDONO LINFOCITI UMANI possibilmente immunizzati nel modo maggiore possibile e spesso da più individui.
- si SEPARA L'RNA necessario alla fabbricazione di anticorpi che queste cellule esprimono.
- si AMPLIFICANO LE PARTI VARIABILI delle Ig con sets di primers di modo DA FAR EMERGERE IL MAGGIOR NUMERO POSSIBILE DI PARTI VARIABILI.
- gli mRNA ottenuti vengono quindi TRASFORMATI IN cDNA E FATTI ENTRARE NEL CAPSIDE DEI MILIONI DI FAGI UTILIZZATI.
- I FAGI danno un ciclo lisogenico (non essendo infettanti) sulle cellule batteriche che possono essere, per esempio, di coli; a questo punto:
 - IL COLI DIVIENE CAPACE DI REPLICARE LA IMMUNOGLOBULINA DI SUPERFICIE; IN PARTICOLARE distinguiamo:
 - scFv: single chain fragment variable, SI TRATTA DELLA SEQUENZA DELLE DUE PARTI VARIABILI delle due catene leggera e pesante UNITE TRA LORO DA UN PEPTIDE DI CONIUGAZIONE.
 - CON TECNOLOGIA RICOMBINANTE IN LABORATORIO si possono RICOSTRUIRE MOLECOLE MOLTO SIMILI A QUELLE DI IMMUNOGLOBULINE VERE e si parla di CH2-3 Minibody, sono costituite in questo modo:
 - viene tolto il CH1 dove si collocano in ponti solfuro ora non più necessari vista la presenza del peptide di coniugazione.
 - permangono i domini CH2 e 3 che sono essenziali a tenere unita la molecola immunoglobulinica.



Giordano Perin; immunologia 2_fattori attivi nella risposta immunitaria

Un grosso problema relativo a questo tipo di SINTESI è che NON È POSSIBILE per la cellula batterica GLICOSILARE LE MOLECOLE IMMUNOGLOBULINICHE CHE PRODUCE.



LE FASI AFFERENTE ED EFFERENTE DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA

Le cellule responsabili della risposta immunitaria SPECIFICA sono:

- Le cellule B capaci di riconoscere l'antigene con il loro BCR; tali cellule sono RESPONSABILI DELLA PRODUZIONE DI ANTICORPI.
- Le cellule T capaci di riconoscere l'antigene tramite il TCR; tali cellule sono responsabili della risposta CELLULO MEDIATA.
- Un ruolo fondamentale è svolto anche dalle molecole di MHC vedono gli antigeni.

Pochissimi antigeni sono capaci di interagire direttamente con i linfociti B, tali antigeni vengono detti ANTIGENI B DIPENDENTI E T INDIPENDENTI; possiamo distinguerli in due classi fondamentalmente:

- TIPO 1: si tratta di componenti delle pareti batteriche come il lipopolisaccaride. Questo tipo di antigene:
 - a basse concentrazioni attiva unicamente il linfocita B specifico.
 - Ad alte concentrazioni diviene un ATTIVATORE POLICLONALE capace di stimolare anche 1/3 dei linfociti B presenti nel sangue.
- TIPO 2: si tratta di strutture altamente ripetitive come per esempio la flagellina, componente dei flagelli batterici.
 - Attiva le cellule B mature, ma blocca la maturazione delle altre cellule B.
 - per funzionare correttamente necessita di CITOCHINE.

La stragrande maggioranza DEGLI ANTIGENI PRESENTA INVECE T DIPENDENZA e viene riconosciuta da linfociti di tipo T.

Questi dati sono stati ricavati da modelli sperimentali:

SPERIMENTALMENTE è possibile verificare quali siano le cellule responsabili della immunità acquisita e la loro localizzazione tramite un esperimento di questo tipo:

- si immunizza un topo per un dato antigene un'unica volta.
- si inoculano cellule prelevate dal topo immunizzato in un topo non immunizzato e SOTTOPOSTO A TERAPIA RADIANTE che elimini completamente le difese immunitarie dell'organismo in questione.

possiamo iniettare nel topo non immunizzato:

- CELLULE SPLENICHE del topo immunizzato nel topo non immunizzato ottenendo una RISPOSTA IMMUNITARIA CONSISTENTE ALLA IMMUNIZZAZIONE.
- CELLULE DEL MIDOLLO OSSEO del topo immunizzato nel topo non immunizzato ottenendo una RISPOSTA IMMUNITARIA PRESENTE, MA MOLTO SCARSA.
- CELLULE DEL TIMO del topo immunizzato nel topo non immunizzato, IN QUESTO CASO NON SI OTTIENE RISPOSTA IMMUNITARIA.
- CELLULE SIA DEL TIMO SIA DEL MIDOLLO del topo immunizzato nel topo non immunizzato ottenendo una RISPOSTA IMMUNITARIA CONSISTENTE ALLA IMMUNIZZAZIONE.

Si comprende quindi come fosse indispensabile per ottenere una risposta immunitaria una DUPLICE PRESENZA SIA DI LINFOCITI B CHE DI LINFOCITI T¹.

IL RICONOSCIMENTO DELLE CELLULE LINFOCITARIE DI TIPO T:

con il tempo è stato possibile isolare markers capaci di identificare degli antigeni di superficie delle cellule linfocitarie, in particolare si possono distinguere:

- LINFOCITI T HELPER che portano una particolare proteina di membrana detta CD4.
- LINFOCITI T CITOTOSSICI che portano una particolare proteina di membrana detta

¹ fanno eccezione ovviamente gli antigeni B indipendenti T dipendenti.

CD8.

SI TRATTA DI DUE MOLECOLE ACCESSORIE rispetto alla risposta immunitaria, in particolare:

- CD4 presenta 4 domini immunoglobulinici in una unica catena esposti al di fuori della membrana cellulare.
- CD8 presenta due catene affiancate ciascuna delle quali presenta un dominio immunoglobulinico.

LA DIFFERENZA FONDAMENTALE tra risposte di tipo T e B DIPENDE NEL FATTO CHE:

- LA RISPOSTA B DIPENDENTE produce anticorpi ma unicamente di tipo IgM quindi:
 - poco stimolanti il sistema immunitario.
 - a breve durata nel sangue.inoltre il BCR riconosce grossi complessi molecolari e molecole complesse, tridimensionali, non epitopi superspecifici.
- LA RISPOSTA T DIPENDENTE coinvolge invece diversi tipi di cellule e soprattutto consente il CLASS SWITCH necessario ad affinare e migliorare la risposta IMMUNITARIA con la produzione di IgG.
il TCR risulta compatibile unicamente CON MOLECOLE DI PICCOLE DIMENSIONI come residui peptidici di 7-8 amminoacidi massimo.

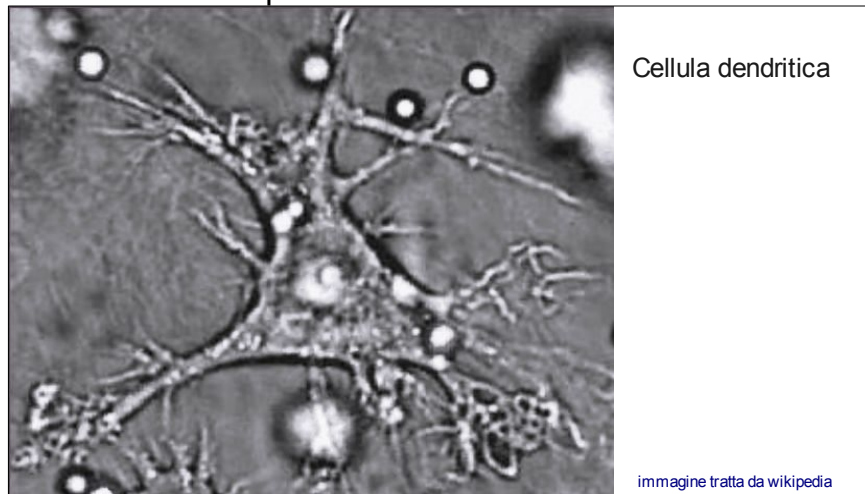
L'INNESCO DELLA RISPOSTA T DIPENDENTE richiede quindi la ELABORAZIONE DELL'ANTIGENE: il TCR riconosce infatti molecole che sono state precedentemente ELABORATE ED ESTRAPOLATE rispetto alla forma originale; in particolare questa azione è affidata alle cellule APC O ANTIGEN PRESENTING CELLS.

LE CELLULE APC:

le antigen presenting cells sono cellule che appartengono a numerose e diverse categorie, in particolare:

- CELLULE DI LANGHERANS tali cellule:
 - si collocano negli strati più profondi della cute.
 - presentano forma stellata, soprattutto per:
 - poter sondare un'area il più vasta il possibile.
 - potersi muovere nel tessuto e migrare verso il sanguequeste cellule rappresentano unicamente l'1% della popolazione cellulare cutanea, ma occupano una superficie enorme grazie alle loro diramazioni.
- CELLULE INTERDIGITATE che si collocano nel TIMO.
- CELLULE FOLLICOLARI DENDRITICHE che si trovano principalmente nelle LINFOGHIANDE; complessivamente queste cellule:
 - presentano numerosi recettori per diversi antigeni.
 - A seguito della attivazione producono citochine ad attività autocrina.
- GCDC.
- LINFOCITI B che svolgono in questo caso una funzione duplice.
 - da un lato raccolgono l'antigene e lo presentano alle cellule T.
 - dall'altro ricevono e attuano lo stimolo delle cellule T da loro stimulate.Tali cellule presentano una specifica compatibilità per un tipo di antigene, tuttavia presentano:
 - presentano una scarsa risposta durante la prima risposta.
 - Incrementano il livello di risposta nelle risposte seconda e terza
- MACROFAGI che si collocano in diversi tessuti connettivi: oltre a presentare recettori per i diversi antigeni, presentano anche recettori per molecole

immunoattive come il complemento e il frammento Fc delle immunoglobuline.



Non tutte queste cellule hanno potere macrofagico, quelle che non presentano questo tipo di capacità ASSORBONO PER PINOCITOSI MOLECOLE ANTICORPALI DAL SANGUE o da ALTRI FLUIDI CORPOREI. Queste cellule basano la loro funzionalità sulla esposizione di molecole di HLA di tipo II: tali molecole presentano la particolarità di poter essere INDOTTE dal punto di vista espressivo e di poter essere modificate sulla base delle condizioni della cellula.

CROSS PRESENTATION:

le APC possono anche presentare l'antigene a cellule T citotossiche: queste cellule possono endocitare cellule infette o tumorali e esporre in associazione a MHC di tipo I gli antigeni da esse ricavati.

Per quanto riguarda le APC ricordiamo che possiamo distinguere cellule circolanti di tipo:

- MIELOIDE che sono la stragrande maggioranza.
- PLASMOCITOIDI molto simili alle plasmacellule ma differenti da esse dal punto di vista recettoriale per esempio: sono infatti capaci di associare antigeni endocitati non solo su MHC di classe II ma anche su MHC di classe I.

Tali cellule differiscono non solo a livello CONFORMAZIONALE ma anche a livello FUNZIONALE dove le prime sono maggiormente attive.

Fondamentalmente a livello funzionale queste cellule DEVONO PERCEPIRE L'ANTIGENE E PROCESSARLO FINO A TRASFORMARLO IN UNA FORMA UTILE AD ESSERE RICONOSCIUTA DALLA CELLULA T, quindi fondamentalmente devono:

- catturare l'antigene.
- sminuzzarlo.
- esporlo a livello della membrana cellulare.

Il compito fondamentale, quello di esporre l'antigene, viene sistematicamente eseguito da molecole che NORMALMENTE SONO ESPOSTE SULLA SUPERFICIE DELLA APC e che devono CARICARSI DI COMPONENTI ESOGENE CHE DEVONO ESSERE ESPOSTE: il peptide incaricato di questo compito è L'MHC di classe seconda.

L'MHC è quindi fondamentale per LA PERCEZIONE DELL'ANTIGENE E LA SUA ESPOSIZIONE. È POSSIBILE SPERIMENTARE L'IMPORTANZA DELL'HLA A LIVELLO DELLA FUNZIONALITÀ DEL SISTEMA IMMUNITARIO IN QUESTO MODO:

possiamo trasferire, tramite il trasporto passivo di linfociti, la IMMUNITÀ DA UN ORGANISMO DI UNA DATA SPECIE AD UN ALTRO:

- si prendono due TOPI GEMELLI completamente identici tra loro.
- si stimolano i due topi con un antigene identico.
- si prelevano:
 - da un topo i linfociti T.
 - dall'altro le APC.

LA RISPOSTA FUNZIONA CORRETTAMENTE UNENDO I DUE TIPI DI CELLULE dove la APC attiva il linfocita T.

Se si esegue la medesima OPERAZIONE su DUE TOPI DI CEPPO DIFFERENTE non succede NULLA: questo avviene in quanto l'HLA, che di fatto consente la comunicazione tra le due cellule, è differente tra i due organismi.

Per ottenere una risposta immunitaria, le APC e le CELLULE T DEVONO CONDIVIDERE IL MEDESIMO MHC.

IL MEDESIMO FENOMENO RIGUARDA ANCHE LA RISPOSTA CITOTOSSICA DEL LINFOCITA T: l'attacco alla cellula modificata quindi è strettamente legato a due aspetti:

- è vincolato alla riconoscenza dell'antigene.
- è MHC ristretto.

L'importanza centrale dell'HLA è quindi fondamentale, questo HLA è infatti coinvolto:

- sia nella risposta AFFERENTE AL SISTEMA IMMUNITARIO rispetto alla comunicazione HLA-CELLULA T.
- Sia nella risposta EFFERENTE AL SISTEMA IMMUNITARIO rispetto alla risposta immunitaria CITOTOSSICA tra CELLULA T e CELLULA ALTERATA.

Anche in questo caso sperimentalmente unificando cellule T citotossiche a cellule infette che presentino un HLA di tipo I differente, non si ottiene risposta.

L'ESPOSIZIONE DELL'HLA II ALTERATO:

MOLECOLE CAPACI di ATTIVARE LE cellule APC sono molecole di qualsiasi tipo che presentino potere antigenico, in particolare il processo si svolge in questo modo:

- l'antigene entra:
 - legandosi a dati recettori.
 - Direttamente.

A seconda del carattere dello stesso.

- si formano delle VESCICOLE.
- le vescicole vengono indirizzate verso degli ENDOSOMI: si tratta di corpuscoli nei quali:
 - il pH si abbassa molto.
 - sono presenti numerose proteasi.

Qui le molecole vengono fatte a pezzi di piccole dimensioni e degradate.

- I LISOSOMI SI FONDONO CON LE VESCICOLE CHE VEICOLANO L'MHC DI CLASSE II CHE VIENE TRASPORTATO VERSO L'ESTERNO.

All'interno della vescicola che viene veicolata verso la membrana L'MHC È ANCORA IN FASE DI MODIFICAZIONE ED ELABORAZIONE.

IL RISULTATO DI QUESTA FASE DI ELABORAZIONE è la FORMAZIONE DI MOLECOLE ELABORATE che vengono esposte all'esterno della membrana sul letto di beta foglietti che caratterizza l'apice dell'mhc di tipo secondo.

Questa azione avviene grazie a proteine dette CHAPERONI, essenziali al trasporto delle molecole coinvolte e al mantenimento della struttura delle stesse:

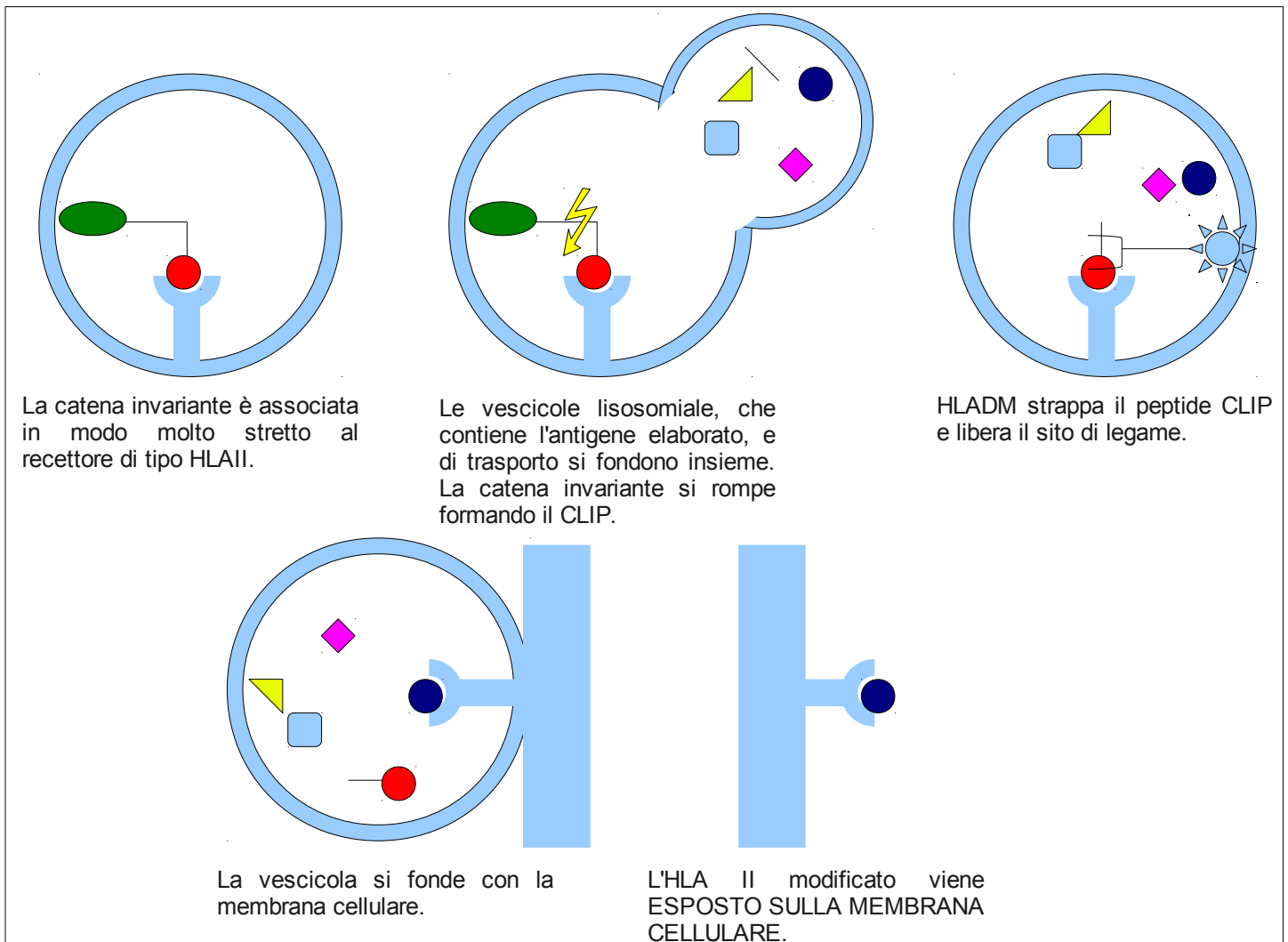
- il posto dell'antigene, durante le fasi di processamento, è occupato da UNA MOLECOLA PROTEICA, detta catena invariante, CHE LO MANTIENE IN UNA FASE NON ATTACCABILE.

- IL PEPTIDE ANTIGENICO IN ELABORAZIONE viene fuso con LA VESCICOLA CHE CONTIENE L'MHC di classe seconda.
- INTERVENGONO DEGLI ENZIMI che ELIMINANO LA CATENA INVARIANTE CHE OCCUPA IL SITO DI LEGAME DELL'ANTIGENE: si forma quindi un CLIP (called class II-associated invariant chain peptide) CIOÈ UN PICCOLO PEPTIDE di 24 amminoacidi, residuo rispetto alla catena invariante, CHE MANTIENE ANCORA IL SITO APERTO.
- UN HLA NON POLIMORFICO, detto HLADM appartenente alla classe prima STRAPPA IL PEPTIDE CLIP presente sulla sede del legame.
- IL PEPTIDE ELABORATO ASSUME LA SUA POSIZIONE FUNZIONALE e permane il loco.

Mentre dal punto di vista PROCEDURALE l'operazione è sempre la stessa, A LIVELLO PRATICO INTERVENGONO DA CELLULA A CELLULA DIVERSI ENZIMI².

LA STRUTTURA LEGAME TRA PEPTIDE E HLAII delle APC presenta le seguenti caratteristiche:

- può essere adiuvato da interazioni idrofobiche.
- Riguarda anche singoli amminoacidi: questo è dovuto alla necessità di lasciare il maggior spazio possibile alla variabilità della restante parte della molecola.



² La mancanza di una classe di molecole tanto importante è, chiaramente, incompatibile con la vita.

La variabilità di questo sistema nella popolazione si basa su un principio di sopravvivenza della specie: almeno un individuo tra i tanti che compongono la popolazione e la specie, sarà capace di riconoscere l'antigene e difendersi. Il gene in questione è composto di circa 3500kB e ha una frequenza di ricombinazione del 4%.

La catena invariante strutturalmente:

- risulta costituita di tre subunità ed è capace di legare tre MHCII contemporaneamente.
- Il suo ruolo non è sempre fondamentale, dipende dal tipo di antigene che viene presentato.

Gli obiettivi delle CELLULE T CITOTOSSICHE sono:

- cellule infettate da virus che espongono al livello della membrana ANTIGENI NUOVI e MODIFICATI.
- cellule tumorali CHE ESPONGONO NUOVI ANTIGENI a seguito delle loro modificazioni.

la reazione è vincolata ovviamente alla presenza di MHC di tipo I che rendono la cellula attaccabile.

a livello pratico possiamo dire che LA CELLULA ESPONE FRAMMENTI PROTEICI PRODOTTI PATOLOGICAMENTE PROPRIO A SEGUITO DI UNA INVASIONE:

- se la cellula è normale, viene riconosciuta come SELF e non viene uccisa.
- se la cellula viene invasa da un virus o alterata in forma neoplastica, viene riconosciuta come tale e viene ATTACCATA E DISTRUTTA.

Le cellule APC continuamente espongono antigeni di superficie in modo non selettivo, espongono anche PEPTIDI di tipo SELF che vengono integrati e presentati: la cellula T deve poi essere capace di distinguere tra SELF e NOT SELF. La attività delle cellule T è tanto precisa che unicamente lo 0,1% dei complessi prodotti dalle cellule APC viene riconosciuto.

LA ESPOSIZIONE DELL'HLA I ALTERATO:

fondamentale per il riconoscimento delle cellule alterate in questo modo è la esposizione di ANTIGENI DI MEMBRANA modificati appartenenti alla classe HLA di tipo I; si tratta di un passaggio fondamentale nella ELABORAZIONE DELLA RISPOSTA EFFERENTE AL SISTEMA IMMUNITARIO.

LA PRODUZIONE DELL'HLA ALTERATO:

In tutte le cellule del nostro organismo sono presenti dei vacuoli detti PROTEOSOMI essenziali alla proteolisi di molecole proteiche ubiquitinate, in caso di invasione o trasformazione tali vacuoli divengono IMMUNOPROTEOSOMI e svolgono la loro funzione in questo modo:

- anche l'IMMUNOPROTEOSOMA si occupa di ELIMINARE PROTEINE UBIQUITINATE grazie alla presenza di appositi enzimi, MA IL SUO SUBSTRATO È UNA PROTEINA ANTIGENICA CHE SI TROVA ALL'INTERNO DELLA CELLULA MODIFICATA. Complessivamente differisce dal proteosoma per la presenza di due subunità aggiuntive codificate a livello del cromosoma 6.
- I FRAMMENTI così prodotti NELL'IMMUNOPROTEOSOMA vengono LIBERATI NEL CITOSOL DELLA CELLULA; i frammenti:
 - hanno una lunghezza variabile da 6 a 30 amminoacidi.
 - Contengono generalmente il C terminale della proteina degradata.
- I FRAMMENTI VENGONO POI TRASPORTATI A LIVELLO DEL RETICOLO ENDOPLASMICO, in modo attivo, dove si sta producendo L'MHC DI CLASSE I.

- a livello del reticolo AVVIENE la formazione di UN COMPLESSO PEPTIDICO tra MHC DI CLASSE I E I FRAMMENTI ESOGENI. Questo processo si svolge tramite una serie di passaggi molto simili a quelli che si attuano per la produzione dell'MHC di tipo II.

l'MHC così associato viene ESPOSTO SULLA SUPERFICIE DELLA CELLULA.

GLI MHC di tipo I ASSOCIATI ALLA MEMBRANA sono ben 6: tre tipologie, distinguibili unicamente per piccole differenze visualizzabili tramite anticorpi, ciascuna delle quali presenta due manifestazioni normalmente. La esposizione di questo tipo di molecole è stimolata dalla presenza di interferone gamma che incrementa la produzione dell'immunoproteosoma.

L'INCONTRO TRA APC E LINFOCITI T:

si tratta di un processo fondamentale, è necessario un passaggio di consegna che:

- innesca la capacità delle cellule T di percepire l'antigene.
- consente la attivazione DELLA PROLIFERAZIONE DEL CLONE SPECIFICO compatibile con l'antigene.
- la cellule T attiva a sua volta:
 - i LINFOCITI B.
 - le CELLULE T CITOTOSSICHE.

IL CONTATTO TRA LE DUE CELLULE:

I punti di contatto tra cellule APC e cellule T sono numerosissimi, si tratta di una serie di proteine di adesione, alcune FONDAMENTALI alcune a funzione unicamente di supporto. Ricordiamo:

- COMPLESSO MHC II/TCR: è FONDAMENTALE che l'MHC di classe seconda sia riconosciuto in modo SUPER SPECIFICO DAL TCR. Generalmente l'antigene viene riconosciuto in prima istanza dalla SUBUNITÀ BETA. Il TCR, come già sottolineato, deve riconoscere:
 - IL PEPTIDE ESPOSTO DALL'MHC di classe II.
 - L'MHC DI CLASSE II STESSO.
- MHC II/CD4: si tratta di un ponte accessorio di riconoscimento tra LA CELLULA T e la APC, rafforza il legame e il riconoscimento dell'HLA di tipo II.
- B7 della APC/CD28 della cellula T: si tratta del secondo PONTE FONDAMENTALE, in assenza di questo tipo di interazione molecolare NON SI SCATENA LA PROLIFERAZIONE DELLA CELLULA T. SI TRATTA DI UN LEGAME ASPECIFICO, avviene a prescindere dalla identità specifica della cellula T.
- ICAM intercellular adhesion molecules: si trova su diversi tipi di cellule tra cui anche le APC; in particolare possiamo riconoscere:
 - l'ICAM-1 sulla cellula APC.
 - LFA-1 sulla cellula T.

Strutturalmente si tratta di un RECETTORE di tipo CD11b/CD18³ che storicamente viene definito LFA-1.

- LFA o CD58 della APC/CD2 della cellula T.

questi ultimi tre ponti sono OPZIONALI, non sono critici dal punto di vista della interazione intercellulare, è sufficiente infatti LA PRESENZA DI MHC di classe II. Esiste anche un RECETTORE CD4 che percepisce l'MHC II rafforzando il legame che si forma TRA MHC E TCR; a differenza del TCR il CD4 riconosce L'MHC non

³ questo tipo di RECETTORE detto CD11b/CD18 differisce da quello delle cellule endoteliali che si definisce CD11a/CD18.

l'antigene.

A LIVELLO TERAPEUTICO questo tipo di composti è estremamente importante per il controllo delle autoimmunità; in particolare si possono utilizzare due tecniche:

- si inserisce una quantità molto consistente di un PEPTIDE ANTIGENICO compatibile con TCR in un campione: tale peptide si associa al TCR ma non presentando l'MHC di classe II, NON È CAPACE DI STIMOLARE LA PROLIFERAZIONE del linfocita T.
- È POSSIBILE BLOCCARE la relazione tra CD28 e B7 tramite anticorpi specifici, MA QUESTO INIBIREBBE TUTTI I TIPI DI REAZIONE DEL LINFOCITA T non solo all'antigene autoimmune.

A LIVELLO PRATICO IL PONTE ASPECIFICO È MOLTO PIÙ FACILE DA BLOCCARE.

È possibile utilizzare un altro metodo per vanificare il legame tra linfociti T e APC:

- Il linfociti T presentano costitutivamente sulla membrana plasmatica il RECETTORE CD 28.
- A SEGUITO DELLA ATTIVAZIONE IL LINFOCITA ESPONE una proteina di membrana detta CTLA-4 che presenta una affinità MAGGIORE RISPETTO AL B7 della APC; INOLTRE mentre il ponte B7/CD28 è un ponte di segnalazione in positivo il ponte B7/CTLA-4 è un ponte di natura INIBITORIA essenziale al controllo della risposta immunitaria.

a livello CLINICO, quindi, somministrando CTLA-4 si può INIBIRE LA COMBINAZIONE TRA CELLULA T E APC.

Tale molecola, purtroppo, presenta una EMIVITA PIUTTOSTO BREVE, per risolvere questo problema generalmente la si AL SEGMENTO Fc DELLE IMMUNOGLOBULINE IgG che prolunga nettamente la durata della azione della molecola stessa. In laboratorio è possibile formare complessi stabili.

Il complesso MHCII/TCR presenta costanti di dissociazione piuttosto alte, non è quindi molto stabile e per poter agire necessita di ponti che lo rinforzino.

I SUPERANTIGENI:

la molecola MHC di classe seconda viene riconosciuta GLOBALMENTE DAL TCR, E DEVE ESSERE RICONOSCIUTA DA ENTRAMBE LE SUE SUBUNITÀ, sia alfa che beta.

- ANTIGENI NORMALI: nell'individuo non immunizzato, POCHISSIME CELLULE T VENGONO STIMOLATE dalla invasione di un antigene, meno dell'1%.
- SUPERANTIGENI: si tratta di antigeni che invece di farsi riconoscere da entrambi i domini variabili, si fanno riconoscere da UNO SOLO DEI DUE. QUESTO INCREMENTA NETTAMENTE LA RISPOSTA IMMUNITARIA evocando reazioni anche nel 20-30% dei LINFOCITI T già alla prima invasione: questo avviene perché è MOLTO PIÙ PROBABILE CHE LINFOCITI T DIFFERENTI ABBIANO IN COMUNE UNA DELLE DUE CATENE e siano quindi compatibili con l'antigene. TRA LE PATOLOGIE ASSOCIATE A SUPERANTIGENI RICORDIAMO:
 - SHOCK DA ENTEROTOSSINA DELLO STAFFILOCOCCO: si tratta di un batterio gram positivo molto pericoloso, provoca infezioni PURULENTE. Il microorganismo sviluppa delle tossine che provocano avvelenamento del CIBO. Una persona esposta a questo tipo di infezione può sviluppare anche infezioni sistemiche e di tutto l'organismo legate al fatto CHE SI ATTIVA UNA RISPOSTA GENERALIZZATA che produce numerosissime CITOCHINE CHE PROVOCANO UNA FLOGOSI DIFFUSA.
 - SINDROME DI KAWASAKI: infezione delle arterie di grande-medio calibro associata a numerosi diversi fattori sia predisponenti che ambientali.
 - ECZEMA un particolare tipo di dermatite.

- ARTRITE REUMATOIDE.
- SCARLATTINA.
- DIABETE DI TIPO II in alcune sue forme.

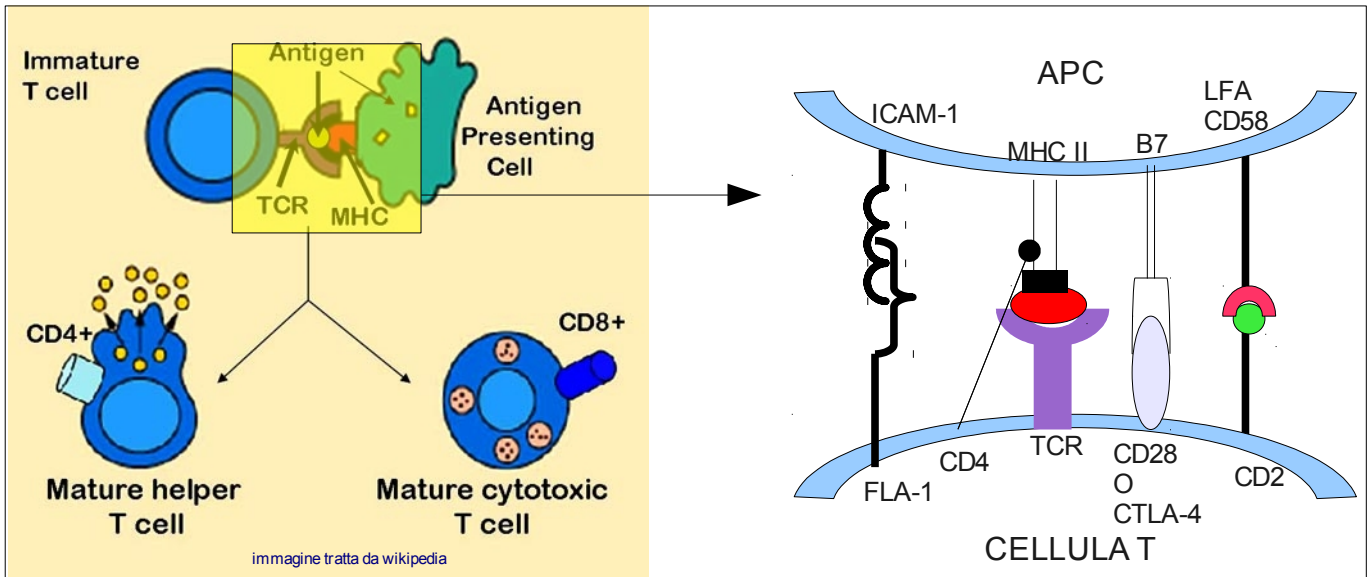
LA TRASMISSIONE DEL SEGNALE NEI LINFOCITI T:

IL TCR, come accennato in precedenza, ha una coda citoplasmatica molto corta che non è idonea alla trasmissione dello stimolo all'interno della cellula, per questo motivo sono presenti dei CORECETTORI:

- A questi recettori sono associate delle sequenze dette ITAM particolarmente ricche in residui di tirosina che devono essere fosforilate per ottenere una reazione.
- sono spesso associate a LIPID RAFTS che consentono la clusterizzazione della molecola.

complessivamente possiamo dire che:

- il CORECETTORE attiva due TIROSIN CHINASI dette:
 - FYN che si trova a distanza dai corecettori.
 - LCK che si trova alla base del corecettore CD4.queste CHINASI si devono avvicinare al COMPLESSO CORECETTORIALE dove cominciano a FOSFORILARE I RESIDUI DI TIROSINA delle sequenze ITAM delle catene zeta.
- alle CATENE FOSFORILATE SI ASSOCIA una proteina detta ZAP-70 che innesca la pathway intracellulare di trasmissione.
- ZAP 70 attiva tre vie di trasmissione INTRACELLULARE che innescano fattori di trascrizione appositi:
 - la via delle MAP chinasi che complessivamente porta alla ATTIVAZIONE DI UN FATTORE DI TRASCRIZIONE DETTO AP-1.
 - la via di attivazione della PLC e quindi la produzione di DAG e IP3 dove:
 - IP3 mobilita il calcio intracellulare e attiva una sequenza proteica così descrivibile:
 - calmodulina.
 - calciurerina.che attiva a sua volta FATTORI DI TRASCRIZIONE detti NFAT.
 - DAG che attiva la PROTEIN CHINASI C che, tramite una via di comunicazione intracellulare, attiva un terzo fattore di trascrizione detto NFKB.



I TRE FATTORI DI TRASCRIZIONE ATTIVATI sono oggi SPESSO OGGETTO DI FARMACI MOLTO UTILI NELLA SOPPRESSIONE DI REAZIONI IMMUNITARIE NON VOLUTE, come nei trapianti o nei fenomeni di autoimmunità.

IL RISULTATO DELLA ATTIVAZIONE DEI FATTORI DI TRASCRIZIONE:

QUESTA VIA HA UN TEMPO DI ATTIVAZIONE DI SECONDI O MINUTI, i fattori di trascrizione stimolano geni che codificano per PROTEINE COINVOLTE NELLA PROLIFERAZIONE del LINFOCITA, in particolare vengono prodotti:

- UNA CITOCHINA che:
 1. ha potere ormonale in senso attivante al proliferazione.
 2. viene detta INTERLEUCHINA 2 o IL-2.
 3. ha una attività molto potente come fattore di crescita.
- IL RECETTORE PER LA INTERLEUCHINA 2 STESSA che viene ESPOSTO SULLA MEMBRANA innescando una attività di natura AUTOCRINA.

questo fa si che la cellula cominci a PROLIFERARE fintanto che non verranno più sintetizzati i due fattori.

Complessivamente l'espansione clonale dei linfociti T porta ad un incremento di 100-1000 volte della clone abile a riconoscere l'antigene esposto.

L'INTERLEUCHINA E CHEMOCHINE NELLA ATTIVAZIONE LINFOCITARIA:

si tratta di molecole essenziali per garantire la funzionalità della risposta immunitaria: sono molecole a potere stimolante o chemiotattico. Distinguiamo:

- CITOCHINE O INTERLEUCHINE che sono molecole che agiscono direttamente su cellule inducendo date trasformazioni.
- CHEMOCHINE che sono molecole a potere chemiotattico, attraggono cioè con un gradiente, detto appunto chemiotattico, cellule coinvolte nella risposta immunitaria direttamente alla sede della infezione.

si tratta di molecole a basso peso molecolare.

LA INTERLEUCHINA 2:

si tratta di una interleuchina prodotta da cellule T sottoposte a stimolo antigenico e presenta un ruolo fondamentale nella stimolazione AUTOCRINA della cellula T stessa. Perché questo sistema possa funzionare correttamente, è indispensabile la presenza di un apposito recettore:

- RECETTORE AD ALTA AFFINITÀ A TRE CATENE: si tratta del migliore dei recettori

per questo tipo di molecola. È composto di catene alfa, beta e gamma.

- **RECELTTORE A BASSA AFFINITÀ A DUE CATENE:** si tratta di un recettore presente a livello di:
 - cellule T.
 - cellule NK.
 - cellule APC.

La differenza tra i due recettori sta nel fatto che il secondo necessita di quantità di INTERLEUCHINA MOLTO ELEVATE PER POTER ESSERE ATTIVATO.

IL RECELTTORE AD ALTA AFFINITÀ DELLE CELLULE T:

normalmente le cellule T presentano costitutivamente a livello della loro membrana il recettore a bassa affinità per la interleuchina 2 formato dal dimero beta-gamma, a seguito di una stimolazione ANTIGENICA LA CELLULA ESPONE SULLA MEMBRANA ANCHE LA COMPONENTE ALFA e DIVIENE MOLTO PIÙ SENSIBILE ALLO STIMOLO CITOCHINICO.

Ricordiamo che con il tempo il SISTEMA SI SPESNE in modo lento ma costante.

Come accennato in precedenza possiamo riconoscere fondamentalmente due tipi di linfociti T: i linfociti T helper e i linfociti T citotossici tra loro distinguibili in quanto espongono differenti marcatori di membrana:

- CD4⁺ per i linfociti T helper.
- CD8⁺ per i linfociti T citotossici.

LE CELLULE T HELPER:

le cellule T naive hanno il compito di attivare, tramite meccanismi molecolari differenti, diverse cellule fondamentali per il sistema immunitario; devono infatti:

- innescare la risposta CELLULO MEDIATA.
- innescare la risposta ANTICORPALE.

la CELLULA T HA LA POSSIBILITÀ GENETICA DI DIVENIRE:

- cellula T HELPER 1 che stimola la risposta CELLULO MEDIATA PRINCIPALMENTE.
- cellula T HELPER 2 che stimola la risposta UMORALE.

Questi due tipi di cellule PRODUCENDO CITOCHINE DIFFERENTI; TH0, o Tnaive, ha la capacità potenziale di produrle tutte.

LE T HELPER 1:

si tratta di cellule che producono prevalentemente tre tipi di citochine:

- INTERLEUCHINA 2 o IL-2.
- INTERFERON GAMMA o IFN-γ
- TUMOR NECROSIS FACTOR 2 o TNF-2.

LE T HELPER 2:

si tratta di cellule che producono prevalentemente cinque tipi di interleuchine:

- INTERLEUCHINA 3 o IL-3.
- INTERLEUCHINA 4 o IL-4.
- INTERLEUCHINA 5 o IL-5.
- INTERLEUCHINA 10 o IL-10.
- INTERLEUCHINA 13 o IL-13.

si tratta di un sistema chiaramente RIDONDANTE, in particolare ricordiamo che:

- interleuchine 2 e 15 hanno la medesima funzione.
- interleuchine 4 e 13 hanno la medesima funzione.

l'interleuchina 3 sembra inoltre sia prodotta da entrambi i tipi di linfociti. La ridondanza è indispensabile a garantire la corretta attivazione del sistema immunitario. Ricordiamo inoltre che:

- il GM-CSF (granulocyte monocyte colony stimulating factor) viene prodotto da entrambi i tipi di cellule: si tratta di un fattore che stimola la proliferazione di linee mieloidi a livello del midollo spinale.
- Le cellule TH1 hanno una CAPACITÀ DI ATTIVAZIONE TRASVERSALE: oltre a essere alla base della stimolazione della risposta cellulo mediata, stimola anche la proliferazione della linea TH2 alla base della risposta umorale.
- I due sistemi sono trasversalmente attivabili:
 - L'INTERLEUCHINA 4 È UN FATTORE DI PROLIFERAZIONE PER LE CELLULE TH2.
 - L'INTERLEUCHINA 2 È UN FATTORE DI PROLIFERAZIONE PER LE CELLULE TH1.

L'AUTOCONTROLLO DELLA ATTIVAZIONE DELLE CELLULE T:

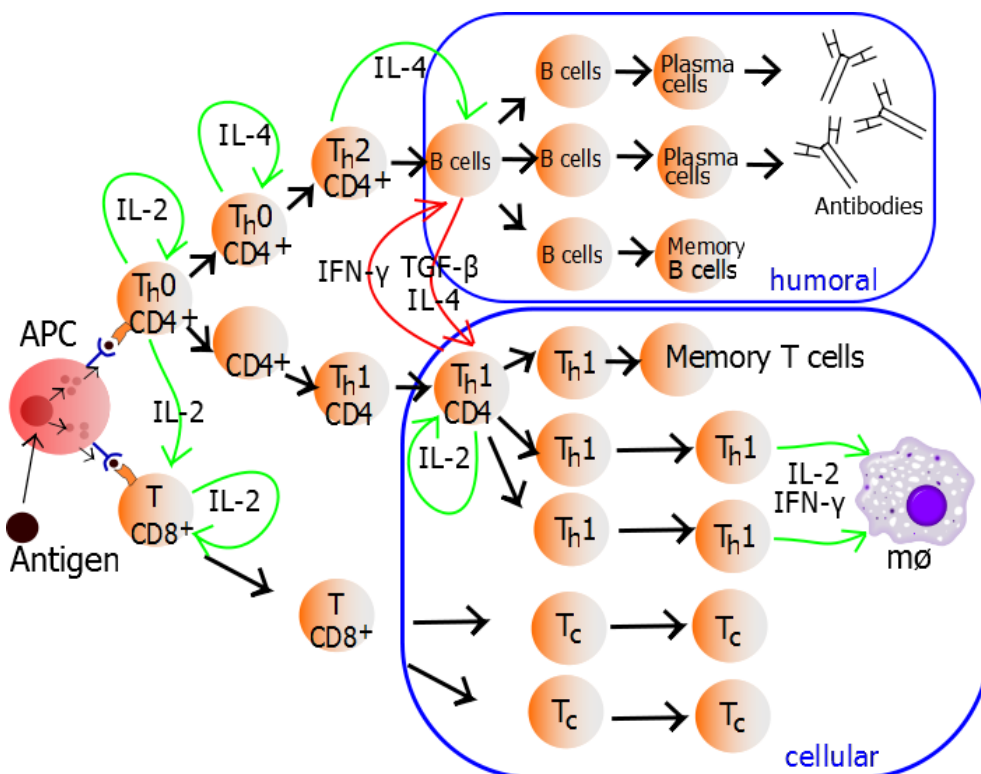
Ci deve essere un controllo della proliferazione delle due linee TH1 e TH2: le citochine stesse sono in grado di controllare trasversalmente le due risposte in modo opposto, in altre parole possiamo dire che i fattori prodotti da una linea sono inibitori rispetto all'altra. In particolare:

- l'interferon gamma o IFN- γ prodotto dalle cellule TH-1 presenta AZIONE INIBENTE RISPETTO ALLA LINEA TH2.
- L'interleuchina 10 o IL 10 prodotto dalle cellule TH2 HA AZIONE INIBENTE RISPETTO ALLA LINEA TH1.

Anche le cellule APC hanno potere STIMOLANTE RISPETTO ALLA PROLIFERAZIONE SELETTIVA DELLA CELLULE T0 e possono inviare due tipi di segnale:

- interleuchina 12 o IL12 che stimola la proliferazione della linea TH1 citotossica.
- UN DIFFERENTE FATTORE al momento non noto, CAPACE DI STIMOLARE LE CELLULE T0 A PROLIFERARE VERSO LA LINEA TH2 stimolante la risposta umorale.

LA



ATTIVAZIONE DELLE CELLULE B:



NORMALMENTE LE CELLULE B SONO ATTIVATE DA CELLULE TH, solo alcuni antigeni T indipendenti e B dipendenti possono attivare le cellule B direttamente come accennato in precedenza. I linfociti B hanno anche la capacità di presentare L'ANTIGENE:

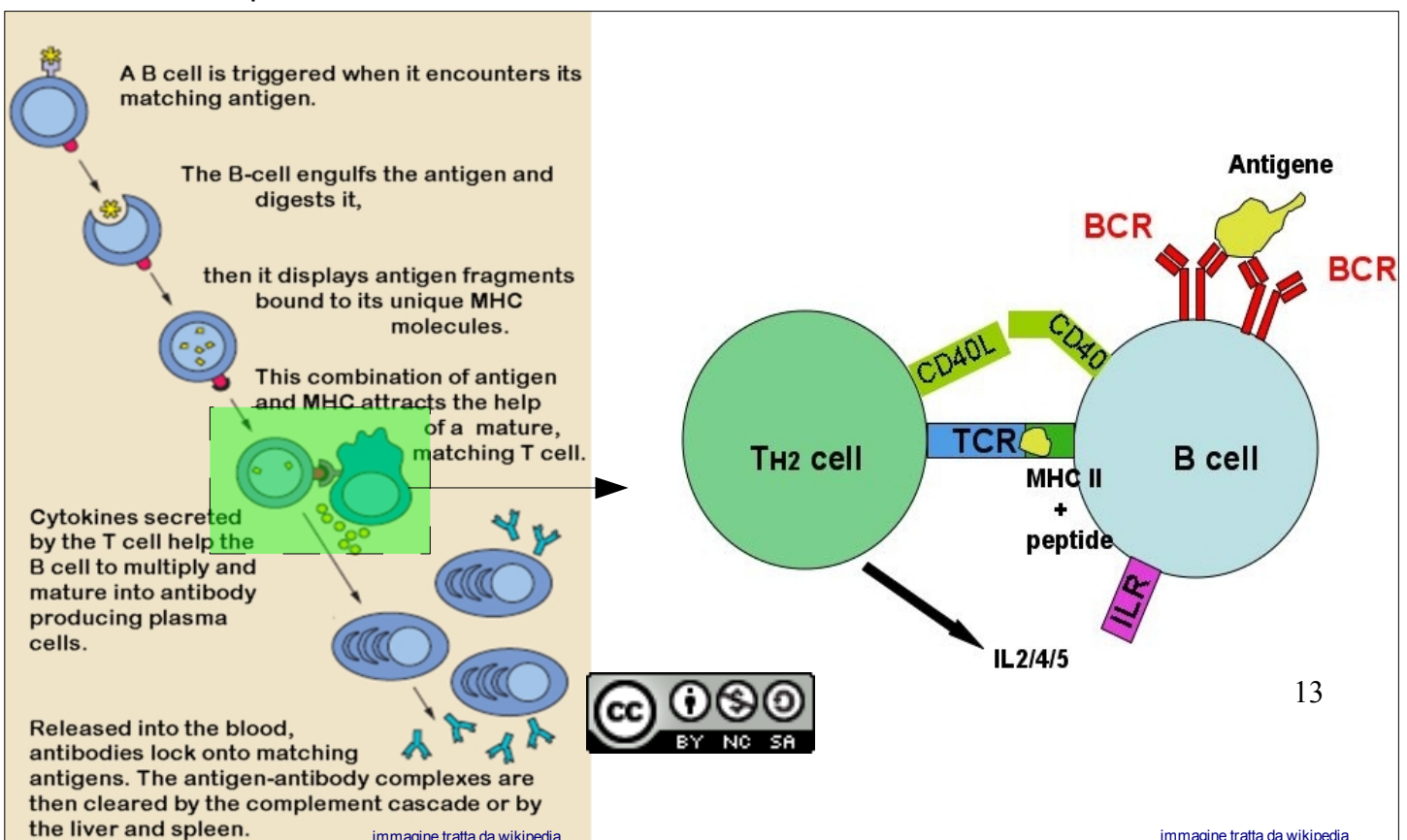
- NELLA RISPOSTA PRIMARIA sono poco importanti come APC in quanto lo specifico linfocita è presente in numero relativamente limitato.
- NELLA RISPOSTA SECONDARIA sono molto importanti anche come APC in quanto:
 - sono aumentate a livello numerico.
 - Hanno incrementato la loro specificità.

Possiamo distinguere due vie di attivazione della cellula B come accennato in precedenza:

LA ATTIVAZIONE T DIPENDENTE:

si tratta di un meccanismo di attivazione nel quale la cellula B per proliferare e divenire attiva necessita della presenza di un linfocita T helper attivo. Anche in questa via in ogni caso È NECESSARIO IL RICONOSCIMENTO DA PARTE DELLA CELLULA B dell'ANTIGENE, in caso contrario, il sistema non potrà essere attivato. Il processo avviene fondamentalmente in questo modo:

- LA CELLULA B RICONOSCE L'ANTIGENE in un processo che prevede la formazione di un CROSS LINK: due immunoglobuline di membrana si associano all'antigene CHE VIENE RICONOSCIUTO DALLA CELLULA B.
 - Si parla di PRIMO SEGNALE.
 - La cellula B naive è a questo punto nella fase mitotica G0.
- LA ATTIVAZIONE stimola una pathway intracellulare che porta alla ELABORAZIONE DELL'ANTIGENE RICONOSCIUTO che VIENE ESPOSTO SULLA SUPERFICIE ASSOCIATO AD UN MHC DI CLASSE II.
- LA CELLULA T riconosce l'M punto nella fase mitotica G1.
- LA CELLULA T, UNA VOLTA RICONOSCIUTA LA CELLULA B, RIORIENTA TUTTO IL SISTEMA VESICOLARE INTRACELLULARE E SECERNE IN DIREZIONE DELLA CELLULA B UNA GRANDE QUANTITÀ DI CITOCHINE.
 - La cellula B entra nella fase mitotica S e comincia a proliferare.
 - Si parla di TERZO SEGNALE.



SONO INDISPENSABILI TUTTI I SEGNALI SOPRA DESCRITTI per poter ottenere una RISPOSTA EFFICACE.

Ricordiamo infine che:

- i segnali che portano la cellula dalla fase G0 alla G1, cioè:
 - B7/CD28.
 - MHCII/TCR.
 - CD40/CD40L.

Sono detti SEGNALI DI COMPETENZA.

- I segnali che portano la cellula dalla fase G1 alla fase S, cioè alla vera e propria mitosi, sono detti SEGNALI DI PROGRESSIONE e sono sostanzialmente le CITOCHINE.

ATTIVAZIONE T INDIPENDENTE:

si tratta di un meccanismo di attivazione che fundamentalmente NON RICHIEDE LA PRESENZA DI CELLULE T e si basa, come accennato in precedenza, su due tipi di antigeni T indipendenti.

LA RISPOSTA INTRACELLULARE DELLA CELLULA B:

RISPOSTA AL LEGAME CON L'ANTIGENE:

LA ATTIVAZIONE INTRACELLULARE DELLA CELLULA B AVVIENE, analogamente a quanto avviene per la cellula T, GRAZIE ALLA PRESENZA DI CORECETTORI.

Complessivamente il legame tra immunoglobulina di membrana e antigene porta alla attivazione di una via di questo tipo:

- le sequenze ITAM del corecettore della immunoglobulina attiva alcune molecole della famiglia Src:
 - Fyn.
 - Blk.
 - Lck.

Si attiva un complesso di chinasi che fosforila i residui ITAM stessi.

- La fosforilazione dei siti sopra descritti attiva una Syk chinasi.
- Si attiva a questo punto una via di trasmissione intracellulare che porta alla attivazione:
 - DELLA FOSFOLIPASI C che IDROLIZZA IL fosfatidil inositolo trifosfato in DAG e IP3 portando a:
 - rilascio di calcio.
 - Attivazione della protein chinasi C.
 - DI ALCUNE PICCOLE G PROTEINS che vanno ad agire a livello nucleare stimolando la trascrizione di alcuni geni.

Questo processo può essere FACILITATO DALLA ATTIVAZIONE DI UN COMPLESSO CORECETTORIALE composto di tre proteine:

1. CD19
2. CR2 (CD21): si tratta in questo caso di una proteina del complemento modificata ed espressa in forma recettoriale.
3. TAPA1 (CD81)

la attivazione di questo complesso non è indispensabile ai fini della risposta umorale, tuttavia incrementa notevolmente la sensibilità del sistema:

- nel caso in cui la attivazione non coinvolga questo complesso, devono essere attivate direttamente dall'antigene 10^4 immunoglobuline di membrana.

- Nel caso in cui tale complesso sia attivato, è sufficiente la attivazione di 10^2 immunoglobuline di membrana.

RISPOSTA ALLA SECREZIONE DI CITOCHINE DA PARTE DELLA CELLULA T:

LA ATTIVAZIONE ALLA PROLIFERAZIONE, come accennato in precedenza, AVVIENE GRAZIE A RECETTORI PER LE INTERLEUCINE 2 E 4: a differenza delle cellule T tuttavia, le cellule B non sono capaci di produrre autonomamente interleuchine e dipendono da questo punto di vista, almeno per gli antigeni T dipendenti, dai linfociti T stessi.

LA STIMOLAZIONE AL CLASS SWITCH:

Il meccanismo del CLASS SWITCH è strettamente legato alla attività delle cellule T e a segnali citochinici da esse inviati alle cellule B; questo è tanto vero che:

- SE l'antigene è B dipendente e T indipendente, allora la classe di immunoglobuline espresse rimane quasi sempre la stessa.
- SE l'antigene è T dipendente, È POSSIBILE UN CLASS SWITCH che anzi avviene in modo molto frequente.

I LINFOCITI T hanno la CAPACITÀ DI PRODURRE FATTORI CHE STIMOLANO IL CLASS SWITCH:

- in modo DIFFERENTE A SECONDA DELL'ANTIGENE CHE IL CORPO SI TROVA AD AFFRONTARE
- si tratta di INTERLEUCINE SPECIFICHE.
- Le cellule Th1 possono aiutare le cellule Th2 nel fornire informazioni specifiche alle cellule B relativamente alla classe o sottoclasse che deve essere attivata.

Tra i fattori coinvolti ricordiamo:

- IL 4-5-2 che STIMOLANO LA PRODUZIONE DI IgM.
- IL 4-6-2 e IFN- γ STIMOLANO LA PRODUZIONE DI IgG.
- IL 4-13 STIMOLANO LA PRODUZIONE DI IgE: si tratta dell'unico switch dipendente unicamente da cellule T2 e non da cellule T1 che non producono questi fattori; tale class switch è strettamente legato alle allergie.
- IL 5 e TGFB (transforming growth factor beta) prodotto da un terzo tipo di linfocita T3, CHE STIMOLANO LA PRODUZIONE DI IgA.

il class switch è quindi sotto stretto controllo di FATTORI CELLULARI che in ordine di importanza sono:

- TH2 che producono al gran parte dei fattori coinvolti.
- TH1 essenziali per le IgE e adiuvanti rispetto agli altri tipi di class switch.
- TH3 coinvolto nella produzione di IgA.

IL TGFB È UNA CITOCHINA FONDAMENTALE PER LA STIMOLAZIONE ALLA PRODUZIONE DI IgA SOPRATTUTTO NELLE MUCOSE.

Una cellula B può, nel corso della sua vita, produrre due tipi (con alcune eccezioni) di immunoglobuline, non di più: una volta eseguito un class switch la cellula perde la capacità di sintetizzare immunoglobuline precedentemente prodotte.

GLI ORGANI LINFOLDI:

LINFONODI E LINFOGHIANDOLE:

Il sistema linfatico è composto di numerosi e diversi organi distinguibili fondamentalmente in due grandi categorie:

- organi linfoidi primari a livello dei quali i linfociti non solo maturano, ma sono anche prodotti; ricordiamo il midollo osseo e il timo.
- Organi linfoidi secondari a livello dei quali i linfociti maturano e stazionano;

ricordiamo quindi MILZA e LINFONODI per esempio⁴.

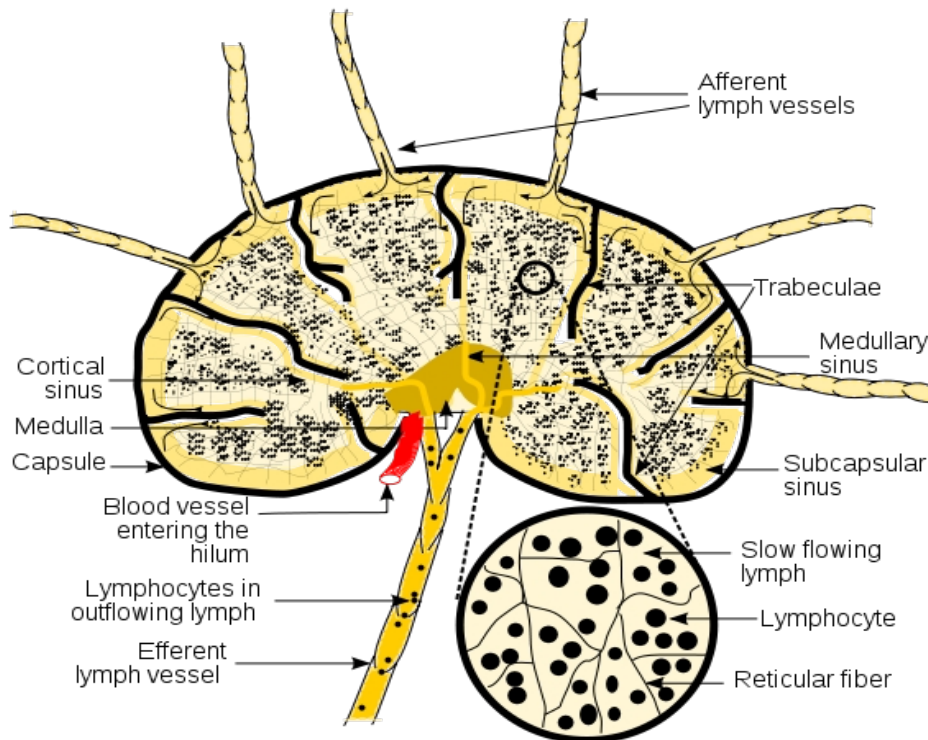
IL SISTEMA LINFATICO è un sistema di vasi che si occupa del trasporto e della filtrazione della linfa e si distingue chiaramente dal sistema dei vasi sanguiferi; il sistema linfatico:

- nasce in periferia a livello dello spazio interstiziale.
- è completamente aperto.
- veicola linfa alle linfoghiandole e al sistema circolatorio centrale.

IL LINFONODO:

si tratta di una stazione di filtrazione della linfa strutturata fondamentalmente in questo modo:

- presenta un sistema di vasi in ingresso.
- Presenta un seno periferico posto al di sotto della capsula.
- Presenta un ilo dal quale escono I VASI LINFATICI E SANGUIGNI.



A livello della struttura interna del linfonodo possiamo distinguere una regione corticale distinta in due aree operativamente divise tra loro:

- CORTICALE PROPRIAMENTE DETTA che è B DIPENDENTE E ORGANIZZATA IN FOLLICOLI.
- ZONA PARACORTICALE che è T DIPENDENTE E ORGANIZZATA IN MODO OMOGENEO⁵.

Questa parte del linfonodo è di fatto il centro e nucleo a livello del quale si ha la risposta all'antigene; distinguiamo quindi fondamentalmente due casi:

- se l'antigene stimola una risposta CITOTOSSICA si ha una stimolazione esclusiva della parte PARACORTICALE del linfonodo.
- se l'antigene stimola una risposta UMORALE si sviluppano ENTRAMBE LE REGIONI corticale e paracorticale. La regione CORTICALE va inoltre incontro a

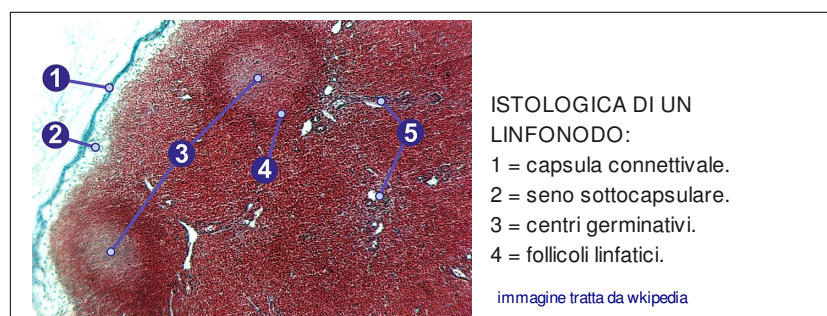
⁴ Gli organi coinvolti sono molto numerosi in realtà, ricordiamo le tonsille, le placche di Peyer ecc...

⁵ La dipendenza di questa zona dalla presenza di cellule T è tanto stretta che in topi timectomizzati e individui privi di timo la zona paracorticale non è presente.

trasformazioni notevoli e distinguiamo:

- FOLLICOLI PRIMARI PICCOLI E SCURI, NON ATTIVI.
- FOLLICOLI SECONDARI che si attivano grazie alla presenza di ANTIGENI B DIPENDENTI divenendo:
 - CHIARI a livello del centro del follicolo che viene detto CENTRO GERMINATIVO.
 - MOLTO PIÙ GRANDI.

Se entrambe le zone vengono attivate A LIVELLO DEL LIMITE TRA LA ZONA CORTICALE E PARACORTICALE SI ASSISTE AD UN NOTEVOLE INCREMENTO DELLA ATTIVITÀ legata alle interazioni tra cellule B e T.



I VASI DEL LINFONODO:

i vasi sanguigni VENOSI in questa regione PRESENTANO un struttura caratterizzata da UN ENDOTELIO ALTO e si definiscono HIGH ENDOTHELIAL VENULES o HEV: le cellule endoteliali di questo tipo di vene SONO UNICHE IN TUTTO IL NOSTRO ORGANISMO

- dal punto di vista STRUTTURALE.
- Dal punto di vista FUNZIONALE: SONO LE UNICHE CELLULE ENDOTELIALI CHE CONSENTO LA FUORIUSCITA FISIOLGICA DI CELLULE LINFOCITARE DAL SANGUE.

Attraverso questo tipo di endotelio si forma una vero e proprio traffico linfocitario che assume il nome di RICIRCOLAZIONE LINFOCITARIA per cui:

- linfociti passano attraverso tale endotelio.
- si portano alla regione paracortice.
- controllano l'attività locale:
 - se non sono presenti antigeni, allora la cellula T esce dal linfonodo e viaggia nel sangue.
 - se è presente un antigene, la cellula T si ferma, lo riconosce, prolifera per poi riportarsi nel sangue ad eseguire la sua azione.

si tratta fondamentalmente di CENTRI DI INCONTRO E RICONOSCIMENTO DELL'ANTIGENE DA PARTE DEI LINFOCITI.

MOLECOLE DI SUPERFICIALI DELLE HEV:

si tratta di molecole essenziali a garantire la interazione tra cellule T e cellule endoteliali fondamentale per garantire il passaggio delle molecole attraverso l'endotelio stesso; in particolare;

- L SELECTINA linfocitaria.

- PNA_d ESPRESSE IN MODO SPECIFICO DALL'ENDOTELIO.

I PROCESSI DI HOMING:

le molecole di riconoscimento e adesione cellulare all'endotelio, eccezion fatta per le HEV dove il passaggio di linfociti è fisiologico, non sono tutte uguali tra loro: NEL CORSO DEI LORO PROCESSI DI MATURAZIONE I LINFOCITI T ASSUMONO LA CAPACITÀ DI ESPRIMERE SELECTINE E INTEGRINE SELETTIVE PER UN DATO TESSUTO al quale sono indirizzate. Si parla in questo caso di processi di HOMING specifici che presentano una regolazione molto precisa.

ALTRI ORGANI LINFOIDI:

OLTRE AI LINFONODI, descritti in precedenza, ESISTONO ALTRI ORGANI CHE POSSONO CONTRIBUIRE IN MODO FORTE ALLA RISPOSTA IMMUNITARIA; ricordiamo in particolare milza, tonsille e placche di Peyer.

LA MILZA:

si tratta di un organo pieno che si colloca nell'ipocondrio sinistro; complessivamente tale organo presenta una struttura bipartita:

- POLPA ROSSA che presenta funzione emocateretica, distrugge cioè i globuli rossi a seguito del loro invecchiamento.
- POLPA BIANCA che invece rappresenta la parte leucocitaria della milza stessa; tale regione presenta UNA FUNZIONE FONDAMENTALE NEL DRENAGGIO DEI MICROORGANISMI PRESENTI NEL PLASMA e non nel circolo linfatico come i linfonodi.

fondamentalmente la struttura della milza si organizza attorno alle strutture vascolari che penetrano nell'organo:

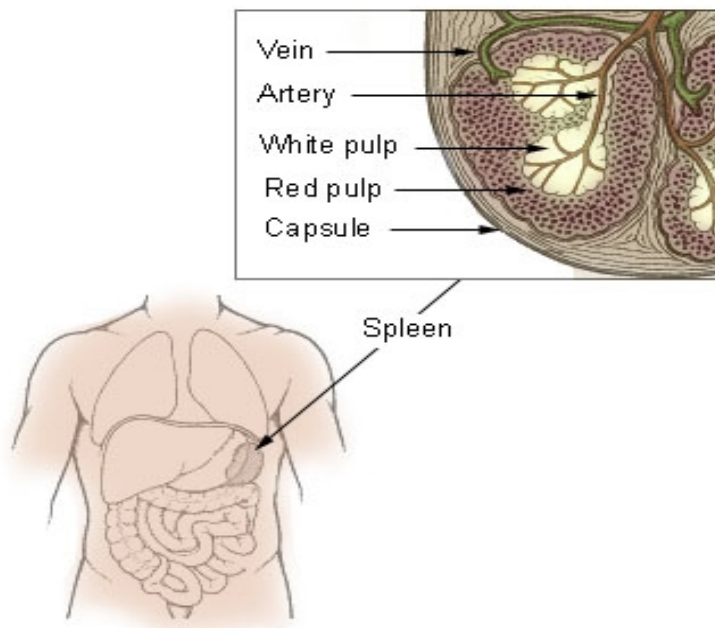
- strutture arteriose penetrano nella milza e risultano avvolte da manicotti che sostanziano la polpa bianca, detta appunto polpa bianca, ricca in linfociti.
- penetrando oltre la polpa bianca, si sviluppano delle sinusoidi dove la milza realizza le sue funzionalità emocateretiche.

si individuano anche in questo caso due zone distinte all'interno della sostanza bianca:

- zona B dipendente si tratta di una regione organizzata in follicoli immersi nei manicotti della polpa bianca; analogamente a quanto avviene nelle linfoghiandole anche in questo caso i follicoli all'arrivo dell'antigene si sviluppano:
 - divengono più grandi.
 - sviluppano un centro germinativo centrale. divenendo follicoli secondari.
- zona T dipendente che costituisce tutto il resto del manicotto.

ricordiamo l'esistenza di MILZE SUCCENTURIATE: si tratta di strutture milza simili che si collocano nelle zone limitrofe alla milza e che possono presentare la medesima funzione della milza stessa.

Spleen



TERRITORI LINFOIDI SPARSI:

i territori linfoidi sparsi sono numerosissimi e diffusissimi in tutto il corpo; ricordiamo in particolare alcuni punti fondamentali:

LE TONSILLE E L'ANELLO DEL WALDEYER:

si tratta di una zona di filtro fondamentale per il controllo dell'ingresso degli antigeni nei sistemi digerente e respiratorio, si tratta di zone ad elevata concentrazione di linfociti B rivestite di UNA STRUTTURA EPITELIALE.

LA PLACCA DI PAYER:

La parete intestinale dell'intestino tenue presenta una grande quantità di placche di Payer IN PARTICOLARE RISULTA RIVESTITA DI LINFOCITI: in questa sede si trovano soprattutto linfociti di tipo B e PLASMACELLE che producono grandi quantità di IgA CHE VENGONO ESCRETE DIRETTAMENTE NEL LUME INTESTINALE.

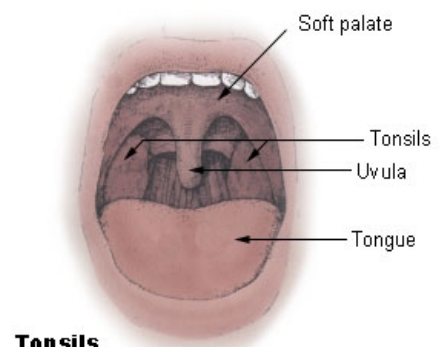
BRONCHI:

soprattutto in questo territorio possiamo trovare una grande popolazione di linfociti che ci proteggono da invasioni di ogni genere.

LA REGOLAZIONE DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA:

la risposta deve essere in qualche modo regolata, ricordiamo in particolare due fattori fondamentali che contribuiscono a questo tipo di controllo:

- **antigene:** il sistema stesso è formulato per rispondere all'antigene, la sua sola presenza è capace di scatenare:
 - UNA RISPOSTA NATURALE.
 - UNA RISPOSTA SPECIFICA ESSENZIALE AD INDURRE UN FENOMENO DI MEMORIA;



la risposta si sviluppa:

- tramite IgM sempre e subito, permane tale unicamente per gli antigeni B dipendenti.
 - tramite IgG, IgA (nelle mucose) e IgE (nelle allergie e parassitosi) per gli antigeni T dipendenti, si tratta di meccanismi di class switch.
- la risposta anticorpale in relazione a diversi fattori che evoca come:
 - la diretta inibizione della attività delle cellule B.
 - la capacità dell'anticorpo stesso di eliminare l'antigene e quindi di ridurre la risposta immunitaria.

L'ANTIGENE NELLA REGOLAZIONE DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA:

Come sappiamo l'antigene genera nel nostro organismo una risposta di tipo differente a seconda che si tratti della prima o della seconda invasione.

la risposta primaria:

complessivamente possiamo individuare due fasi per questa risposta:

- UNA FASE DI LATENZA di circa 10giorni PRIMA DELLA COMPARSA DELLE IgM, si tratta di un periodo fondamentale ad individuare il clone utile al riconoscimento dell'antigene.
- UNA FASE SUCCESSIVA dove vengono prodotte IgG, molto più utili alla risposta immunitaria.

La prima risposta permane alla prima invasione in ogni caso modesta e il titolo anticorpale piuttosto basso. Con il tempo, a meno che non si abbia una seconda stimolazione si assiste ad un calo della produzione di immunoglobuline.

la risposta secondaria:

nel momento in cui l'antigene aggredisca una seconda volta l'organismo, I LINFOCITI PRODOTTI nella risposta primaria sono già presenti e RISPONDONO IN MODO FORTE: si ha un incremento della risposta immunitaria in forma di IgG generalmente. Rispetto alla risposta primaria possiamo sottolineare che:

- tutto è più rapido in quanto ci sono molte più cellule B pronte ad aggredire l'antigene.
- anche in questo caso sono presenti due fasi della risposta immunitaria:
 - IgM molto rapida e precoce tanto che non la vediamo neppure a livello di analisi.
 - IgG prodotte in modo consistente.

L'obiettivo delle vaccinazioni è proprio quello di stimolare una risposta di tipo primario di modo da ottenere risposte di tipo secondario notevoli.

noto il funzionamento del sistema immunitario in questo senso, lo stadio della infezione può essere valutato in termini pratici:

infezioni in atto per esempio di rosolia durante una gravidanza sono pericolose a livello TERATOGENO, risulta quindi essenziale valutare il TITOLO ANTICORPALE DELLA MADRE che può essere anche malata senza saperlo; si eseguono generalmente due prelievi distinti a distanza di tempo:

- se il titolo anticorpale aumenta la infezione è in corso.
- se il titolo anticorpale è stabile nei due prelievi, la infezione è pregressa.

L'ANTICORPO NELLA REGOLAZIONE DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA:

I meccanismi tramite cui l'anticorpo è capace di regolare la risposta immunitaria sono fondamentalmente due: una regolazione indiretta, data dalla capacità dell'anticorpo di eliminare l'antigene, una risposta indiretta, data dalla presenza di particolari recettori a livello delle cellule B stesse.

L'EMIVITA DELL'ANTIGENE e LA RISPOSTA ANTICORPALE:

chiaramente la emivita dell'antigene è strettamente legata alla presenza o assenza di anticorpi:

- in assenza di anticorpi la clearance dell'antigene è relativamente bassa.
- in presenza di anticorpi la clearance aumenta in modo considerevole.

a seguito di tale eliminazione cessa lo stimolo alla proliferazione e alla operatività delle cellule B e quindi cala la risposta immunitaria.

LA REGOLAZIONE DIRETTA DELLA ATTIVITÀ DELLE CELLULE B:

fondamentalmente il sistema di controllo della attività delle cellule B da parte delle Ig si basa su due fenomeni:

- inibizione diretta tramite la percezione della presenza del recettore Fc.
- inibizione diretta tramite la presenza di anticorpi anti idiotipici.

IL RECETTORE PER LA FC CD32B:

Come sappiamo i recettori per i frammenti Fc delle immunoglobuline sono tre:

- CD64: essenziale per lo smaltimento delle Ig che hanno svolto la loro funzione, presenta alta affinità e percepisce Ig libere nel sangue.
- CD32: percepisce la Ig legata all'antigene.
- CD16: percepisce la Ig legata all'antigene.

CD32 e CD16 giocano un ruolo fondamentale nella RISPOSTA IMMUNITARIA:

- opsonizzano l'antigene batterico e ne stimolano la fagocitosi.
- bloccano l'azione di proteine virali di adesione.

I LINFOCITI B PRESENTANO detto CD32B sensibile al frammento Fc delle immunoglobuline, in particolare i recettori CD32 presentano due isoforme:

- A stimolante la fagocitosi.
- B che ha invece funzione regolativa.

i recettori CD32B linfocitari svolgono una funzione di questo tipo:

- sono associati a sequenze citoplasmatiche dette non ITAM ma ITIM: si tratta di sequenze ad attività inibente la proliferazione cellulare.
- il recettore ingaggiato dal complesso IMMUNE attiva un segnale di INIBIZIONE DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA.

Tramite questo tipo di meccanismi è possibile controllare la risposta immunitaria e tale possibilità viene SFRUTTATA IN TERAPIA; se si inietta un complesso antigene anticorpo, si verifica un meccanismo di questo tipo:

- le immunoglobuline di superficie riconoscono l'antigene e lo catturano.
- il recettore della Fc CD32B RICONOSCE LA IMMUNOGLOBULINA ASSOCIATA ALL'ANTIGENE E INIBISCE LA REAZIONE DELLA CELLULA B.

La presenza insomma di questo duplice segnale presenta attività INIBENTE.

la ISOIMMUNIZZAZIONE MATERNO-FETALE:

Si tratta di una profilassi che si esegue per donne Rh negative che presentino una gravidanza con feto Rh positivo; in una situazione normale:

- a seguito del distacco della placenta la donna entra in contatto con il sangue del feto.
- Vengono prodotti anticorpi contro gli antigeni del gruppo Rh positivo.

Gli anticorpi prodotti chiaramente non agiscono sul figlio appena nato, ma potrebbero aggredire un eventuale secondo figlio che presenti un gruppo sanguigno Rh positivo. La terapia prevede la somministrazione di anticorpi ad altissimo titolo anti Rh: tali anticorpi si legano agli antigeni passati durante il distacco della placenta nel circolo materno e FORMANO COMPLESSI IMMUNI CHE METTONO A RIPOSO I LINFOCITI B POTENZIALMENTE PERICOLOSI.

ANTICORPO ANTI IDIOTIPO NELLA MODULAZIONE DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA:

per quanto riguarda gli anticorpi anti idiotipo distinguiamo due casi fondamentalmente:

- SE L'ANTICORPO È DIRETTO CONTRO LA PARTE SUPERVARIABILE ha un effetto STIMOLANTE la risposta immunitaria.
- SE DIRETTO CONTRO LA CORNICE l'anticorpo ha un effetto INIBENTE in quanto modifica stericamente la forma della molecola rendendola incompatibile con l'antigene.

LA RETE IDIOTIPICA:

Niels Kaj Jerne negli anni ottanta fece una ipotesi di lavoro di questo tipo: in ognuno di noi non esistono solo cloni nati casualmente per riconoscere ed eliminare un dato antigene, ma esiste una RETE IDIOTIPICA per la quale ognuno di noi possiede idealmente due tipi di cellule che si attivano in risposta all'antigene:

- CLONE 1 che ha recettori specifici contro quell'antigene.
- CLONI di livello differente che PRODUCONO ANTICORPI ANTI ANTICORPI SONO ANTICORPI CHE PRODUCONO Ig CONTRO ALTRI ANTICORPI e che possono essere di diversi tipi, in particolare:
 - anticorpi IDIOTIPICI COMPATIBILI CON LA REGIONE CORNICE DELLA IMMUNOGLOBULINA DI MEMBRANA e a funzione quindi inibente.
 - Anticorpi CAPACI DI CONTROLLARE LA RISPOSTA ANTICORPALE ANTI IDIOTIPICA.
 - Anticorpi rivolti contro la REGIONE SUPERVARIABILE DELLA IMMUNOGLOBULINA DI MEMBRANA e quindi AD AZIONE STIMOLATORIA.

Al momento sono stati identificati anticorpi di diverso livello, primo, secondo e terzo sono stati individuati in modo certo, non si sa se esistono anticorpi di livello ancora superiore. Sappiamo per certo a livello sperimentale che PAZIENTI PIÙ INCLINI AD ACCETTARE TRAPIANTI DI ORGANO presentano UN'ELEVATA ATTIVITÀ DI CELLULE B DI SECONDO LIVELLO capaci di produrre anticorpi LIMITANTI LA RISPOSTA IMMUNITARIA.

IL RUOLO DELLE CELLULE T NELLA RISPOSTA IMMUNITARIA:

cellule T reg:

Le cellule T sono delle cellule che riconoscono tutti gli antigeni T dipendenti, accanto a questa popolazione SI TROVANO DELLE CELLULE T A FUNZIONE REGOLATIVA dette T REG; tali cellule:

- originano dal TIMO.
- RISULTANO DISTINGUIBILI DALLE CELLULE T HELPER NORMALI GRAZIE ALLA PRESENZA DI DUE MARCATORI:
 - CD25+ che è la catena alfa del recettore per la IL2.
 - CD4+ tipico dei T helper.
 - un enzima DETTO FOXP3 si tratta di un enzima specifico di questo tipo di cellule e che viene utilizzato spesso per marcare tali cellule.

cellule T citotossiche CD8+:

Accanto a questo tipo di cellule esistono anche cellule T CD8+ a funzione SOPPRESSIVA, si tratta di cellule che hanno un duplice compito:

- EFFETTORE CITOTOSSICO.
- REGOLATORE INIBENTE.

analogamente alle precedenti, anche queste possono presentare:

- il recettore CD25+.
- la capacità di produrre l'enzima FOXP3.

cellule T helper 3:

un terzo gruppo di cellule regolative sono tipicamente le TH3 che producono in particolare una citochina, IL TUMOR NECROSIS FACTOR BETA. Analogamente alle precedenti cellule T anche queste cellule:

Giordano Perin; immunologia 3: le fasi afferente ed efferente della risposta immunitaria

- presentano un marcatore CD25+ di membrana.
- presentano la capacità di produrre l'enzima FOXP3.

COMPLESSIVAMENTE QUINDI possiamo dire che il controllo della risposta immunitaria è responsabilità di:

- in modo SPECIFICO da:
 - cellule T in particolare T reg, cellule T citotossiche, cellule T helper 3.
 - cellule B.
- in modo ASPECIFICO da FATTORI CITOCHINICI liberati nel plasma da diverse cellule come TNF-beta E IL10.

ALTRI FATTORI FONDAMENTALI UTILI NEL CONTROLLO CLINICO DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA sono I CORTISONICI.

LA REAZIONE ANTIGENE ANTICORPO:

nel momento in cui un anticorpo, di qualsiasi tipo, incontra un antigene, ha l'obiettivo di eliminare l'antigene stesso, fondamentalmente tale azione si estrinseca in due modi:

- ELIMINANDOLO DIRETTAMENTE come avviene molto raramente.
- INCREMENTANDONE LA CLEARANCE come avviene praticamente per tutti gli antigeni.

Le forze di INTERAZIONE TRA LE ANTIGENE E ANTICORPO SONO DEBOLI, in particolare si tratta generalmente di:

- forze di van der Waals.
- ponti idrogeno.
- legami idrofobici.

L'instaurarsi di tali interazioni richiede un contatto molto stretto tra antigene e anticorpo che si devono trovare a distanze di circa $1 \cdot 10^{-7}$ mm (1 \AA) tra loro.

Fondamentalmente la presenza di legami deboli è data dal fatto che durante i processi DI PRODUZIONE DELL'ANTICORPO possono essere creati ANTICORPI A MAGGIORE COMPATIBILITÀ CON L'ANTIGENE rispetto a quelli prodotti inizialmente.

Esistono fondamentalmente due FATTORI attraverso i quali possiamo SAPERE QUALE SIA IL LIVELLO DI BONTÀ DELLA REAZIONE ANTIGENE-ANTICORPO, si tratta di:

- AFFINITÀ.
- AVIDITÀ.

Fondamentalmente nel momento in cui antigene e anticorpo si incontrano, si avrà la formazione di un complesso ANTIGENE ANTICORPO, generalmente indicato come Ag*Ab. Le condizioni alle quali si forma questo legame svolgono un ruolo significativo nella sua attuazione; in particolare ricordiamo:

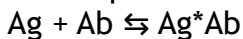
- temperatura il cui optimum è 37°C .
- pH il cui optimum è 7.3.

È importante in ogni caso sottolineare il fatto che le condizioni sono relativamente elastiche rispetto a quanto non sia per LE REAZIONI ENZIMATICHE normali; variazioni anche di qualche grado della temperatura non influiscono in modo significativo sulla reazione di associazione.

LA COSTANTE DI DISSOCIAZIONE:

Un fattore fondamentale da tenere in considerazione è LA COSTANTE DI DISSOCIAZIONE: come per una reazione chimica, anche il legame tra antigene ed anticorpo è una reazione ALL'EQUILIBRIO, i complessi immuni possono infatti associarsi e dissociarsi. Complessivamente al termine della reazione si raggiunge una SITUAZIONE DI EQUILIBRIO alla quale mai il 100% delle molecole sarà associato a formare il complesso antigene-

anticorpo. Possiamo rappresentare il tutto in questo modo:



dove fondamentalmente:

- k_1 è la costante per la reazione di associazione.
- K_2 è la costante per la reazione di dissociazione.

Il fattore determinante che si assume in clinica come indice della bontà della relazione è quindi il RAPPORTO TRA K_1 e K_2 e viene definito K_a o COSTANTE DI ASSOCIAZIONE. dove:

$$K = K_1/K_2$$

Naturalmente tale costante è valutabile direttamente con la legge delle azioni di massa dove:

$$K_a = [\text{Ag}^*\text{Ab}]/[\text{Ag}][\text{Ab}]$$

Il reciproco di tale grandezza, detto k_d o COSTANTE DI DISSOCIAZIONE, è indice della stabilità del complesso antigene anticorpo.

È possibile valutare il valore DELLA COSTANTE DI ASSOCIAZIONE tramite meccanismi di DIALISI ALL'EQUILIBRIO:

- si utilizza una provetta dotata un filtro capace di far passare molecole di circa 20Kd.
- si preparano degli APTENI che, formato l'anticorpo, interagiscono con esso, RADIOMARCATI.
- viene immersa la provetta in un contenitore con del liquido.
- Si immettono anticorpi anti aptene nel campione iniziale, a questo punto:
 - gli anticorpi che incontrano l'aptene si associano ad esso e lo bloccano all'interno della provetta per questioni di dimensioni.
 - Gli apteni liberi fluiscono attraverso la membrana nel contenitore esterno.

VALUTANDO LA QUANTITÀ DI APTENE CHE FLUISCE ATTRAVERSO LA MEMBRANA È POSSIBILE VALUTARE LA COSTANTE di AFFINITÀ TRA ANTIGENE E ANTICORPO: nella provetta dove sia presente anche l'antigene legato all'anticorpo, avremo una maggiore fluorescenza.

Ricordiamo in ogni caso che se un organismo viene immunizzato, si assiste ad un incremento:

- della QUANTITÀ.
- Della QUALITÀ.

Delle Ig⁶ prodotte da tale organismo.

Noto tutto questo, possiamo definire:

- AFFINITÀ:
tale grandezza è espressa dalla costante sopra descritta, in particolare:
 - si misura in litri per moli.
 - si colloca generalmente ad ordini di grandezza di 10^{-5} - 10^{-9} .
- AVIDITÀ:

Si tratta di un fattore che rappresenta la MOLTEPLICITÀ DI LEGAMI CHE L'ANTICORPO È CAPACE DI FORMARE CON L'ANTIGENE, l'anticorpo a fattore di avidità maggiormente elevato, è sicuramente la IgM in quanto presenta un numero maggiormente elevato di siti di legame.

I due concetti di sono CHIARAMENTE SVINCOLATI uno dall'altro: un anticorpo ad alta AVIDITÀ SPESSO HA UNA BASSA AFFINITÀ, questo vale soprattutto per le IgM, e un

⁶ se dobbiamo curare una intossicazione da tossina tetanica, una Ig prodotta in una risposta secondaria avrà un effetto decisamente molto più forte.

anticorpo ad alta AFFINITÀ può presentare una avidità relativamente bassa, come avviene per le IgG.

Naturalmente influiscono in questo tipo di reazioni anche FATTORI RELATIVI ALLA STRUTTURA DELL'ANTIGENE, ricordiamo infatti che generalmente la risposta è DI NATURA POLICLONALE.

CONSEGUENZE ALLA FORMAZIONE DEL COMPLESSO IMMUNE:

A seguito della formazione del complesso immune l'antigene viene generalmente ELIMINATO, possiamo dire che complessivamente al legame tra le due molecole si assiste generalmente o ad una AGGLUTINAZIONE, nel caso in cui l'antigene sia corpuscolato, o ad una PRECIPITAZIONE nel caso in cui l'antigene sia invece solubile.

ANTIGENE CORPUSCOLATO:

se l'antigene è corpuscolato, cioè di natura cellulare, l'anticorpo si comporta in questo modo:

- si lega con le due braccia a due antigeni di cellule differenti.
- richiama altri anticorpi formando complessi di dimensioni consistenti.

Tale fenomeno viene favorito da alcuni fattori fondamentali:

- LE IgM FAVORISCONO LA AGGLUTINAZIONE in quanto hanno una POTENZIALITÀ AGGLUTINANTE ELEVATA: possono formare una grande quantità di ponti vista la loro decavalenza.
- LA DENSITÀ DEGLI ANTIGENI ESPOSTI sulla superficie cellulare:
 - non tanto per le IgM che presentano una grande quantità di siti di legame e un ingombro sterico notevole.
 - molto per le IgG che presentano unicamente due siti di legame vincolati tra loro dalla regione cerniera.

Il fattore DENSITÀ è molto importante, soprattutto per quanto riguarda i gruppi sanguigni; ricordiamo infatti che:

- il sistema ABO, che è molto presente sulla superficie dei globuli rossi, in caso di immunizzazione DA VITA AD IMMUNOCOMPLESSI AGGLUTINANTI.
- il sistema Rh, che è molto meno espresso a livello quantitativo sulla superficie dei globuli, a seguito di immunizzazione LEGA L'ANTICORPO, MA NON FORMA COMPLESSI AGGLUTINANTI.

Risulta quindi necessario distinguere tra due casi: un paziente che non presenta immunizzazione al gruppo Rh e un paziente che invece presenta tale immunizzazione, ma che comunque non produce, come appena visto, immunocomplessi. Per fare tutto questo si utilizza il TEST DI COOMBS: fondamentalmente si procede utilizzando ANTICORPI ANTI Fc DELLE IMMUNOGLOBULINE e si possono eseguire due tipologie di test:

- TEST DIRETTO: nel momento in cui al campione venga aggiunto un anticorpo anti Fc delle immunoglobuline, questo catturerà due estremità Fc immunoglobuliniche associandole tra loro e formano UN PONTE ARTIFICIALE TRA LE DIVERSE CELLULE e generando quindi il processo di AGGLUTINAZIONE.
- TEST INDIRETTO tramite il quale possiamo testare la presenza di anticorpi nel sangue:
 1. si fanno reagire anticorpi del siero del paziente con globuli rossi di gruppo 0Rh⁺⁷.
 2. si lava il campione di modo da eliminare anticorpi che non hanno trovato il loro

⁷ La scelta di globuli rossi di gruppo 0 è fondamentale per impedire fenomeni di reazione con antigeni del gruppo ABO potenzialmente alteranti il risultato del test stesso.

substrato.

3. si inserisce l'anticorpo anti frammento Fc delle IgG e si valuta se si sia o meno formato il complesso antigene-anticorpo: se il complesso risulta presente, il complesso risulta immunizzato al gruppo Rh.

è essenziale per l'instaurarsi di tali interazioni **CONCENTRAZIONI IONICHE** come sodio e potassio: nel momento in cui tali concentrazioni vengano meno, allora il sistema non funzionerà, aggiungendo **ALBUMINA** è possibile **CHELARE GLI IONI PRESENTI IN SOLUZIONE E BLOCCARE LA REAZIONE**. **FISIOLOGICAMENTE INFATTI:**

- i globuli rossi sono carichi negativamente.
- si formano dei complessi ionici per cui si forma un potenziale ZETA.
- gli ioni possono essere attirati da proteine circolanti diminuendo di fatto il complesso delle cariche che tengono distanti le cellule.
- i globuli rossi si attaccano uno all'altro e si formano dei rouleaux.

non si tratta in ogni caso di una **AGGLUTINAZIONE** ma di una associazione di cariche.

Un caso particolare è rappresentato storicamente dal siero test **PER LA SALMONELLA**: tale test diede molto spesso dei falsi negativi in quanto veniva utilizzata una eccessiva quantità di anticorpo, l'ingombro sterico generato era tale da **BLOCCARE LA REAZIONE TRA I DIVERSI ANTICORPI** e **IMPEDIRE LA FORMAZIONE DEL COMPLESSO IMMUNE**.

ANTIGENE SOLUBILE:

se l'antigene è solubile si ha la formazione di un **PRECIPITATO**; tale tipo di reazione si estrinseca per antigeni:

- non corpuscolati come i virus.
- Escreti di cellule batteriche che sono di fatto solubili nel plasma.

È possibile valutare la presenza in un campione di un antigene solubile in questo modo:

- si prepara un campione di anticorpi contro l'antigene solubile.
- si immette nel campione l'antigene solubile stesso.
- Nell'arco di qualche ora, a seconda delle condizioni e della affinità, **SI FORMA UN DEPOSITO DI COLORE BIANCASTRO SUL FONDO DELLA PROVETTA**.

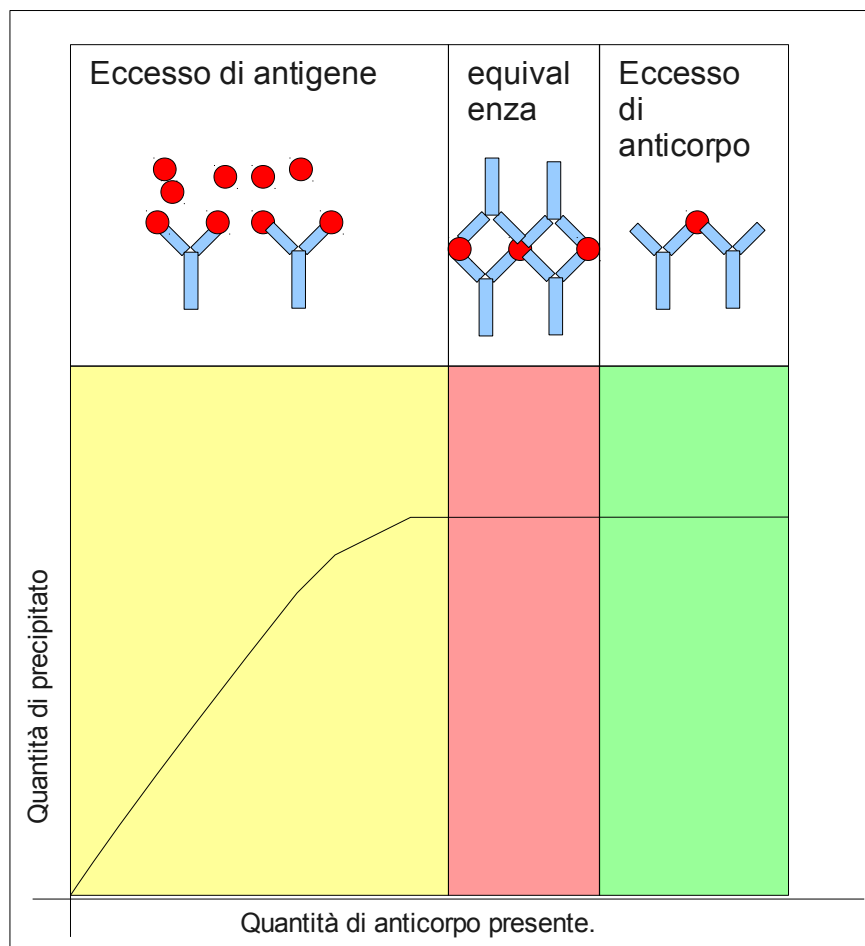
il PRECIPITATO è dato dalla interazione tra antigene e anticorpo e la sua quantità è data dalla AFFINITÀ TRA LE DUE COMPONENTI E TRA I FRAMMENTI Fc DELLE IMMUNGLOBULINE: fondamentalmente si viene a creare un complesso di antigeni e anticorpi che prevede:

- interazioni IN CROSS LINK tra antigeni e appositi siti di legame sulle immunoglobuline.
- Interazioni tra i diversi frammenti Fc delle immunoglobuline stesse.

IL COMPLESSO CHE SI FORMA A SEGUITO DI TALE RELAZIONE PRECIPITA UNICAMENTE NEL MOMENTO IN CUI VOLUME E COMPATTEZZA SONO SUFFICIENTI infatti SI DEVONO FORMARE DEI CROSS LINK; Un fenomeno di questo tipo può instaurarsi inoltre UNICAMENTE NEL CASO IN CUI L'ANTIGENE SIA BIVALENTE O POLIVALENTE: perché un antigene possa essere associato a due anticorpi differenti, allora questo deve presentare almeno due epitopi identici (nella risposta monoclonale) o differenti (nella risposta policlonale). Possiamo dire che complessivamente LA QUANTITÀ DEL PRECIPITATO DIPENDE QUINDI DAI RAPPORTI TRA LE DUE COMPONENTI.

PRECIPITAZIONE A QUANTITÀ DI ANTIGENE STABILE:

Sperimentalmente possiamo preparare una serie di provette a quantità di antigene stabile, e quantità di anticorpo variabile; a questo punto definiamo una ZONA DI



EQUIVALENZA a livello della quale possiamo osservare:

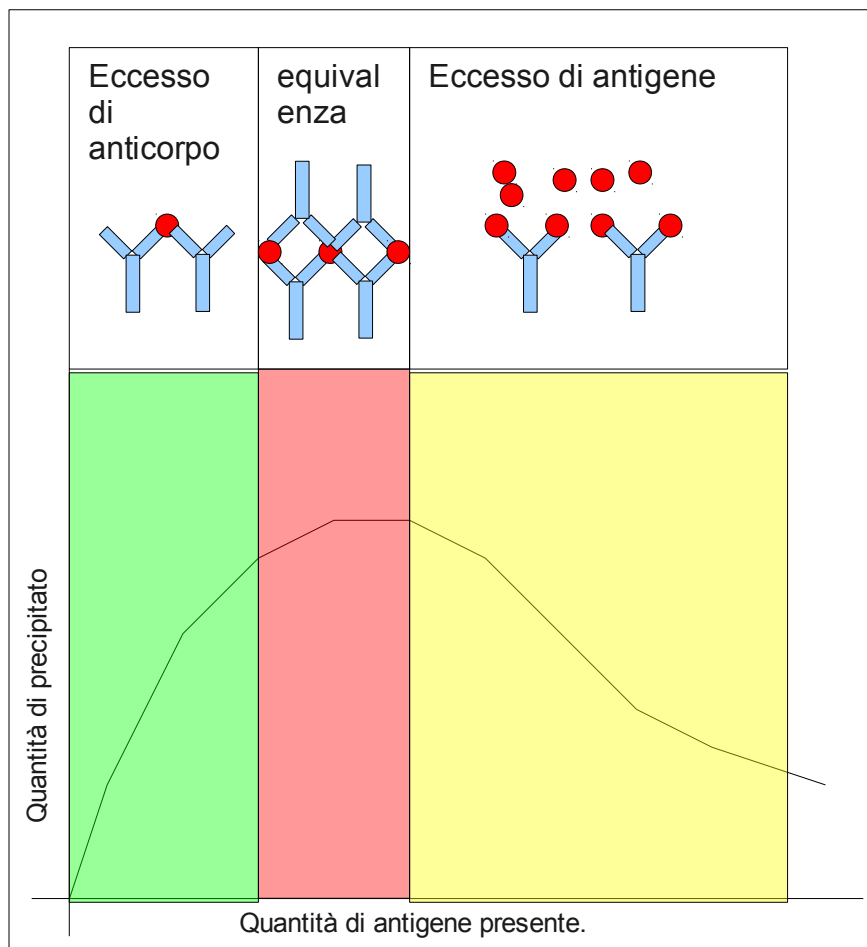
- massimo precipitato.
- supernatante vuoto.

Ovviamente a livello delle provette a concentrazioni superiori e inferiori di anticorpo potremmo osservare:

- PER LE PROVETTE A CONCENTRAZIONI DI ANTICORPO INFERIORI si trova nel SUPERNANATE:
 - UN ECCESSO DI ANTIGENE.
 - dei COMPLESSI IMMUNI: se le concentrazioni di complessi immuni sono troppo basse, non si instaurano infatti le normali relazioni tra i frammenti Fc delle immunoglobuline.
- PER LE PROVETTE A CONCENTRAZIONE DI ANTICORPO MAGGIORE si trova nel SUPERNANATE UN ECCESSO DI ANTICORPO; in ogni caso la quantità di precipitato è sempre costante, semplicemente in soluzione sono presenti anticorpi liberi.

PRECIPITAZIONE A QUANTITÀ DI ANTICORPO STABILE:

è possibile svolgere la medesima analisi ma mantenendo stabili le concentrazioni di anticorpo; assistiamo in questo caso AD UN CALO A MONTE E A VALLE DEL PRECIPITATO; in particolare:



- nelle provette dove È PRESENTE UN ECCESSO DI ANTIGENE esistono degli immunocomplessi solubili.
- nelle provette dove È PRESENTE, invece, UN DIFETTO DI ANTIGENE non si formano cross link e, di conseguenza, il precipitato diminuisce.

LA IMMUNODIFFUSIONE RADIALE DI MANCINI E CARBONARA:

Si tratta di un metodo molto utile nella identificazione della quantità di immunoglobuline presenti in un campione di plasma. Tale meccanismo sfrutta un gel detto agarosio, si tratta di un gel che diviene liquido a temperature elevate e nel quale

è possibile integrare molecole di diversa natura. La reazione in questione si esegue fondamentalmente, nel caso in cui volessimo per esempio valutare le concentrazioni di IgG presenti in un campione, in questo modo:

- si diffondono degli anticorpi anti IgG nell'AGAR liquido e lo si SOLIDIFICA.
- Si scavano delle piccole cavità sulla superficie del gel e tramite esse si diffondono le IgG del SIERO DEL PAZIENTE.
- Nel momento in cui avvenga la reazione tra IgG e anticorpo anti IgG si formeranno degli anelli visibili di immunocomplessi.

A questo punto sulla base del diametro di tali anelli è possibile VALUTARE LA CONCENTRAZIONE DI IMMUNOGLOBULINE PRESENTI NEL CAMPIONE grazie a curve di taratura.

La concentrazione di anticorpi anti IgG deve essere dosata in modo sempre uguale, infatti:

- SE LA CONCENTRAZIONE DI ANTICORPI È TROPPO ELEVATA non SI FORMA L'ALONE IN QUANTO LA REAZIONE AVVIENE IMMEDIATAMENTE.
- SE LA CONCENTRAZIONE È TROPPO BASSA SI FORMANO ALONI ENORMI e NON ATTENDIBILI DAL PUNTO DI VISTA DELLA MISURAZIONE.

Oggi in laboratorio si utilizzano metodi molto diversi.

NEFELOMETRIA E TURBINOMETRIA:

si tratta di metodi che prevedono fondamentalmente l'utilizzo di tecniche spettrofotometriche: nel momento in cui in un campione sia presente un COMPLESSO IMMUNE si assiste ad un NOTEVOLE INCREMENTO DELLA DENSITÀ DEL CAMPIONE che risulta quantificabile sulla BASE DELLA DIFFERENTE CAPACITÀ DI RIFLETTERE LA LUCE DEL CAMPIONE STESSO.

ELISA:

si tratta di un test molto sensibile; fondamentalmente L'ANTICORPO VIENE MARCATO:

- O CON UN TRACCIANTE RADIOATTIVO.
- O CON UN ENZIMA.

nel momento in cui l'anticorpo si lega ad un antigene, tramite il tracciante è possibile valutarne la presenza e la quantità, anche nel momento in cui questo sia presente a concentrazioni MINIME.

LA LISI DELL'ANTIGENE E IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO:

Per quanto riguarda questa possibile terza conseguenza della presenza di un complesso immune ricordiamo che interviene il SISTEMA DEL COMPLEMENTO:

- si tratta di una importantissima componente proteica solubile associata alla immunità naturale.
- è un complesso formato di un gran numero di glicoproteine.
- Complessivamente il complesso del complemento, solo, contribuisce per il 5% del peso totale delle globuline sieriche.
- filogeneticamente lo troviamo in forma semplificata addirittura negli invertebrati; svolge infatti RUOLI FONDAMENTALI molto diversi, non solo legati alla lisi del bersaglio cellulare o virale.
- il sistema del complemento venne scoperto intorno al 1980 da studiosi tedeschi.

IL SISTEMA È ESTREMAMENTE COMPLESSO e composto di numerose proteine identificate con la lettera C e un numero da 1 a 9 o da lettere differenti; la complessità è molto elevata, basti pensare che con il termine C1 si indica un complesso di ben 5 proteine differenti.

si tratta di un sistema della immunità naturale; quindi:

- entra in funzione unicamente a seguito di attivazioni specifiche in quanto non presenta, chiaramente, SPECIFICITÀ DIRETTA PER L'ANTIGENE.
- Nonostante non sia specifico in senso stretto, questo sistema possiede dei meccanismi di controllo che consentono il riconoscimento del self e del not self.

MECCANISMI DI ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO:

SI TRATTA DI UN SISTEMA A CASCATA ENZIMATICO che, analogamente a quanto avviene per la cascata coagulativa:

- coinvolge molti fattori.
- coinvolge un meccanismo di AMPLIFICAZIONE che porta alla attivazione di una grande quantità di fattori differenti.
- I MECCANISMI ENZIMATICI SONO PROTEOLITICI: si tratta di meccanismi di proteolisi estremamente selettivi e specifici che generano, generalmente, due frammenti peptidici distinti:
 - uno dei quali permane ATTIVO e ha abilità ATTIVANTI LO STEP SUCCESSIVO, si tratta sempre del frammento di dimensioni maggiori.
 - L'altro si DISPERDE NEL SANGUE dove assume ruoli differenti tra cui, per esempio, la capacità di stimolare la risposta immunitaria.
- Una volta attivato rispetto ad un bersaglio, il sistema PERDE DI SPECIFICITÀ, non è cioè capace di distinguere tra componenti self e not self, per questo deve essere strettamente controllato.

Complessivamente tale sistema risulta attivabile IN TRE MODI DIFFERENTI e da MOLTE E DIVERSE MOLECOLE.

LA VIA DI ATTIVAZIONE CLASSICA:

si tratta della prima via storicamente identificata, ma non è la più antica filogeneticamente parlando. L'attivazione di tale sistema si basa sul complesso C1 in particolare composto, come sappiamo, da tre differenti tipi di peptide

1. C1q.
2. C1r.
3. C1s.

La attivazione origina dal frammento C1q e il complesso C1 nella sua interezza si comporta in questo modo:

- individua il complesso BATTERIO-ANTICORPO.
- Mentre il complesso in forma non attiva viaggia come un unico corpo nel sangue, a questo punto si separa.
- C1q va a legarsi all'anticorpo che risulta associato all'antigene.

tale sistema è fondamentalmente attivato da IMMUNOCOMPLESSI, cioè complessi di antigeni cui sono associati anticorpi, a mettere in moto tale via è il legame tra anticorpo e antigene. Questo non è sempre vero, esistono delle eccezioni:

- alcuni batteri possono legare direttamente la proteina C1q.
- alcuni antigeni possono associarsi alla PROTEINA C REATTIVA o PCR e ATTIVARE DIRETTAMENTE la proteina C1q.

IL RUOLO DELL'IMMUNOCOMPLESSO:

a seconda del tipo di Ig che risulta coinvolta nella formazione del complesso, è possibile o meno l'attivazione del complemento:

- IgG presentano una elevata capacità di attivazione, ma questa differisce nelle diverse sottoclassi:
 - IgG1 elevata capacità di attivazione.

- IgG2 media capacità di attivazione.
- IgG3 elevata capacità di attivazione.
- IgG4 nessuna capacità di attivazione.
- IgM presentano una elevata capacità di attivazione.
- IgA non attivano il complemento.
- IgE non attivano il complemento.
- IgD non attivano il complemento.

tuttavia è importante sottolineare il fatto che anche tra le immunoglobuline a potere attivante distinguiamo che:

- le IgM possono SEMPRE ATTIVARE IL COMPLEMENTO
- le IgG anche per quanto riguarda le classi ad elevata capacità di attivazione, NON SEMPRE POSSONO ATTIVARE IL COMPLEMENTO.

PER ATTIVARE IL COMPLEMENTO, DEVE ESSERE PRESENTE UNA ELEVATA DENSITÀ DI COMPLESSI: per quanto riguarda le IgM non ci sono problemi, vista la polivalenza notevole che le caratterizza, mentre le IgG non possono in alcun modo attivare il complemento se non a distanza molto ravvicinata, cioè in condizioni di elevata densità. Questo è dovuto al fatto che LA PROTEINA C1q PRESENTA UNA STRUTTURA PARTICOLARE composta di:

- sei porzioni globulari di testa.
- un gambo proteico, composto di sei complessi elicoidali, come gambo.

la struttura intima di ciascuna fibra è costituita di TRE CATENE AMMINOACIDICHE che si appaiano tra loro formando di fatto un complesso di 18 CATENE APPAIATE.

IL FRAMMENTO Fc DELLE IMMUNOGLOBULINE È CRITICO PER LA ATTIVAZIONE DEL COMPLESSO: le teste globulari devono associarsi ad ALMENO DUE FRAMMENTI Fc DELLE IMMUNOGLOBULINE, per questo motivo la densità delle IgG è tanto importante. Ricordiamo che:

- la distanza massima alla quale si possono trovare due frammenti Fc delle IgG per poter attivare il complemento è di 30-40nm.
- Per attivare i processi di lisi del globulo rosso, devono essere associate ad esso almeno 1000 molecole di IgG, mentre potenzialmente una sola IgM sarebbe sufficiente ad ottenere il medesimo risultato.

IL DOMINIO DI LEGAME sulle Ig per la proteina C1q è una delle componenti della parte fissa della catena pesante:

- il segmento CH2 per le IgG.
- Il segmento μ 4 per le IgM.

si tratta di una reazione di RICONOSCIMENTO, non enzimatica: tale reazione è selettiva rispetto alla Ig legata all'antigene in quanto una volta associato, L'ANTICORPO SI MODIFICA STERICAMENTE e diviene capace di associarsi alle proteine del complemento; inoltre è importante ribadire il fatto che il frammento globulare della C1q non è superspecifico e si può associare ad altre molecole come la PCR per esempio.

IL COMPLESSO C1:

il gambo della struttura della C1q è strutturalmente costituito, come accennato in precedenza da una tripla elica formata di tre amminoacidi cioè GLICINA-IDROSSIPORLINA-IDROSSILISINA, risulta quindi ESTREMAMENTE SIMILE AL COLLAGENE.

Abbiamo accennato come in presenza di un complesso immune le componenti del complesso C1 si separino; una volta che la proteina C1q si è associata al complesso individuato, inizia un processo di RIUNIFICAZIONE:

- la proteina C1q si associa all'antigene.
- muta la conformazione del gambo della C1q.
- ad esso si associa la proteina C1r che PRESENTA ATTIVITÀ AUTOCATALITICA ATTIVANTE: due C1r si associano tra loro e formano un anello di giustapposizione che circonda il gambo della proteina C1q.
- a questo nuovo complesso si associa la proteina C1s che, ATTIVATA DALLA C1r, forma un complesso ad anello che si innesta analogamente a quanto avvenuto per i due frammenti C1r.

È importante sottolineare il fatto che mentre i legami che tengono unito il complesso C1 circolante sono LEGAMI DEBOLI, i legami che succedono alla attivazione del complesso C1 e che sono alla base della sua riunificazione, sono MOLTO PIÙ CONSISTENTI E ROBUSTI.

L'assemblaggio completo del complesso C1 ATTIVATO prevede L'UTILIZZO DI CALCIO, è quindi possibile bloccare tale processo con chelanti di tale ione come:

- CITRATO.
- EDTA che presenta azione duplice: è capace infatti di chelare sia il calcio che il magnesio.

A questo punto la attività ENZIMATICA VIENE AFFIDATA AL C1s e come aggredisce il suo substrato, cioè due proteine del complemento:

- C4 per il quale ha una velocità di reazione elevata.
- C2 per il quale la reazione risulta più lenta.

di conseguenza si attivano in tempi differenti nonostante l'enzima sia lo stesso; quindi fondamentalmente:

- C4 viene scisso con un sistema proteolitico in maniera molto precisa per cui:
 - si stacca un PEPTIDE C4a che si libera nel plasma; si tratta di una piccola parte della struttura della subunità alfa.
 - tutto il resto della molecola, COMPOSTO DI della restante parte di alfa e delle subunità beta e gamma, tale complesso viene detto C4b.

C4b SI ASSOCIA AL BERSAGLIO tramite LEGATI COVALENTI DIRETTI con componenti proteiche e lipidiche della membrana. Il legame è prevalentemente con gruppi IDROSSILICI e AMMINICI.

circa il 10% delle molecole così attivate raggiungono il bersaglio e si legano ad esso.

- C2 analogamente a quanto avviene per C4 si subisce una azione proteolitica formando due frammenti:
 - C2a che si libera nell'ambiente.
 - C2b CHE SI COMPORTA ESATTAMENTE COME IL C4b.

complessivamente il BATTERIO RISULTA BOMBARDATO DA MOLECOLE PROTEICHE CHE SI LEGANO AD ESSO.

A questo punto sulla membrana della cellula bersaglio si POSSONO ASSOCIARE C4b E C2b FORMANDO UN NUOVO COMPLESSO ENZIMATICO:

- chiaramente i due complessi proteici devono essere posti vicini uno all'altro.
- Deve essere presente nell'ambiente del MAGNESIO, essenziale a tenere insieme le subunità.

La formazione di tale complesso risulta, ovviamente, bloccabile tramite l'utilizzo di EDTA che chela sia il calcio che il magnesio.

Il fenomeno di associazione delle subunità è casuale, ma si verifica in modo sostanzialmente SISTEMATICO.

SI FORMA QUINDI UN COMPLESSO DETTO C2a2b CHE PRESENTA ATTIVITÀ DI C3 CONVERTASI e ATTIVA QUINDI IL C3 e quindi la VIA EFFETTRICE FINALE.

Ricordiamo infine che mentre il complesso C2a2b RESTA ASSOCIATO ALLA MEMBRANA il complesso C1-ANTICORPO viene spesso liberato dalla cellula bersaglio e viaggia nel plasma.

ANEMIE EMOLITICHE DA AUTOANTICORPI FREDDI:

si tratta di anemie pericolose legate allo sviluppo di anticorpi contro i globuli rossi; spesso tali patologie sono legate a infezioni da micoplasmi: SOSTANZIALMENTE VENGONO PRODOTTE IMMUNOGLOBULINE CHE SI LEGANO A FREDDO CON IL LORO LIGANDO, presentano cioè con un optimum di azione a 10-12°C,. PROVOCANDONE LA LISI TRAMITE LA ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO. Questi pazienti subiscono processi di LISI NEI VASI PERIFERICI DEI GLOBULI ROSSI. In pazienti di questo tipo anche i prelievi del sangue devono essere eseguiti a caldo.

INNESCO DELLA AZIONE DELLA PROTEINA C3:

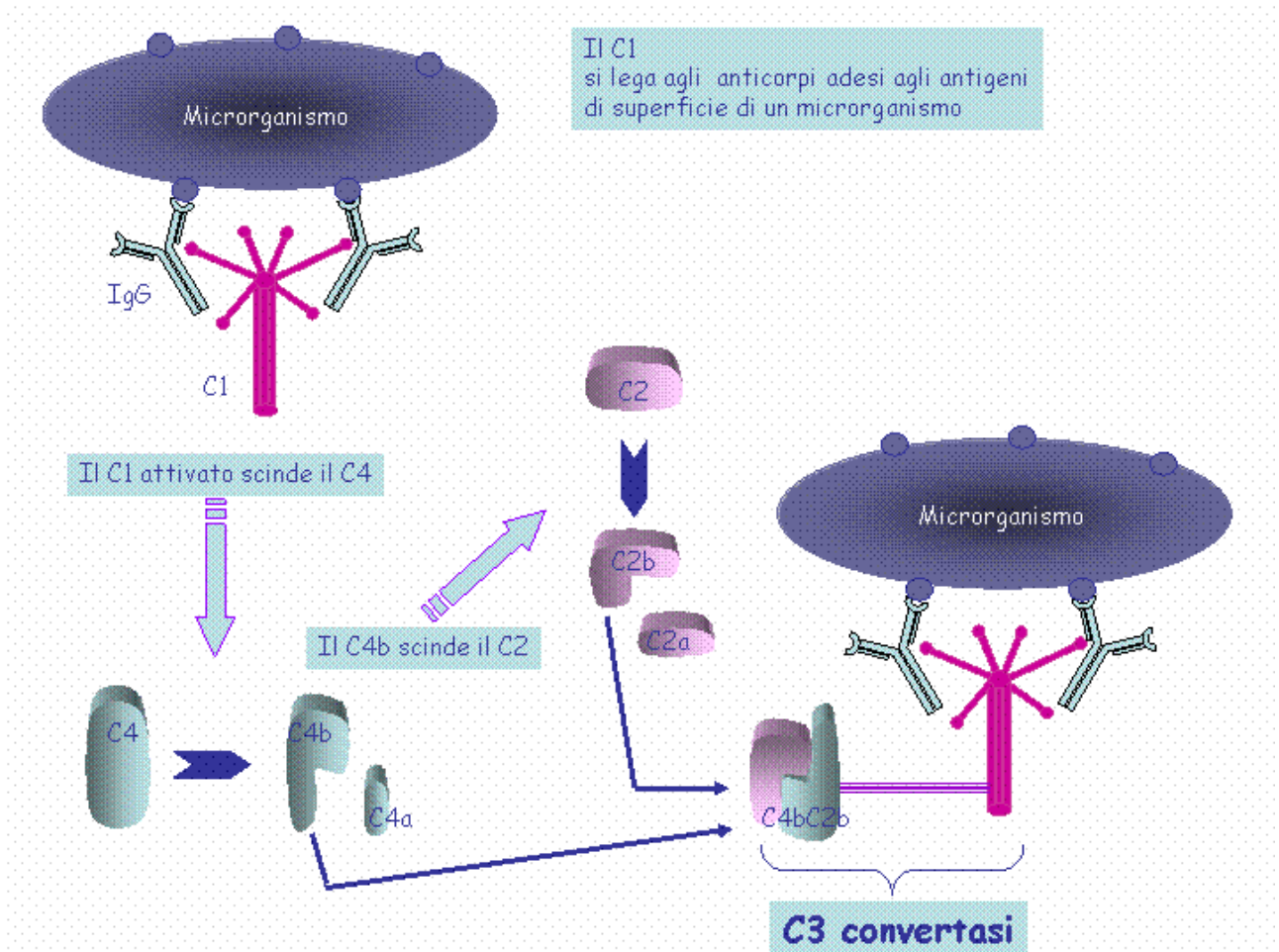
La molecola C3 fundamentalmente diviene substrato, come accennato in precedenza, del complesso C2a2b o C3 CONVERTASI che porta alla formazione di:

- UN PEPTIDE che viene perso, e si parla in questo caso di C3a.
- Un peptide decisamente PIÙ CONSISTENTE che si ASSOCIA ALLA MEMBRANA DELLA CELLULA BERSAGLIO ANALOGAMENTE A QUANTO AVVENIVA PER C2 E C4, si parla di C3b.

Il legame tra tale proteina e la cellula bersaglio non avviene a livello del sito proteolitico, ma di un sito ad esso prossimo, possiamo dire che fundamentalmente L'AZIONE PROTEOLITICA genera una cascata di modificazioni conformazionali della molecola:

- il distacco genera la rottura di un legame tioestereo.
- Il gruppo contenente lo zolfo resta associato alla membrana privo di legame.
- lo zolfo cerca un nuovo reattivo cui legarsi e lo trova nella membrana del bersaglio.

LA CAPACITÀ DI BINDING È MOLTO TRANSITORIA, permane attiva per circa 5 minuti, il gruppo è infatti instabile e fisiologicamente si apre e si chiude continuamente. Nel momento in cui tale molecola non raggiunga il bersaglio verrà semplicemente dispersa nell'ambiente.



VIA LETTINICA

si tratta di una via che coinvolge una mannose lectin binding protein: il MANNOSIO è uno zucchero particolare tipicamente espresso sulle superfici batteriche, si tratta di una via filogeneticamente antica in quanto riconoscere direttamente l'antigene.

fondamentalmente il sistema di attiva in relazione alla presenza di:

- acido sialico presente molto spesso in CLUSTER NEL BERSAGLIO, disposizione che assume unicamente su membrane cellulari di funghi o di batteri, non di cellule umane.
- MANNOSIO complessato ad altri tipi di zuccheri.
- N ACETIL GLUCOSAMMINA.

La MANNOSE BINDING LEPTIN è la molecola responsabile di questo: LA STRUTTURA DI BASE DI TALE PROTEINA È SIMILE A QUELLA DELLA PROTEINA C1q; sostanzialmente si tratta di un complesso:

- costituito di 6 domini immunoglobulinici.
- Costituito di una unica catena peptidica.
- sensibile al legame unicamente con strutture zuccherine.
- Attivabile unicamente in presenza di CALCIO.

una volta messa in moto, anche questa via innesca una CASCATA ATTIVATORIA fondamentale che interessa in particolare:

- proteine MASP: si tratta di proteasi sieriche CHE SI ASSOCIANO ALLA MBL, in particolare:

- MASP1.
- MASP2.

sono sia strutturalmente che funzionalmente molto simili alle proteine C1s C1r del complesso C1 e la funzione del complesso MBL-MASP1-2 ha la medesima funzione del complesso C1 attivato.

- Analogamente a quanto avviene per la via normale, si attivano a questo punto le proteine C2 e C4.

LA FAMIGLIA DELLE COLLECTINE:

si tratta di una famiglia di proteine dalla struttura analoga alle MBP e alle C1q, tutte queste molecole condividono la medesima struttura complessiva, ma hanno funzioni diverse. Fanno parte di questa categoria:

- le proteine surfactante.
- alcune proteine del complemento come visto.

si pensa tali proteine derivino da alcune molecole progenitore che si sono poi specializzate in diverse funzioni.

VIA DI ATTIVAZIONE ALTERNATIVA

si tratta di una via che viene innescata direttamente dal complesso C3; tale via ha funzione unicamente STIMOLANTE IL SISTEMA EFFETTORE: fondamentalmente possiamo dire che ORIGINA DA C3b e che MOLTIPLICA L'EFFETTO DI ATTIVAZIONE DELL'INTERO SISTEMA. LA VIA ALTERNATIVA È QUINDI SOLO UN SISTEMA DI AMPLIFICAZIONE CHE SI ATTIVA NEL MOMENTO IN CUI L'AMBIENTE SIA PERMISSIVO, CIOÈ NEI CASI IN CUI NON SIA PERICOLOSA UNA SUPERATTIVAZIONE DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO.

GLI INATTIVATORI DEL COMPLEMENTO:

Il C3b come accennato in precedenza, è un complesso peptidico instabile dal punto di vista sterico, e, una volta attivato, ENTRA SOTTO L'EFFETTO DISTRUTTIVO DI UN DEATTIVATORE detto C3b; tale INATTIVATORE:

- è presente costitutivamente nel plasma.
- tenta di distruggere la catena alfa.
- necessita di fattori di supporto cioè ALMENO DI UN COFATTORE CHE PREPARI DI FATTO IL SUBSTRATO ALLA AZIONE DELL'ENZIMA; tali cofattori possono essere:
 - liberi nel siero e quindi attaccare direttamente il complesso in fase di formazione.
 - sul bersaglio cellulare che non deve essere distrutto e attaccare quindi il complesso molecolare in fase di azione.

i cofattori coinvolti in questi meccanismi sono numerosi, ricordiamo in particolare:

- FATTORE H che si trova libero nel plasma.
- Il fattore MCP o membrane cofactor protein, noto anche come CD46, presente costitutivamente nel siero dei pazienti.
- CR1 che è un recettore presente su numerose e diverse cellule:

- podociti renali.
- globuli rossi.
- leucociti.

questa molecola è sensibile alla presenza del C3b sulla base della quale si attiva.

IL C3b INATTIVATORE esegue la sua azione in questo modo: stacca dalla molecola un PEPTIDE DI CIRCA 3000 dalton e TRASFORMA LA MOLECOLA in una forma INATTIVATA BLOCCANDO QUINDI L'INNESCO DELLA REAZIONE DEL COMPLEMENTO. A questo punto la

catena alfa rimasta associata al complesso cellulare, viene ulteriormente degradata formando peptidi di dimensioni minori:

- C3c.
- C3c' che rimane associato alla membrana della cellula.

LA VIA ALTERNATIVA PROTEGGE IL C3b FISSATO SULLA MEMBRANA DALLA DEGRADAZIONE DA PARTE DELL'ENZIMA C3b INIBENTE: questo è possibile grazie alla presenza di un fattore proteico detto PROPERDINA che ALLUNGA L'EMIVITA DELLA MOLECOLA DA 5 minuti a 30 minuti.

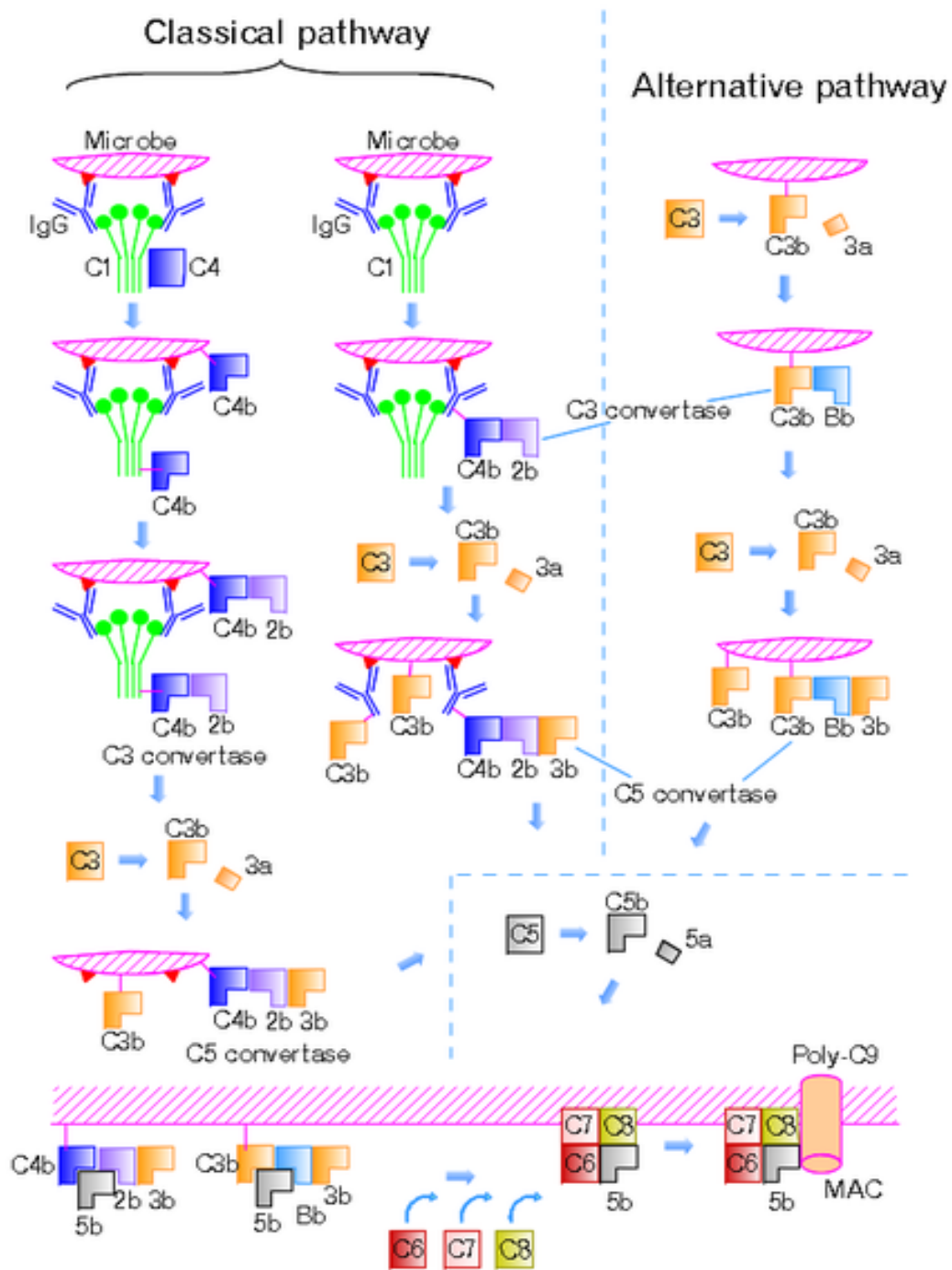
L'AZIONE DEL C3b NON INIBITO:

nel momento in cui rimanga, a seguito della attivazione tramite la via classica e la via alternativa, come tale nella membrana del bersaglio, il fattore C3b È IN GRADO DI AGIRE:

- SI ASSOCIA AD UN FATTORE B presente normalmente nel plasma.
- SI FORMA UN COMPLESSO detto C3bB.
- tale complesso viene attaccato da un altro fattore costitutivamente presente nel plasma, cioè il FATTORE D che DEGRADA IL FATTORE B in due peptidi:
 - il primo viene disperso nel plasma.
 - il secondo resta associato al complesso della membrana.
- il nuovo complesso viene definito C3bBb E ASSUME LA ATTIVITÀ DI UNA C3 CONVERTASI CHE ATTIVA ALTRE MOLECOLE C3b generando un meccanismo di amplificazione.

Chiaramente se uno dei fattori si esaurisce, allora la reazione si blocca: generalmente il fattore limitante è il FATTORE B.

una volta attivato IL COMPLESSO C3 COMINCIA LA FASE EFFETTRICE VERA E PROPRIA.

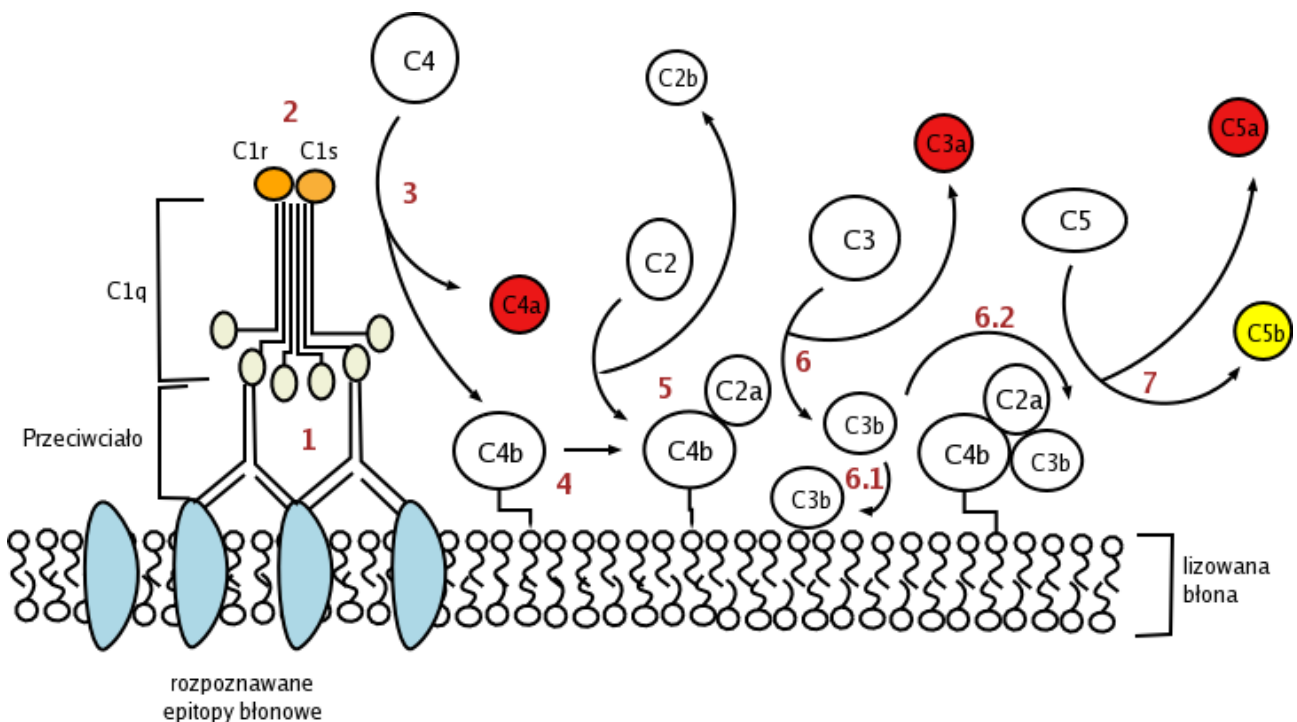


LA FASE EFFETTRICE DELLA AZIONE DEL COMPLEMENTO:

il C5 È IL PRIMO FATTORE COINVOLTO NELLA VIA EFFETTRICE, in particolare tale fattore può viene attivato da una C5 CONVERTASI che taglia proteoliticamente il complesso e genera due peptidi uno dei quali si associa alla membrana e l'altro viene perso, analogamente a quanto avviene per le altre molecole coinvolte; in particolare tale CONVERTASI può essere prodotta in due modi:

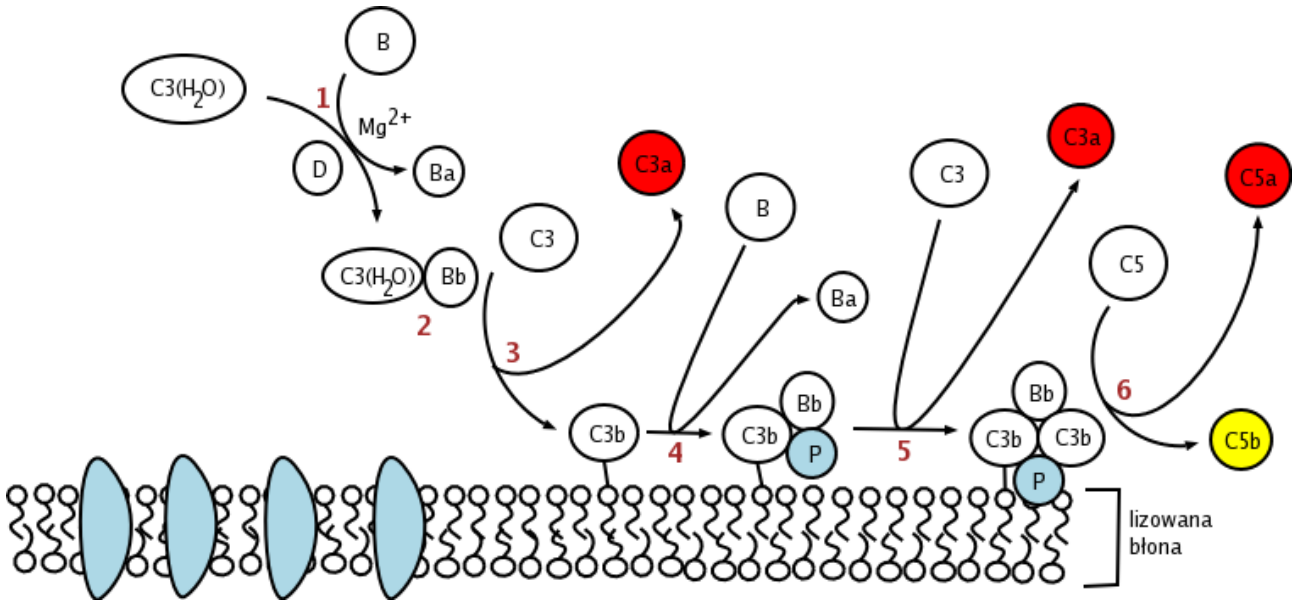
- NELLA VIA CLASSICA dalla associazione dei complessi proteici:
 - C2a.
 - C4b.
 - C3b.

Come visto in precedenza.



- NELLA VIA ALTERNATIVA per un ulteriore reclutamento rispetto al complesso detto C3 CONVERTASI che come sappiamo è composto da:
 - Bb.
 - C3b.

Ai quali si aggiunge una seconda forma attiva di C3 formando un complesso di tipo C3b3bBb.

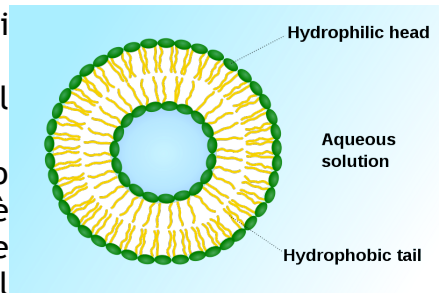


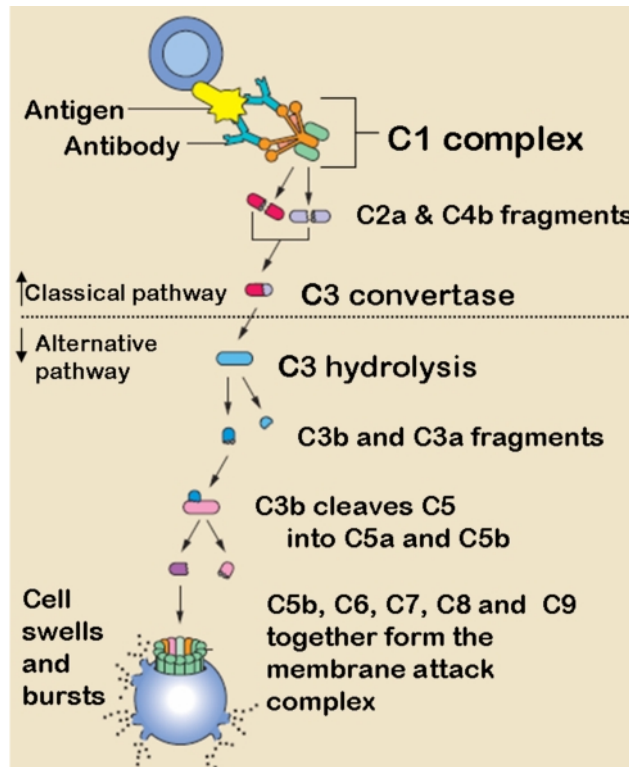
IL complesso C5b viene ad associarsi alla membrana e funge da substrato per l'associazione del complesso proteico C6; il complesso C5b è fortemente instabile e se non associato al complesso C6 DEGRADA IN DUE MINUTI. A questo punto il sistema è stabile a livello della membrana cellulare:

- il complesso C5b6 viene ad associarsi ad un altro fattore detto fattore C7.
- a tale complesso si aggiunge anche un fattore C8 formando un complesso parzialmente idrofobico e identificato dalla sigla C5b67: tale complesso, solo, sarebbe in grado di aprire un foro sulla membrana del diametro di 10Å, sufficiente a provocare la lisi di una cellula NON NUCLEATA ma inutile nei confronti di cellule prive di nucleo.
- Si associa a questo punto al complesso neofornato, composto delle proteina C5b678 un gruppo di CIRCA 10-17 PROTEINE IDENTICHE dette C9; tali proteine:
 - presentano una forma tondeggiante.
 - Una volta legate al sito in questione si srotolano attraverso la membrana fosfolipidica.
 - Formano un foro a forma di botte senza fondo di dimensioni di 70-100Å.

In questo modo la cellula bersaglio viene sottoposta al processo di LISI.

Questo tipo di processi è visualizzabile in vitro attraverso l'uso di LIPOSOMI, corpuscoli lipidici a doppio strato: è sufficiente inoculare all'interno del liposoma un colorante e lasciare che il complemento agisca, appare evidente il rilascio del colorante stesso nel mezzo.





LA REGOLAZIONE DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO:

I sistemi di controllo intervengono generalmente su COMPLESSI ATTIVATI BLOCCANDO LA CASCATA ENZIMATICA.

I SISTEMI DI CONTROLLO sono molto importanti:

- NELLA VIA DI ATTIVAZIONE CLASSICA esiste un sistema di controllo diretto contro il complesso C1 attivato che agisce tramite il fattore SERICO C1INH inibitore; il complesso C1 ATTIVATO diviene substrato di questa proteina, tale fattore:
 - risulta normalmente circolante e riconosce unicamente il complesso C1 assemblato e attivo.
 - agisce BLOCCANDO L'ASSOCIAZIONE DELLE COMPONENTI C1r e C1s ALLA PROTEINA C1q ASSOCIATA ALL'ANTICORPO, a livello molecolare strappa le due molecole formando un complesso a sé stante con esse e così costituito:
 - C1INH.
 - C1r.
 - C1s.

A questo punto chiaramente è bloccata qualsiasi forma di reazione.

Per quanto riguarda questo fenomeno di natura inibitoria ricordiamo che è STRETTAMENTE LEGATO ALLA SITUAZIONE AMBIENTALE CHE SI CREA: se il bersaglio presenta legate molte immunoglobuline, l'effetto inibente sarà, ovviamente, scarso. Ricordiamo inoltre che il medesimo fattore, C1INH:

- SVOLGE LA MEDESIMA AZIONE SUL SISTEMA DELLA VIA MANNOSE LEPTIN BINDING e quindi sul complesso MBL-MASP1-2.
- Basa la sua affinità per le proteine C1r e C1s in quanto si tratta di un inibitore delle SERIN PROTEASI; CH1INH sarà quindi capace di legare molte e diverse serin proteasi tra cui anche quelle necessarie alla attivazione, per esempio, delle chinine.
- AZIONE SULLE C3 CONVERTASI in particolare ricordiamo che i complessi enzimatici

così definiti sono due:

- C4b2b attivata nella via classica e nella via mannos binding leptin dipendente.
- C3bBb attivata nella via alternativa.

su queste molecole agisce un particolare enzima detto DAF decay accelerating factor, noto anche come CD-55; l'azione di questa molecola e quella di SEPARARE I COMPLESSI ATTIVATI sopra descritti; a livello molecolare:

- strappa la proteina 2b dal complesso attivato.
- strappa la proteina Bb dal complesso attivato.

in questo modo L'ENZIMA DECADE e NON HA MODO DI AGIRE ULTERIORMENTE.

- AZIONE DIRETTA SUL C3b: come sappiamo il C3b è un fattore estremamente instabile in quanto è posto sotto il controllo di un complesso sistema di COFATTORI che PREPARANO IL SUBSTRATO ALL'ENZIMA INATTIVATORE del C3b. I fattori coinvolti, come accennato in precedenza, sono:

- H fattore plasmatico.
- MCP o CD46 associato alla membrana.
- CR1 associato alla membrana.

l'enzima INIBITORE DELLA C3b si occupa poi di staccare una piccola PARTE DELLA SUBUNITÀ ALFA DELLA MOLECOLA delle dimensioni di 3000dalton; LA MOLECOLA È INATTIVA e viene detta C3b inattivo. A questo punto permane sulla membrana un fattore, C4b o C3b, questo diviene substrato di una MOLECOLA PROTEOLIZZANTE detta FATTORE 1 che produce:

- a partire dal C4b due molecole più piccole:
 - C4c.
 - C4d.
- A partire dal C3b due molecole alcune molecole:
 - in prima battuta due fattori:
 - C3f.
 - IC3b.
 - In seconda battuta il fattore IC3b diviene nuovamente substrato del fattore uno che produce:
 - C3c.
 - C3dg.

Tali frammenti potranno poi svolgere, liberi nel plasma, altre funzioni importanti.

- L'ASSEMBLAGGIO DEL COMPLESSO ATTIVO può essere neutralizzato da numerosi e diversi inibitori:
 - S PROTEIN: si associa al complesso C5b76 e impedisce la formazione del legame con il doppio strato fosfolipidico.
 - HRF e MRL o CD59: impediscono la associazione tra C9 e il complesso C5b678 bloccano quindi la formazione del poro.

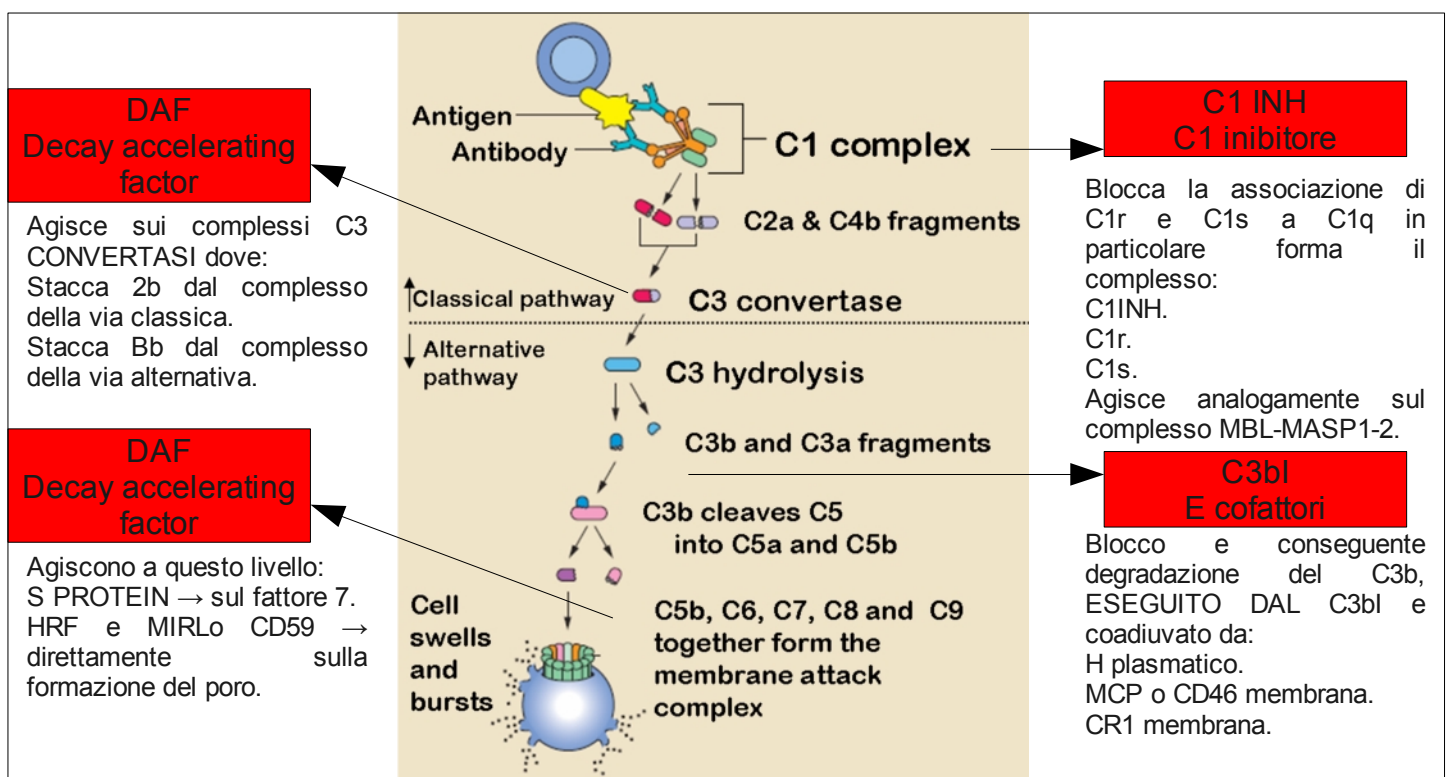
STRUTTURALMENTE i regolatori di membrana possono essere di due tipi quindi:

- INTEGRALI come il CR1 e MCP.
- AGGANCIATI AD UNA PORZIONE LIPIDICA, GPI GLICOFOSFATIDILINOSITOLO come:
 - DAF-CD55.
 - CD59.



I PRINCIPALI FATTORI DI CONTROLLO DEL COMPLEMENTO:

azione	solubile	membrana
azione su C1	C1inh	
azione su C3convertasi	fattore H	
		CR1
		MCP
		DAF o CD55
	Fattore 1	
azione sulla parte terminale	S protein	
		HRF
		MIRL o CD59



LE DIVERSE FUNZIONI DEL COMPLEMENTO:

LE FUNZIONI del complemento sono in realtà molto diversa dalla semplice stimolazione alla lisi cellulare; sicuramente la via CITOPATICA E LITICA è molto importante, tuttavia è necessario ricordare che:

- si tratta della azione finale di un sistema estremamente complesso e composito.
- necessita di un substrato apposito: non tutte le cellule possono essere lisate, dipende dalla struttura della loro parete e della loro membrana:
 - le cellule NON NUCLEATE come i globuli rossi lisano facilmente.
 - le cellule NUCLEATE sono meno suscettibili alla lisi in quanto possono riparare il danno effettuato dalla inserzione dell complesso proteico nella membrana.

Ricordiamo inoltre che il foro può ESSERE MALE ORIENTATO e di conseguenza NON RIUSCIRE A PERFORARE LA MEMBRANA DELLA CELLULA.

- inoltre tale funzione è posta **SOTTO CONTROLLO STRETTISSIMO** di conseguenza si attua in **VIVO** relativamente difficilmente.

I RECETTORI DEL FATTORE C3:

si tratta delle molecole proteiche su cui si basano le funzioni non litiche del complemento, esistono tre recettori capaci di legare tale frammento:

- CR1 capace di associarsi prevalentemente al fattore C3b, questa forma di legame è alternativa al legame diretto sulla membrana cellulare e avviene, ovviamente, su cellule SELF. Risulta espresso da:
 - FAGOCITI e ha la funzione di incrementare i processi di fagocitosi.
 - PODOCITI RENALI.
 - cellule DEL SISTEMA LINFOCITARIO.
 - GLOBULI ROSSI.

Il CR1 come visto in precedenza, ha una funzione duplice, è infatti un cofattore di meccanismi di inattivazione del complemento.

- CR3: si tratta del recettore C11b/CD18 che consente espresso dalle cellule FAGOCITICHE e che consente ALLE STESSE DI LEGARSI ALLA SUPERFICIE DELL'ENDOTELIO E DI PASSARVI ATTRAVERSO. Si associa a C3b inibito o IC3b.
- CR2: è un recettore esclusivo dei LINFOCITI B, serve a POTENZIARE LA RISPOSTA ALL'ANTIGENE; la sua azione si volge in questo modo:
 - il BCR si associa ad un frammento antigenico presente nell'ambiente.
 - Nel caso in cui il frammento antigenico presenti anche un frammento C3dg esso viene LEGATO DAL RECETTORE CR2.

Si forma quindi un complesso MOLTO PIÙ EFFICIENTE NELLA STIMOLAZIONE ALLA PRODUZIONE DI ANTICORPI che vengono escreti in grande quantità. Generalmente la attivazione del CR2 avviene in questo modo, ma antigene e C3dg possono anche non essere associati alla medesima membrana. Il medesimo recettore si trova sulle cellule APC dove funge da ADIUVANTE.

Le azioni svolte da questo tipo di complesso proteico sono quindi in realtà molto numerose e diverse, ricordiamo infatti:

- FUNZIONE CITOLITICA descritta in precedenza, ricordiamo tuttavia che alcuni batteri non sono suscettibili a questo tipo di attacco:
 - I BATTERI GRAM NEGATIVI sono sensibili in quanto presentano una membrana esterna lipidica e uno strato di peptidoglicano relativamente fine, al contrario I BATTERI GRAM POSITIVI sono insensibili ai fenomeni di LISI in quanto lo strato di peptidoglicano che li protegge è molto spesso..
 - I MICOPLASMI sono batteri che presentano una membrana estremamente spessa, non perforabile quindi.
- OPSONIZZANTE E QUINDI STIMOLANTE LA FAGOCITOSI, tale funzione è resa possibile per la presenza dei recettori CR descritti in precedenza:
 - CR1 posto sulla membrana dei fagociti e che riconosce come suo ligando C3b.
 - CR3 posto sui fagociti, presenta in linea generale funzioni differenti, ma nel caso in cui CR1 non sia funzionante, CR3 supplisce alla sua funzione.

È importante sottolineare il fatto che al contrario alle IgG tali molecole NON SONO AUTOSUFFICIENTI nella induzione alla FAGOCITOSI e necessitano di ulteriori stimoli di riconoscimento: per i batteri gram negativi, per esempio, effettore fondamentale è L'LPS.

- STIMOLANTE LA INFIAMMAZIONE: il complemento agisce da questo punto di vista grazie ai DIVERSI FRAMMENTI CHE RISULTANO DALLA AZIONE ENZIMATICA

PROTEOLITICA dei vari fattori coinvolti nei meccanismi di attivazione; tali frammenti sono:

- C4a: presenta ha scarso valore infiammatorio.
- C3a:
 - STIMOLA LA DEGRANULAZIONE DEGLI EOSINOFILI e dei BASOFILI coinvolti soprattutto nei fenomeni allergici e antiparassitari.
 - è un fattore chemiotattico.
- IC3b: rappresenta un fattore chemiotattico molto importante.
- C5a: si tratta di un FATTORE STIMOLANTE LA INFIAMMAZIONE in un modo MOLTO MOLTO FORTE, svolge il ruolo di:
 - FATTORE CHEMIOTATTICO IMPORTANTISSIMO.
 - viene percepito da un recettore detto C5a RECEPTOR a sette segmenti transmembrana.
 - Svolge una azione stimolante la degranulazione di mastocellule, basofili e granulociti in generale.
- L'INTERO COMPLESSO TERMINALE composto di C5a678 nel caso in cui non avvenga la ATTIVAZIONE FINALE della AZIONE LITICA, come avviene quasi sempre, HA ATTIVITÀ STIMOLANTE LA ATTIVAZIONE DELLA CELLULA SELF CUI SI È LEGATO.
- POTENZIANTE LA RISPOSTA ANTICORPALE come descritto in precedenza.

INTERRELAZIONE TRA COMPLEMENTO E COAGULAZIONE⁸:

I fattori di interazione tra complemento e coagulazione sono molto significativi, in particolare:

- LA TROMBINA può essa stessa attivare il sistema del complemento.
- IL PROCESSO DI FIBRINOLISI, essenziale per la dissoluzione del coagulo, presenta capacità attivante rispetto alla PLASMINA che a sua volta è capace di attivare il COMPLEMENTO.
- IL fattore C1 INIBITORE è capace di inibire anche la cascata della coagulazione.

⁸ Nella valutazione della funzionalità del complemento, si utilizza sempre il PLASMA, non il siero, in quanto IL SISTEMA DELLA COAGULAZIONE è tanto intrecciato con il sistema del complemento che LO METTE IN MODO generando una errata lettura del campione.

recettore	ligando	attività	distribuzione cellulare
CR1	C3b C4b	blocca la formazione del complesso C3 convertasi lega immunocomplessi alle cellule	eritrociti neutrofilii monociti macrofagi eosinofili cellule dendritiche follicolari cellule B cellule T
CR2	C3d C3dg iC3b	contibuisce alla corecezione del BCR lega il virus di epsetin barr	cellule B cellule follicolari alcune cellule T
CR3	iC3b	lega molecole di adesione dei neutrofilii stimola il passaggio attraverso l'endotelio stimola la fagocitosi	monociti macrofagi neutrofilii NK alcune cellule T

DIFETTI PATOLOGICI DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO:

I difetti patologici del sistema del complemento prevede lo studio in VIVO su pazienti cui sia noto il difetto genico e per i quali sia possibile quindi determinare una patogenesi specifica. Fondamentalmente ad oggi TUTTI I FATTORI DEL COMPLEMENTO sono ASSOCIATI A PATOLOGIE PARTICOLARI; in particolare possiamo distinguere due gruppi di patologie associate a tali mancanze:

PRIMO GRUPPO del quale fanno parte difetti genici delle prime proteine coinvolte nel sistema del complemento:

- C1q.
- C1r.
- C1s.
- C4.

deficienze di questo tipo di fattori portano spesso a patologie SERISSIME molto pericolose come il LUPUS che, come sappiamo, colpisce i vasi sanguigni e molti altri organi divenendo letale.

SECONDO GRUPPO del quale fanno parte difetti genetici di tutte le altre proteine del complemento:

- C2.
- C3 .
- C5.
- C6.
- C7.
- C8.
- C9.

si tratta di patologie dalla sintomatologia molto simile a quella di una immunodeficienza legata alle cellule B E SI ESTRINSECA IN INFEZIONI BATTERICHE MOLTO GRAVI come meningiti, otiti purulente e polmoniti. Per quanto riguarda questo tipo di patologie:

- sicuramente il C2 è IL FATTORE IN ASSOLUTO PIÙ COINVOLTO con una incidenza di 1 malato su 3000.
- a livello di patogeni infettivi ricordiamo che:

- Molto coinvolto in questo tipo di patologie è L'HAEMOPHILUS INFLUENZAE.
- LE NEISSERIE giocano spesso un ruolo molto importante; ricordiamo che fondamentalmente esistono due tipi di Neisserie:
 - un gonococco, associato ovviamente alla malattia venerea.
 - Neisseria meningitis molto pericolosa per le meningiti purulente che è capace di generare.

La meningite da NEISSERIA presenta a livello patogenico dei picchi di età:

- prima dei tre anni di età.
- intorno ai 20-25 anni.

per quanto riguarda le persone affette da difetti del complemento tale patologie assume un connotato differente, e si sviluppa:

- intorno ai 10 anni, ad insorgenza tardiva quindi.
- Spesso in forma RIPETUTA NUMEROSE VOLTE.

Per quanto riguarda la MANCANZA DEI SISTEMI DI CONTROLLO ricordiamo che deficienze del fattore C1INH porta ad una patologia nota come ANGIODERMA EREDITARIO che si manifesta con eccessi edematosi a livello:

- della bocca.
- Dell'occhio.
- delle mucose, caso in cui assume una pericolosità elevata: spesso viene scambiata per una patologia di natura infiammatoria differente come una appendicite.
- Della laringe dove il rigonfiamento edematoso diviene pericoloso in quanto può causare soffocamento.

La causa dei fenomeni angioedemici è legata al fatto che C1 inibitore oltre ad inattivare sia la via lettinica che la via classica del complemento, inattiva anche, grazie alla sua attività serin chinasi, la produzione di chinine attive.

si tratta di una patologia EREDITARIA MOLTO PERICOLOSA, è oggi possibile, tuttavia, prevenire l'espressione clinica della malattia somministrando degli ANDROGENI ATTENUATI in quantità elevate: si tratta di androgeni, quindi possono dare alcuni problemi, tuttavia il livello del C1INH torna a valori normali, questo è dovuto al fatto che tali androgeni stimolano la PRODUZIONE DI TALE PROTEINA A LIVELLO EPATICO. Noto l'effetto di tali farmaci, SI SA OGGI CHE IL PROBLEMA È LEGATO AD UNA DEFICIENZA DEL GENE REGOLATORE non al gene che codifica per la proteina.

Molte altre patologie possono essere inoltre associate a mancanza di fattori regolatori di membrana quali:

- DAF o CD55 che agisce sulla C3 convertasi
- MCP o CD46.
- CD59.

DAF E CD 59 sono ancorati alla membrana, come accennato in precedenza, tramite il GIP: esistono patologie genetiche che rendono impossibile di tale molecola lipidica, in particolare LA PNH (paroxysmal nocturnal haemoglobinuria) si tratta di:

- una emoglobinuria
- che si manifesta in modo parossistico ciclico soprattutto durante la notte.

Tale patologia È LEGATA AD UN ECCESSO DI ATTIVAZIONE DELLA FUNZIONE EMOLITICA DEL COMPLEMENTO che genera una LISI MOLTO SIGNIFICATIVA DEI GLOBULI ROSSI.

Deficienze legate invece al FATTORE H sono associate a grosse patologie renali come forme di GLOMERULONEFRITE molto serie: la mancanza di questo cofattore in alcune condizioni fa depositare il COMPLEMENTO ATTIVATO A LIVELLO DEL GLOMERULO RENALE

PROVOCANDO UNA REAZIONE INFIAMMATORIA A LIVELLO PODOCITICO.

VALUTAZIONE DELLA FUNZIONALITÀ DEL COMPLEMENTO:

è possibile valutare praticamente la presenza di molecole attive del complemento a livello dei diversi tessuti attraverso diverse tecniche;

- TRAMITE L'UTILIZZO DI ANTICORPI APPOSITI per le componenti attive del complemento, questo vale soprattutto in relazione a disfunzioni del fattore H visualizzabili tramite biopsia renale.
- TRAMITE L'UTILIZZO di PRODOTTI DI ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO che si possono trovare nel plasma.
- VALUTANDO IL CONSUMO DELLE COMPONENTI DEL COMPLEMENTO in particolare in relazione al dosaggio di C3.

LA RISPOSTA CELLULO MEDIATA:

fondamentalmente si tratta del complesso difensivo capace di eliminare:

- CELLULE INFETTE DA VIRUS.
- CELLULE TUMORALI.

IL RUOLO FISIOLOGICO di questo tipo di molecole è quindi quello di individuare cellule alterate e di ELIMINARLE SENZA MEDIAZIONE ANTICORPALE. Il ruolo di questo sistema è tanto importante che i bambini nati senza Timo, affetti da una sindrome detta di DiGeorge, sono continuamente soggetti a infezioni virali e fungine.

LE CELLULE C CITOTOSSICHE:

le cellule T citotossiche sono cellule che si evolvono da cloni di cellule Tc presenti nel nostro organismo fin dalla nascita, tali cellule:

- presentano un marcatore di membrana CD8.
- Sono compatibili quindi con MHC di classe I.
- Sono potenzialmente capaci di riconoscere e distruggere qualsiasi tipo di cellula presente nel nostro corpo.

ANALOGAMENTE A QUANTO AVVIENE PER I LINFOCITI B anche le CELLULE T CITOTOSSICHE AGISCONO IN DUE FASI:

- Le cellule riconoscono il loro specifico bersaglio e se compatibili si MOLTIPLICANO.
- ATTACCANO il bersaglio RICONOSCIUTO TRAMITE L'APPOSITO RECETTORE.

Ovviamente le cellule T CITOTOSSICHE possiedono il TCR e tramite esso possono vedere l'antigene ma UNICAMENTE SE STRUTTURATO INSIEME ALL'MHC DI CLASSE I:

- possono essere attivate quindi da QUALSIASI TIPO DI CELLULA, non solo da cellule APC.
- Il fattore di attivazione FONDAMENTALE è la ESPOSIZIONE DELL'ANTIGENE INTRACELLULARE ELABORATO da parte della CELLULA COLPITA O ALTERATA.

LA AZIONE SI ESTRINSECA POI SULLE CELLULE BERSAGLIO ovviamente TRAMITE RECETTORI APPOSITI.

LA ATTIVAZIONE DELLE CELLULE T CITOTOSSICHE:

la PRIMA attivazione di queste cellule richiede un meccanismo di segnalazione simile a quello che si instaura nella attivazione delle cellule B da parte delle APC tale per cui saranno necessari diversi segnali:

- un riconoscimento DELL'ANTIGENE ESPOSTO da parte del TCR e dell'MHC che lo espone da parte del CD8.
- Un segnale di costimolazione legato anche in questo caso alla presenza di una APC e in particolare mediato dalla interazione tra CD28 e B7.
- IL2 fondamentale in ogni caso per la proliferazione della cellula. È importante

sottolineare a questo proposito il fatto che al contrario della cellule T helper, queste cellule non sono in grado di proliferare da sole: **NON SONO IN GRADO DI PRODURRE IN SENSO AUTOCRINO**, almeno nella loro forma non attivata, **INTERLEUCHINA 2**.

TUTTO QUESTO AVVIENE NELLE LINFOGHIANDOLE e ad intervenire dovrà essere una cellula **DENDRITICA**: sappiamo che la cellula dendritica, disponendo di entrambi gli MHC, al **PRIMO INCONTRO CON L'ANTIGENE** è capace di **INFORMARE LA CELLULA CTL** ma che necessita dell'intervento di una cellula TH1 per poter eseguire tale compito:

- **LE CELLULE DENDRITICHE ESPONGONO L'ANTIGENE.**
- **L'ANTIGENE VIENE RICONOSCIUTO DALLA CELLULA TH1.**
- **LA TH1 SI MOLTIPLICA E SECERNE IL2.**
- **LA IL2 ESPRESSA:**
 - agisce sulla cellula TH1 che come sappiamo è autosufficiente e attiva in modo autocrino la sua proliferazione.
 - Viene **ESPRESSA NELL'AMBIENTE** dove **ENTRA IN CONTATTO CON LE CELLULE Tc** in fase di attivazione.
- **QUINDI LA CELLULA APC DI TIPO PLASMOCITOIDE⁹**, che presenta **ENTRAMBI GLI MHC**, **ESPONE ANCHE L'MHC I alterato** alla cellula T **CITOTOSSICA** CHE **ESPONE IL RECETTORE PER LA IL2** in modo analogo a quanto avviene per la cellula B: espone cioè un ulteriore subunità recettoriale che viene ad unirsi a quelle presenti sulla membrana.
- **LA CELLULA T CITOTOSSICA**, essendo presenti tutti i substrati necessari, **PROLIFERA**,

Il riconoscimento dell'antigene **CHE DEVE ESSERE ATTACCATO DALLA CELLULA T CITOTOSSICA** avviene quindi tramite due vie:

- **ANTIGENI SOLUBILIZZATI** che vengono ad essere prelevati ed elaborati.
- **CELLULE CHE VENGONO ELABORATE ED ESPOSTE da APC AD ATTIVITÀ FAGOCITICA.**

In ogni caso le cellule APC capaci di produrre MHC I alterati, cioè le cellule APC plasmocitoidi, **SONO IN OGNI CASO ESSENZIALI PER IL CORRETTO FUNZIONAMENTO DEL SISTEMA.**

È IMPORTANTE SOTTOLINEARE IL FATTO CHE ALLA SECONDA INVASIONE LE CELLULE T CITOTOSSICHE DELLA MEMORIA DIVENGONO CAPACI DI PRODURRE INTERLEUCHINA DIRETTAMENTE e non necessitano quindi di ulteriori cellule attivanti.

IL CONTATTO TRA CELLULA T CITOTOSSICA E CELLULA BERSAGLIO:

Perché la cellula T possa eseguire la sua azione, deve esserci un contatto **DIRETTO** tra le due cellule; il processo avviene in linea generale in questo modo:

- le cellule T si attaccano alla cellula.
- la colpiscono.
- ne provocano la lisi.
- si staccano e vanno ad attaccare altre cellule infette.

La reazione avviene a temperatura ideale di 37°C.

LA CELLULA NK:

la cellula NK è una cellula ad attività citotossica assolutamente **NON SPECIFICA**, distingue unicamente **CELLULE SELF DA NON SELF**. In linea generale possiamo quindi

⁹ Di fatto tutte le cellule del nostro organismo sono capaci di produrre MHC di tipo I, ma solo le cellule plasmocitoidi sono capaci di prelevare antigeni dall'ambiente e di esporli sulla superficie della membrana in associazione all'MHC di tipo I.

aspettarci che in primissima istanza si mobilitano le cellule NK, in seguito si attivano le cellule T CITOTOSSICHE che, rispetto alle NK:

- presentano fenomeni di memoria.
- sono più efficaci.

tali cellule fanno parte del mondo delle cellule MONONUCLEATE LINFOCITO SIMILI, sono poche, il 5-7% della popolazione linfocitaria totale PRESENTE IN CIRCOLO, tali cellule:

- sono prodotte nel midollo.
- sono degli effettori presenti costantemente anche se non ne conosciamo esattamente la quantità totale, si collocano infatti sia nel sangue che nei tessuti periferici.
- incrementano in caso di infiammazione e infezione.
- sono cellule della IMMUNITÀ ASPECIFICA, quindi:
 - NON PRESENTANO IL TCR.
 - NON PRESENTANO IL CD3 ovviamente.
 - SONO CD4 E CD8 NEGATIVE.
- PRESENTANO UNA MOLECOLA DETTA CD 56 utilizzata come marcatore di membrana.
- PRESENTANO IL RECETTORE CD 16 per IL FRAMMENTO Fc DELLE IMMUNOGLOBULINE; si tratta di un recettore a bassa affinità utile:
 - nei macrofagi per la FAGOCITOSI.
 - nelle cellule NK ad individuare il BERSAGLIO.
- ESISTONO DUE TIPI PARTICOLARI DI CELLULE NK variamente distribuite nei tessuti e distinguibili tra loro per i diversi marcatori che presentano:
 - CELLULE KILLER presenti principalmente in circolo, presentano:
 - scarse quantità di CD56.
 - CD16.
 - CELLULE PRODUTTRICI DI CITOCHINE¹⁰ presenti principalmente nei tessuti; tali cellule presentano a livello della membrana:
 - molto CD56.
 - poco CD 16 se non nulla.le citochine prodotte da questo tipo di cellule SONO MOLTISSIME e sono molto importanti nella induzione soprattutto della risposta cellulo mediata da parte delle cellule T citotossiche.

LE CELLULE NK CITOTOSSICHE:

presentano della particolarità:

- non hanno la capacità di uccidere in relazione alla esposizione di MHC I alterato.
- Non presentano, come accennato, fenomeni di memoria.

Il riconoscimento del BERSAGLIO si basa su DUE DIFFERENTI METODI: ADCC e RICONSCIMENTO DIRETTO.

ADCC:

Per quanto riguarda questo metodo di riconoscimento è fondamentale la presenza del recettore CD16 per il frammento Fc delle immunoglobuline in quanto consente IL RICONSCIMENTO DEL BERSAGLIO: LA CELLULA È CAPACE DI RICONOSCERE LA CELLULA BERSAGLIO IN QUANTO COMPLESSATA ALL'ANTICORPO e si parla di ADCC CIOÈ ANTIBODY DIPENDENT CELL CITOTOXICITY in questo caso la SPECIFICITÀ DEL SISTEMA È MEDIATA

¹⁰ Nella fase mestruale nell'endometrio si trovano numerosi CELLULE PRODUTTRICI DI CITOCHINE, lo stesso fenomeno si INSTAURA NELL'ENDOMETRIO DELLA DONNA GRAVIDA dove RAPPRESENTANO IL 70% DELLA POPOLAZIONE linfocitica.

DALLE IMMUNOGLOBULINE.

RICONOSCIMENTO DIRETTO:

LE CELLULE NK possiedono un sistema estremamente polimorfico di RECETTORI; tali recettori sono classificabili in due categorie fondamentali cioè ATTIVATORI e INIBITORI:

- SE LA CELLULA PRESENTA UNA PREVALENZA DI STIMOLI INIBITORI viene messa a riposo.
- SE LA CELLULA PRESENTA UNA PREVALENZA DI STIMOLI ECCITATORI viene attivata e diviene citotossica.

Fondamentalmente la attivazione di recettori inibitori da parte di molecole associate alle cellule SELF consente IL RICONOSCIMENTO DELLE STESSE e la loro protezione; questo si estrinseca grazie alla presenza di recettori KIR cioè KILLINK INIBITOR RECEPTOR, si tratta di molecole distinguibili in due categorie morfologiche:

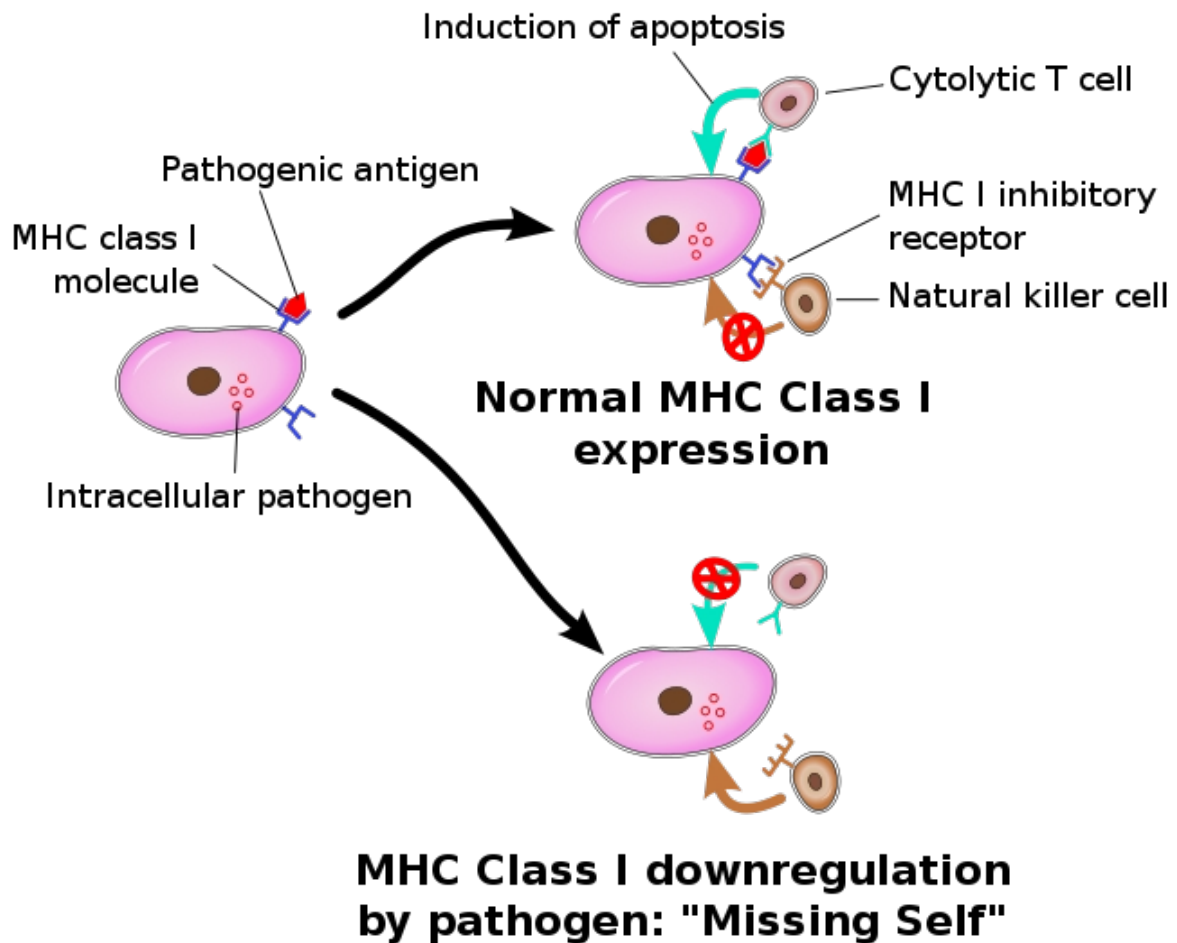
- immunoglobuliniche.
- lettiniche.

Una volta attivate tali molecole mettono a riposo la cellula E SONO CAPACI DI RICONOSCERE FRAMMENTI DELLE MOLECOLE MHC DI CLASSE PRIMA DI TIPO C. Fondamentalmente distinguiamo due situazioni:

- CONTATTO CON CELLULA NORMALE: le molecole recettoriali normali riconoscono la cellula come tale e la frenano in quanto si attivano i KIR.
- CONTATO CON CELLULA ANORMALE che porta alla attivazione della cellula NK in due modi fondamentalmente:
 - NEL CASO IN CUI VENGA MENO IL RECETTORE MHC I di tipo C e spariscano quindi i segnali di inibizione.
 - NEL CASO IN CUI L'MHC I di tipo C SIA MODIFICATO e perda affinità rispetto le cellule recettoriali inibitore e acquisisca affinità per quelli di ATTIVAZIONE.

Analogamente alle altre cellule del sistema immunitario, anche le cellule NK presentano SISTEMI RECETTORIALI ASSOCIATI ALLA CAPACITÀ RIPRODUTTIVA DELLA CELLULA e sensibili in particolare a:

- IL2 in particolare si tratta di un recettore a bassa affinità.
- IL12 prodotta in particolare in risposta ad infezioni di natura virale.



KILLING PER PERFORAZIONE DELLA MEMBRANA CELLULARE:

entrambi i tipi di cellule, sia CTL che NK, sono in grado di produrre e secernere PERFORINE, molecole ad azione perforante la membrana cellulare. Fondamentalmente possiamo dire che:

- la cellula effettrice presenta dei granuli contenenti tali perforine, proteine del peso di circa 65-70Kd.
- le perforine vengono esocitate in risposta a:
 - stimoli aspecifici per quanto riguarda le cellule Nk.
 - Stimoli specifici legati al riconoscimento dell'MHC di tipo I per quanto riguarda le CTL.
- le perforine svolgono quindi la loro funzione: si ASSOCIANO TRA LORO FORMANDO DEI FORI SULLA MEMBRANA CHE DEGRADANO LA CELLULA RENDENDOLA PERMEABILE A FATTORI OSMOTICI.

Il meccanismo effettrice è estremamente simile a quello utilizzato dal SISTEMA DEL COMPLEMENTO, tuttavia a differenza del sistema proteico plasmatico, questo tipo di uccisione:

- non presenta una cascata regolativa.

- Produce pori di dimensioni maggiori.
- Necessita di **CALCIO** per poter agire a livello della membrana cellulare.

i pori si vedono sulla membrana della cellula perforata.

METODI DI KILLING LEGATI A MESSAGGI APOPTOTICI:

sia le CTL che le NK sono in grado di utilizzare un metodo di uccisione differente: si osserva infatti che nel momento in cui il metodo basato sulle perforine non funziona, nell'arco di qualche minuto dal distacco tra la cellula effettrice e la cellula bersaglio, la cellula colpita va incontro a fenomeni apoptotici. Si tratta di una via utilissima nella eliminazione di cellule alterate o infettate, ricordiamo in linea generale che i meccanismi apoptotici possono essere innescati in due modi:

- alterazione delle membrane mitocondriali che porta alla emissione di citocromo C nel citosol cellulare.
- attivazione della **CASCATA DELLA CASPASI** che di fatto esegue azioni apoptotiche sulla cellula bersaglio.

IN OGNI CASO VENGONO COINVOLTI RECETTORI DI MEMBRANA DELLE CELLULE BERSAGLIO, tali recettori possono essere sensibili:

- a componenti associate direttamente alla membrana della cellula effettrice.
- a fattori solubili secreti dalle cellule citotossiche.

I meccanismi sono due fondamentalmente:

- **FAS** o **CD95** della cellula bersaglio / **FASL** o **CD95L** della cellula citotossica.
- granzime che sono capaci di indurre fenomeni di apoptosi: sono molecole contenute nei granuli delle cellule citotossiche e possono essere veicolate all'interno della cellula bersaglio in due modi distinti:
 - possono penetrare tramite i pori formati dalla azione delle perforine: anche se questi dovessero essere riparati, la azione apoptotica si svolgerebbe comunque.
 - Possono penetrare attraverso un recettore detto recettore del mannosio 6 fosfato: in questo caso la presenza delle perforine **PERMANE FONDAMENTALE** in quanto:
 - il recettore associato al suo ligando viene endocitato.
 - Perforine presenti nella cellula liberano il granzime dalla vescicola di endocitosi consentendone la azione.
- citochine tra cui soprattutto molecola della famiglia dei **TNF**, associate alla membrana della cellula citotossica, hanno capacità stimolante la apoptosi. Come sappiamo il **TNF** si presenta in due forme che agiscono sullo stesso recettore, ma portando a due risultati completamente differenti:
 - **TNF alfa**: stimola la **FLOGOSI** è proinfiammatorio e agisce su fagociti, macrofagi e cellule endoteliali.
 - **TNF beta**: stimola la **APOPTOSI**.

Tali **FATTORI POSSONO ESSERE PRESENTI SIA IN FORMA DI MEMBRANA SIA IN FORMA SOLUBILE**.

TUTTI QUESTI MECCANISMI SONO CAPACI DI INNESCARE LA VIA DELLE CASPASI e di indurre la morte della cellula:

- i sistemi recettoriali agiscono tramite **SEQUENZE INTRACELLULARI DI SEGNALE CHE ATTIVANO LE CASPASI** e sono dette **DD** o **death domain**.
- I granzime sono capaci di attivare in modo diretto le procaspasi a caspasi generando la morte cellulare.

LA CELLULA APOPTOTICA

a prescindere da quali siano i meccanismi di innesco della via apoptotica, la cellula va incontro ad un processo di distruzione sempre identico:

- anzitutto si osserva una riduzione del CITOPLASMA e un ADDENSAMENTO NUCLEARE NOTEVOLE legato all'addensamento della cromatina.
- Si attivano specifiche endonucleasi che degradano il DNA nucleare tagliandolo nello spazio internucleosomico, ogni 200 basi circa. Si parla di nucleo PICNOTICO.
- Alterazioni del citoscheletro CHE GENERANO UNA PERDITA DI ADESIONE CON L'AMBIENTE CIRCOSTANTE.
- FORMAZIONE DEI CORPI APOPTOTICI formati di membrana, citoplasma e piccoli frammenti di DNA.

ELIMINAZIONE DEI CORPI APOPTOTICI TRAMITE FAGOCITOSI:

si tratta di un processo che avviene tipicamente successivamente alla frammentazione della cellula e che è reso possibile dalla azione di enzimi detti FLIPPASI che:

- aderiscono alla membrana della cellula in fase apoptotica.
- Generano un rovesciamento dei fosfolipidi di membrana, in particolare della FOSFATIDILSERINA che viene esposta all'esterno, cosa che non avviene mai in situazioni normali.
- La FOSFATIDILSERINA esposta viene riconosciuta e STIMOLA I MECCANISMI DI FAGOCITOSI dei corpi apoptotici.

Ricordiamo infine che le caspasi sono semplicemente delle proteasi che con la loro azione vanno ad attivare un sistema a cascata:

- bloccando la azione di alcuni enzimi normalmente attivi tramite taglio proteolitico.
- Eliminando sequenze di inibizione normalmente associate ad enzimi attivi nelle fasi apoptotiche.

ALTRE POSSIBILITÀ DELLA DIFESA IMMUNITARIA:

oltre ai meccanismi descritti in precedenza, esistono altre vie effettrici indispensabili a garantire una risposta immunitaria contro ogni tipo di patogeno.

IgE e EOSINOFILI NELLE PARASSITOSI:

le IgE sono le uniche immunoglobuline capaci di incrementare la risposta immunitaria contro i parassiti; una volta prodotte tramite le normali vie di stimolazione:

- le IgE si associano agli eosinofili tramite il loro frammento Fc.
- Stimolano la degranolazione di tali leucociti.
- Distruggono il parassita in modo estremamente efficiente.

BATTERI INTRACELLULARI OBBLIGATI:

si tratta di batteri quali:

- LISTERIE.
- BRUCELLE.
- MYCOBATTERI:

tali microorganismi presentano una membrana molto spessa e altri sistemi di difesa tali per cui sono in grado di SOPRAVVIVERE ALL'INTERNO DELLA CELLULA FAGOCITICA CIRCOLANTE senza essere distrutti e, non essendo virus, SENZA PROVOCARE LA ESPOSIZIONE DI FATTORI ALTERATI.

Nella risposta contro QUESTO TIPO DI PATOGENI IL SISTEMA IMMUNITARIO incrementa:

- LA AGGRESSIVITÀ DEL FAGOCITO.
- IL NUMERO DEI FAGOCITI PRESENTI IN CIRCOLO.

In questo modo si producono molte citochine e la risposta risulta complessivamente più violenta, si formano inoltre degli enormi aggregati di fagociti attorno a tali antigeni di modo che l'effetto complessivo della loro azione sia amplificato al massimo e molto più

Giordano Perin; immunologia 3: le fasi afferente ed efferente della risposta immunitaria efficace.



DIFESE IMMUNITARIE CONTRO BATTERI E VIRUS

Il nostro organismo è capace, come sappiamo, di difenderci da BATTERI e VIRUS in diversi modi; come abbiamo visto, alla base della difesa immunitaria c'è, comunque e sempre, il riconoscimento dell'antigene.

DIFESE CONTRO I BATTERI:

I batteri sono microorganismi cellulari dalle capacità infettive notevoli, in particolare possiamo distinguere alcune classi fondamentali:

- batteri gram positivi.
- Batteri gram negativi.
- spirochete.
- micobatteri.

BATTERI GRAM POSITIVI:

presentano una patogenicità elevata legata al fatto che:

- presentano uno strato di peptidoglicano sulla parete cellulare molto spesso che li rende molto resistenti alla perforazione per esempio dal sistema del complemento. La loro parete risulta tuttavia perforabile dal LISOZIMA, antibiotico naturalmente fondamentale.
- Tali batteri sono inoltre capaci di produrre esotossine molto pericolose.

BATTERI GRAM NEGATIVI:

si tratta di batteri caratterizzati da:

- una parete organizzata in questo modo dall'interno verso l'esterno:
 - membrana interna.
 - spazio periplasmico.
 - strato di peptidoglicano relativamente ristretto.
 - membrana esterna che presenta, come noto, il peptidoglicano.
- L'LPS, antigene molto pericoloso, è la ENDOTOSSINA DI QUESTI BATTERI: tale tossina è molto pericolosa sia per il suo stesso effetto sia per il fatto che, non presentando natura proteica, ha una carica antigenica inferiore.
- La membrana esterna di questi batteri si può presentare fundamentalmente in due forme:
 - RAPH con poche ramificazioni, i batteri che presentano questa conformazione sono meno protetti.
 - SMOOTH che presentano invece molte ramificazioni, tali batteri sono maggiormente protetti dalla azione delle componenti del sistema immunitario.
- essendo meno riconoscibile da parte del nostro sistema immunitario la LPS può portare a SHOCK ENDOTOSSINICO che a livello sintomatologico si manifesta come:
 - distruzione di vari organi del corpo.
 - morte dell'individuo.

È in ogni caso importante sottolineare il fatto che CON I BATTERI GRAM POSITIVI E NEGATIVI noi CONVIVIAMO TUTTI I GIORNI e SPESSO SONO PRESENTI NEL NOSTRO ORGANISMO COME SAPROFITI:

- PRODUCONO FATTORI VITAMINICI MOLTO IMPORTANTI.
- OCCUPANO NICCHIE ECOLOGICHE E COMPETONO CON LE ALTRE CELLULE¹.

a volte tali batteri acquisiscono la capacità di penetrare le mucose del nostro corpo E

¹ in particolare nei villi intestinali occupano e presidiano le cavità.

DIVENIRE PERICOLOSI E LESIVI, questo avviene fondamentalmente tramite due meccanismi lesivi:

- la produzione di tossine pericolose che perforano la parete della mucosa, un tipico esempio come è l'*helicobacter pilori*, causa della ulcera duodenale.
- si possono legare alle superfici epiteliali tramite adesine, generalmente presenti sui pili batterici, che generando fenomeni patologici significativi.

LE DIFESE DEL NOSTRO CORPO CONTRO I BATTERI:

il nostro organismo si difende dai batteri tramite:

- BARRIERE FISICHE.
- BARRIERE CHIMICHE.
- BARRIERE DI SECREZIONE.
- CIGLIA.
- PERISTALSI molto importante da questo punto di vista: la stagnazione batterica in caso di assenza di peristalsi genera seri fenomeni nocivi sul paziente.
- LISOZIMA prodotto da GRANULOCITI NEUTROFILI PER ESEMPIO ma anche da altre cellule e presente in molte secrezioni.
- LE DEFENSINE peptidi antibiotici fisiologicamente prodotti dal nostro corpo.
- IgA prodotte da LINFOCITI che si collocano NEL CONNETTIVO SOTTOEPITELIALE; tali Ig sono:
 - differenti dalle IgA circolanti in quanto presentano natura dimerica.
 - presentano un fattore di riconoscimento ed essenziale per la loro escrezione a livello della mucosa stessa e detto PEZZO SECRETORIO.

LA FUNZIONE DI QUESTO TIPO DI Ig È:

- BLOCCARE LA ADESIONE DEI MICROORGANISMI alla superficie della mucosa.
 - NEUTRALIZZARE LE TOSSINE prodotte dai batteri patogeni.
 - RAGGRUPPARE BATTERI bloccando la adesione alla mucosa.
- hanno fondamentalmente un compito di SALVAGUARDIA LOCALE.

I BATTERI una volta penetrati possono essere fermati o rallentati direttamente a livello del territorio d'ingresso, in particolare grazie ALLE COMPONENTI DELLA DIFESA NATURALE come:

- MACROFAGI che possono:
 - riconoscere MEMBRANE BATTERICHE E FAGOCITARE LE CELLULE.
 - raggiungere la sede della invasione tramite FATTORI CHEMIOTATTICI:
 - prodotti da cellule bianche come interferoni e interleuchine.
 - Prodotti dai batteri stessi come il formilpeptide.
- POLIMORFONUCLEATI LOCALI che vengono cooptati dal circolo per ATTIVAZIONE DELL'ENDOTELIO spesso mediata da:
 - LPS attivatore molto potente dell'endotelio.
 - MACROFAGI che durante la loro azione fagocitica sono in grado di produrre interferoni e interleuchine di funzione chemiotattica molto importante.

A seguito vengono espresse:

- SELECTINE.
- ICAM.
- ALTRE MOLECOLE.

l'endotelio si modifica quindi in modo molto consistente.

FATTORI CHEMIOTATTICI o COINVOLTI IN QUESTI FENOMENI sono per esempio:

- IL8 importantissima come fattore di attrazione per i polimorfonucleati.
- Fattori attivi della immunità aspecifica come le proteine del COMPLEMENTO

che possono **CONTRIBUIRE**:

- alla uccisione dei batteri gram negativi.
- alla fagocitosi di tutti i batteri presenti anche se non eliminabili tramite lisi, il complemento si deposita infatti sulla membrana batterica in particolare:
 - C3b e derivati.
 - C3bi.

Che come sappiamo possono avere attività stimolante la risposta immunitaria tramite recettori per il complemento CR1-2-3.

- al richiamo di altri fattori di natura infiammatoria: questo vale soprattutto per le forme peptidiche attive di piccole dimensioni.
- **ALTRI FATTORI LOCALI** possono contribuire alla eliminazione del batterio:
 - il complemento con la sua funzione litica diretta.
 - Le defensine.
 - Il lisozima.

Per poter arrivare in circolo e generare una batteriemia e quindi una eventuale sepsi, il batterio deve aver superato tutte queste difese immunitarie; si può avere a questo punto una leucocitosi per due motivi fondamentalmente:

- **MOBILITAZIONE DELLE RISERVE PERIFERICHE.**
- **NEOFORMAZIONE A LIVELLO MIDOLLARE².**

Molto importante è quindi il ruolo delle **PROTEINE DELLA FASE ACUTA** e in particolare della PCR, proteina C reattiva, marker estremamente importante per fenomeni di tipo infiammatorio.

I MECCANISMI DI EVASIONE BATTERICI:

I **BATTERI** presentano numerosi e diversi metodi per evadere le difese del nostro organismo, in particolare:

- possono degradare le IgA a livello delle mucose tramite la produzione di proteasi; a questo livello è importante ricordare che:
 - IgA 1, che presentano una cerniera lunga, sono facilmente degradabili.
 - IgA 2, che presentano cerniera breve, sono meno degradabili.
- i batteri possono anche confondersi tra le componenti **SELF** del nostro corpo, per esempio tramite:
 - una capsula ricca di acido sialico che:
 - allontana i fagociti e rende difficile il contatto con l'agente esogeno.
 - protegge il batterio da attacchi da parte di molecole del complemento per esempio.
 - ramificazioni della membrana esterna dei batteri **GRAM NEGATIVI**, per esempio, **TENGONO A DISTANZA DALLA MEMBRANA TUTTO QUANTO SI ASSOCIA AD ESSA**: cellule dotate di fenotipo liscio, presentano quindi una maggiore resistenza alla fagocitosi.
 - proteine di membrana che hanno azione antifagocitica di per sé stesse.
- i batteri possono anche **ELABORARE SISTEMI CHE BLOCCANO LA FORMAZIONE DEI FAGOLISOSOMI** a seguito di endocitosi: si tratta di un meccanismo tipico soprattutto dei micobatteri.
- Alcuni batteri, soprattutto gli agenti causa di meningiti batteriche, essendo capsulati, hanno la capacità di secernere capsule libere che vengono attaccate

2 Come noto la differenza tra i due tipi di leucociti si può commisurare sulla base del numero di lobi che presentano: meno sono i lobi, più vecchio è il leucocita.

dal nostro sistema immunitario che non riesce a distinguerle dal batterio vero e proprio.

Attraverso questi metodi di evasione il batterio è capace di avvicinarsi al circolo sanguifero in modo molto più rapido e assume un carattere decisamente più virulento.

DIFESE CONTRO I VIRUS:

le strategie messe in atto dal nostro sistema immunitario contro le cellule infette dai virus sono molto diverse da quelle messe in atto contro i batteri, i virus infatti:

- attaccano singole cellule.
- Si moltiplicano a spese della cellula che infettano.
- Presentano dimensioni piccolissime spesso.
- Possono permanere nella cellula ospite in forma inespresa o latente per moltissimo tempo.
- Presentano forme di tropismo estremamente specifiche.

Oltre che direttamente VIRULENTI i virus possono anche dare quadri patologici differenti, in particolare ricordiamo che esistono:

- VIRUS LATENTI come GLI HERPESVIRUS, in particolare:

- virus simplex.
- virus varicella.

Che si insediano in alcune sedi non raggiungibili dal sistema linfocitario come i gangli nervosi.

- VIRUS a VOLTE CRONICI che si possono fermare in modo silente in alcuni territori specifici, in particolare:
 - il quadro è silente a seguito della infezione.
 - A seguito di stimoli dei più diversi il virus riemerge e diviene capace di generare effetti patologici anche molto gravi.
- VIRUS SEMPRE CRONICI che danno infezioni croniche come l'epatite o che richiedono un tempo molto lungo per realizzarsi.

LA PENETRAZIONE DEL VIRUS NELL'ORGANISMO OSPITE:

come accennato è un fattore fondamentale come per qualsiasi patogeno, in particolare può avvenire in due modi:

- dalle mucose, come avviene nella stragrande maggioranza dei casi.
- direttamente dal sangue anche se avviene raramente.

la penetrazione può essere INIBITA DIRETTAMENTE A LIVELLO DELLE MUCOSE grazie alla presenza di fattori attivi contro le molecole virali:

- DEFENSINE che uccidono direttamente il virus.
- IgA che associandosi alle molecole di adesione del virus gli impediscono di entrare in contatto con la mucosa.

LA PENETRAZIONE NELLA CELLULA OSPITE:

Un virus per divenire pericoloso deve anzitutto PENETRARE NELLA CELLULA e per farlo del utilizzare delle molecole che siano espresse sulla superficie delle cellule per cui presenta tale tropismo; alcuni esempi sono:

- il virus dell'HIV che utilizza il recettore linfocitario CD4.
- Il virus EPSTEIN BARR responsabile di patologie quali:
 - carcinoma nasofaringeo.
 - linfoma di Burkitt.
 - mononucleosi.

QUESTO VIRUS ATTACCA I LINFOCITI B: per penetrare in tali cellule utilizza il

recettore CR2³.

- **MORBILLO**: il morbillivirus attacca prevalentemente i linfociti T associandosi al recettore CD46⁴.
- I **RINOVIRUS** che utilizzano l'ICAM che viene espresso, come noto, da cellule molto diverse del nostro corpo.

A SEGUITO DELLA PENETRAZIONE NELLA CELLULA:

una volta penetrato nella cellula, il virus diviene in grado di replicarsi, esistono tuttavia dei fattori capaci in qualche modo di interferire a livello di questo tipo di fenomeni:

- **INTERFERONI**: si tratta di molecole secrete in forma protettiva dalla cellula infetta per le cellule vicine ad essa; ricordiamo in particolare l'esistenza di tre tipi di interferoni:
 - interferone ALFA naturale **PRODOTTO DA CELLULE INFETTATE**.
 - interferone BETA naturale **PRODOTTO DA CELLULE INFETTATE**.
 - interferone GAMMA immune prodotto da componenti della immunità specifica:
 - **CELLULE Th 1** per cui risulta essenziale per stimolare la produzione di TCL mature.
 - **CELLULE INFETTE e ALTRE CELLULE DEL SISTEMA IMMUNITARIO** per cui contribuisce alla attivazione:
 - delle cellule della difesa contro il virus.
 - Delle cellule vicine a quelle infette analogamente a quanto avviene per gli interferoni naturali.

TALI MOLECOLE ATTIVANO UN SISTEMA MOLECOLARE LA CUI FUNZIONE È QUELLA DI BLOCCARE LA REPLICAZIONE VIRALE A LIVELLO ENDOCELLULARE:

- stimola la produzione di PKR16 la cui funzione è quella di inibire la trascrizione e traduzione del materiale virale.
- Oligoadenilato sintasi e RNAasi che di fatto promuovono la degradazione attiva del materiale genico presente all'interno della cellula infetta.

TALI FATTORI TUTTAVIA NON SONO SELETTIVI e se trovano cellule in attiva proliferazione **AGISCONO ANCHE SU DI ESSE**: le cellule in assoluto più attive nel nostro corpo appartengono alle linee mieloide e megacariocitica, potrebbero quindi insorgere una trombocitopenia e una, seppur rara, mielodepressione.

L'interferone gamma inoltre ha la capacità di **STIMOLARE LA RISPOSTA IMMUNITARIA**, in particolare:

- velocizza lo switch isotipico verso le IgG da parte delle plasmacellule.
- stimola la presentazione dell'antigene:
 - incrementa la espressione di MHC I E II.
 - incrementa la attività **MACROFAGICA** in modo molto notevole.
- Stimola la proliferazione delle cellule T naive a cellule Th1.

È possibile utilizzare TALI INTERFERONI IN FORMA TERAPEUTICA, tuttavia:

- si possono instaurare forme di depressione della proliferazione cellulare anche pericolose.
- naturalmente promuovendo la espressione di MHC di tipo I e II, si stimolano eventualmente malattie autoimmuni latenti o in atto.
- Si tratta in ogni caso unicamente di di un **ARGINE** rispetto alla propagazione virale.

3 Si tratta del recettore per il complemento che fisiologicamente consente la associazione tra la cellula B e il FRAMMENTO DI DERIVAZIONE COMPLEMENTARE C3dg.

4 Si tratta anche in questo caso di un fattore coinvolto nella attività del complemento: aiuta la inattivazione di C3b.

- LA RISPOSTA CITOTOSSICA: è indispensabile uccidere le cellule che ospitano il virus ed è affidata, come sappiamo, a cellule CTL e NK.
 - Inizialmente intervengono le cellule NK: queste sono capaci di attaccare cellule infette, come visto in precedenza, in modo relativamente aspecifico.
 - Intervengono, a seguito del riconoscimento dell'antigene, le cellule CTL essenziali nel riconoscere in modo specifico le cellule infette ed eliminarle in modo efficiente; inoltre tali cellule presentano, al contrario delle NK, fenomeni di memoria.
 - ANTICORPI anti-virus possono:
 - legarsi al virus e impedirne l'associazione alla cellula ospite:
 - sia inizialmente, prima che l'infezione abbia inizio, come avviene per le IgA delle mucose.
 - sia in seguito, nel momento in cui si scateni una viremia ematica causata dall'effetto citopatico del virus stesso.
 - stimola la lisi tramite complemento associandosi alla membrana della cellula infetta.
 - stimola la lisi del virus stesso tramite la azione del complemento.
- La presenza di anticorpi antivirali è in ogni caso utilissima in quanto prolunga in modo molto considerevole LA DURATA DELLA IMMUNITÀ ACQUISITA.

IL CONTATTO VIRUS-FETO:

Se un feto in via di sviluppo subisce un attacco da parte di un virus materno nel momento in cui si stia sviluppando il sistema dei T linfociti, tale virus potrebbe essere riconosciuto come SELF e di conseguenza LINFOCITI CHE LO RICONOSCONO COME TALE MANTENUTI IN VITA generando quindi una palese incapacità di risposta da parte feto a quell'antigene che verrà sempre e comunque riconosciuto come self.

LE VACCINAZIONI:

Di per se stesso il corpo umano si difende molto bene dalle aggressioni di organismi patogeni e la miglior difesa in assoluto da una seconda invasione è la memoria acquisita dal nostro stesso organismo con la guarigione; il nostro corpo:

- attacca l'antigene e porta a guarigione.
- conserva memoria per quel tipo di antigene.

le VACCINAZIONI altro non fanno se non aiutare questi naturali processi di acquisizione.

DISTINGUIAMO FONDAMENTALMENTE TRE POSSIBILITÀ:

- **SIEROPROFILASSI:** vengono somministrati passivamente anticorpi per rendere possibile una difesa efficace e a breve termine contro l'antigene:
 - SI PARLA DI IMMUNIZZAZIONE PASSIVA.
 - SI UTILIZZA NEL PRIMISSIMO STADIO DELLA MALATTIA INFETTIVA.
 - SI PUÒ UTILIZZARE anche ad oggi per ALTRI MOTIVI:
 - nella terapia contro il cancro.
 - In individui che manchino della produzione di Ig, causata spesso da difetti innati o acquisiti dei linfociti B.
 - esposizione a malattie che possono divenire pericolose a brevissimo termine.
 - Per malattie la cui prognosi può migliorare in caso di somministrazione di anticorpi.
 - Viene somministrata una terapia con anticorpi per pazienti affetti da:
 - botulino.
 - Tetano nel momento in cui l'individuo non sia stato vaccinato.
 - Difterite.
 - Epatite.
 - Morbillo.
 - Rabbia.
 - Tramite la somministrazione di anticorpi ci si protegge anche dall'effetto del veleno di insetti e di serpenti.
- **VACCINOTERAPIA:** somministrazione di antigeni che possono indurre una immunizzazione che renda possibile una difesa più efficace da parte dell'organismo umano, la vaccinazione ha valore DI PROFILASSI PREVENTIVA.
- **IMMUNOTERAPIA** non viene utilizzata contro malattie infettive, ma è una manipolazione del sistema immunitario utilizzata soprattutto per:
 - limitare la risposta allergica.
 - Incrementare una risposta antitumorale.in questi casi si agisce SU UN PAZIENTE CHE PRESENTA UNA MALATTIA IN ATTO e LA TERAPIA AIUTA A CORREGGERNE LA RISPOSTA IMMUNITARIA.

la VACCINOTERAPIA chiaramente è la forma maggiormente utile a questo proposito in quanto:

- aiuta la risposta all'antigene.
- ha una durata molto prolungata nel tempo.

LA VACCINAZIONE:

l'introduzione dei vaccini è stata fondamentale per ridurre drasticamente l'impatto di alcune malattie molto pericolose quali:

- VAIOLO scomparso completamente, dal 1977 non si hanno rapporti di casi naturali



- di vaiolo.
- POLIOMELITE la cui incidenza è stata ridotta drasticamente tanto che si spera nell'arco di alcuni anni di ottenere la totale scomparsa di questa malattia.
- MORBILLO.
- ROSOLIA.

e molte altre patologie.

L'OBIETTIVO DEL VACCINO:

una politica di prevenzione basata sulla vaccinazione deve PUNTARE ALLA IMMUNIZZAZIONE DI ALMENO IL 90% DELLA POPOLAZIONE, in questo modo:

- la stragrande maggioranza della popolazione risulta immunizzata.
- una parte piccola della popolazione, anche se infetta, non diviene pericolosa in quanto la malattia non si propaga.

FONTI DI VACCINI:

tipiche fonti di immunizzazione, oltre alla infezione spontaneamente debellata ovviamente, sono:

- gli organismi patogeni stessi ATTENUATI di modo che possano generare una infezione subclinica.
- gli organismi patogeni stessi INATTIVATI, uccisi, e quindi incapaci di generare qualsiasi forma di patologia.
- si possono utilizzare antigeni purificati di natura proteica nel tentativo di indurre una risposta che sia più critica il possibile.
- vaccini a DNA che fanno produrre l'antigene alla persona come sorgente continua, potrebbe essere una soluzione meno costosa ma al momento non sono disponibili.

IN ITALIA E IN EUROPA IN GENERALE la politica della vaccinazione ha giocato e gioca tuttora un ruolo fondamentale nel controllo delle malattie, ad oggi esistono e sono somministrate tutti i giorni SOPRATTUTTO VACCINAZIONI OBBLIGATORIE che consentono un controllo ottimale di malattie altrimenti molto pericolose.

- 2 MESI:
 - difterite pertosse tetano DPT
 - poliomelite OPV
- 4 MESI:
 - difterite pertosse tetano
 - poliomelite
- 6 MESI:
 - difterite pertosse tetano
- 15 MESI:
 - morbillo parotite rosolia MMR
- 15-24 MESI:
 - difterite pertosse tetano
 - poliomelite
- 18mesi-5anni:
 - HiB coniugato di hemophilus influenzae di tipo b
- 4-6 ANNI:
 - difterite pertosse tetano
 - poliomelite
 - morbillo parotite rosolia
- 14-16 ANNI:

età	vaccini obbligatori
2mesi	difterite pertosse tetano poliomelite OPV
4mesi	difterite pertosse tetano poliomelite OPV
6mesi	difterite pertosse tetano
15mesi	morbillo parotite rosolia
15-24mesi	difterite pertosse tetano poliomelite OPV
18mesi-5anni	HiB coniugato di hemophilus influenzae B
4-6anni	difterite pertosse tetano poliomelite OPV morbillo parotite rosolia
14-16anni	difterite tetano



si tratta dei migliori vaccini disponibili, un tipico esempio è il vaccino SABIN per la poliomielite la cui efficacia dal punto di vista infettivo è tanto simile al virus reale (eccetto per il neurotropismo ovviamente) che per individui affetti da:

- immunodepressione.
- patologie autoimmuni.

IL VACCINO SABIN È, oggi, **SCONSIGLIATO** e si tende ad utilizzare il vaccino SALK che sfrutta invece il virus morto. Altro rischio notevole associato a questo tipo di vaccinazioni è la retromutazione virale che può divenire pericolosa in quanto il virus riacquisisce le capacità perse con la attenuazione.

GLI ANTIGENI PURI:

l'antigene puro, per quanto ottimo a livello antigenico, non è paragonabile alla azione diretta del virus attenuato; in ogni caso molto utili da questo punto di vista sono:

- le esotossine.
- le proteine canale per esempio.
- proteine a ruolo fondamentale per la sopravvivenza dell'organismo.
- Polisaccaridi, oggi utilizzati per produrre vaccini contro due batteri:
 - emophilus influenzae.
 - meningococco che, come sappiamo, è presente nell'ambiente in più ceppi; oggi esiste un VACCINO TETRAVALENTE che da una immunità contro i ceppi A e C e altri due gruppi rari. Non è stato possibile vaccinare contro il ceppo B in quanto l'antigene polisaccaridico è estremamente simile a quello dei gruppi sanguigni.

I **POLISACCARIDI DI MEMBRANA** sono inoltre spesso **ANTIGENI B DIPENDENTI** e creano uno svantaggio pratico **NOTEVOLE**:

- stimolano solo i linfociti B.
- danno una risposta **UNICAMENTE IN FORMA DI IgM**.
- la memoria per gli antigeni B dipendenti dura molto meno a lungo, di conseguenza un vaccino basato su questo tipo di antigeni necessita di richiami relativamente frequenti, ogni due anni.

È possibile tramite l'aggiunta di peptidi associati all'antigene polisaccaridico garantire anche la attivazione dei linfociti T trasformando un antigene B dipendente in uno T dipendente.

L'ADIUVANTE:

l'adiuvante, una sostanza associata al vaccino, ha due funzioni:

- prolungare la esposizione all'antigene a partire dal sito di inoculazione.
- generare uno stato preattivatorio delle cellule atte a processare l'antigene.

SI UTILIZZANO SPESSO DELLE SOSTANZE OLEOSE O GELLOSE che **ABBIANO QUESTE CAPACITÀ**, per molto tempo si è utilizzato l'**IDROSSIDO DI ALLUMINIO O ALUM** o dei **FOSFATI**, oggi si utilizzano composti prodotti artificialmente ma reperibili in natura come lo squalene¹ tipicamente utilizzato per questo tipo di operazioni. Gli effetti collaterali del vaccino sono, in ogni caso, rarissimi, e si consiglia il vaccino unicamente per evitare complicazioni pericolose.

LE DOSI:

La scelta del dosaggio per una vaccinazione è una scelta complessa e che viene eseguita

1 Tale composto sembrava potesse essere associato ad forme di **POLINEURITE PERIFERICA AUTOIMMUNE** che da forme anche gravi di **DEBOLEZZA MUSCOLARE** a causa di una possibile cross reattività con molecole lipidiche della guaina mielinica. Ad oggi tuttavia numerosi studi hanno escluso **LO SQUALENE DAL PUNTO DI VISTA DELLA ASSOCIAZIONE CON REAZIONI DI QUESTO TIPO**.

unicamente dopo numerosi e diversi test, è infatti fondamentale somministrare:

- una DOSE OTTIMALE iniziale per generare una RISPOSTA PRIMARIA.
- Una DOSE OTTIMALE in un secondo momento per generare una RISPOSTA SECONDARIA.

Le dosi devono essere il più possibile adatte ad indurre una risposta di natura fisiologica, infatti:

- SE LA DOSE INIZIALE È TROPPO BASSA, NON SI AVRÀ UNA RISPOSTA SECONDARIA.
- SE LA DOSE INIZIALE È TROPPO SUPERIORE A QUELLA CORRETTA, NON SI AVRÀ UNA RISPOSTA SECONDARIA.

IN ENTRAMBI I CASI IL SOGGETTO VA INCONTRO AD UN FENOMENO DI TOLLERANZA deleterio dal punto di vista della vaccinazione.

LA MATURAZIONE DELLE CELLULE IMMUNOCOMPETENTI

Nel midollo osseo si trovano numerosissime cellule staminali da cui originano di fatto le quattro linee delle cellule del sangue:

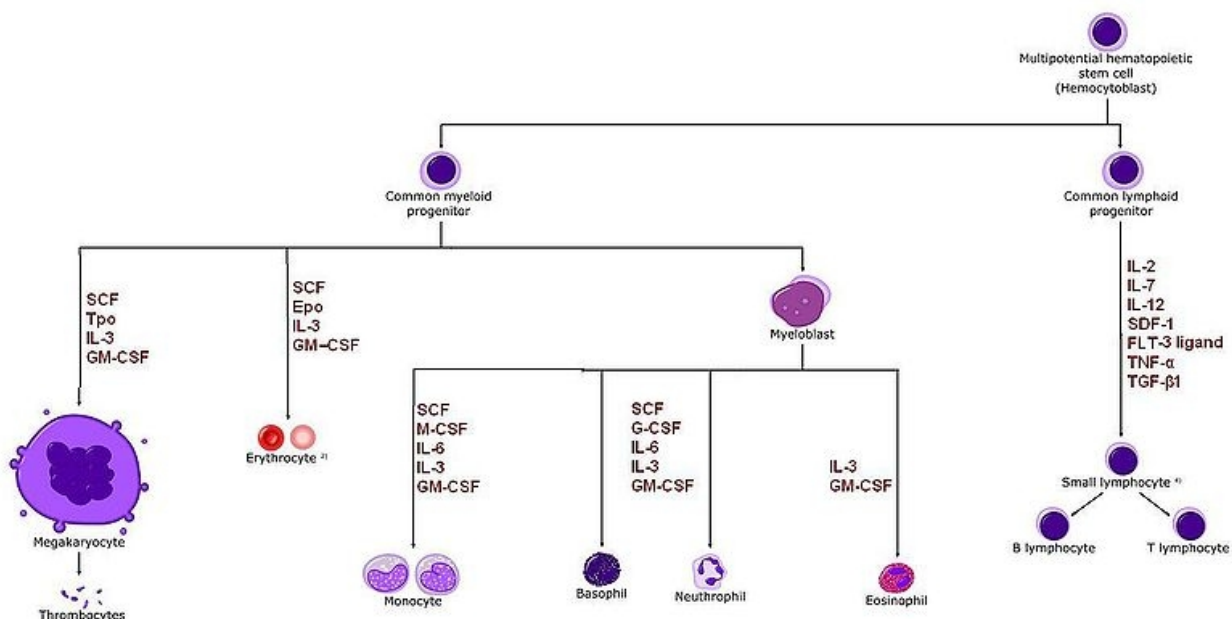
- serie eritroide il cui fattore di crescita LA ERITROPOIETINA, prodotta dal rene.
- serie piastrinica il cui fattore di crescita è la TROMBOPOIETINA.
- serie mieloide i cui fattori di crescita sono i CSF o colony stimulating factors, in particolare:
 - CSF-G per i granulociti.
 - CSF-GM per granulociti e monociti.
- serie linfoide i cui fattori di crescita sono sempre di tipo CSF ma non solo, ricordiamo infatti:
 - CSF.
 - IL3.
 - IL7.

Ricordiamo inoltre il fatto che il RAPPORTO TRA GLOBULI ROSSI E BIANCHI A LIVELLO DEL MIDOLLO OSSEO È INVERSO RISPETTO A QUELLO DEL SANGUE, tale differenza è da imputarsi al diverso tempo di emivita delle cellule del sangue:

- LE CELLULE ROSSE vivono per 120 giorni in circolo.
- LE CELLULE BIANCHE che presentano una emivita molto minore, differente a seconda della tipologia presa in considerazione.

Le necessita produttive relativamente alle linee leucocitarie sono quindi molto maggiori. È infine importante ricordare il fatto che le cellule della linea linfoide si sviluppano in tempi, luoghi e modi differenti:

- I LINFOCITI B maturano unicamente a livello del MIDOLLO OSSEO dal quale filtrano nel sangue già capaci di riconoscere l'antigene e di attivarsi contro di esso.
- I LINFOCITI T che terminano invece i loro processi di maturazione a livello del timo.



LA MATURAZIONE DEI LINFOCITI B:

la maturazione dei linfociti B avviene fundamentalmente a livello del midollo osseo; dal punto di vista clinico la conoscenza degli step di maturazione è estremamente utile nella diagnosi e prognosi di:

- linfomi.
- Immunodeficienze.

In quanto è possibile conoscere con certezza a che stadio si sia bloccato lo sviluppo della cellula B.

IL PERCORSO EVOLUTIVO PROCEDE COME SEGUE:

- **CELLULA STAMINALE** che presenta dei markers, molti dei quali si potranno poi riscontrare in tutte le tappe di maturazione e anche nella cellula funzionante, come il CD19. Attraverso tale marker è possibile riconoscere la cellule linfoide di tipo B già nel suo primissimo stadio.
- **PRO B (progenitor B cell)** che sviluppa:
 - secondo marcatore selettivo, il CD20 sempre **INDIVIDUABILE SULLA MEMBRANA DI TUTTI I LINFOCITI B** anche maturi e circolanti.
 - compare anche il CD40A molecola essenziale di intercomunicazione cellulare.

A questo punto dello sviluppo, chiaramente, tali linfociti non presentano il BCR. Per garantire il processo di evoluzione della cellula B sono essenziali, in questa fase, le cellule stromali del midollo osseo: in assenza di contatto diretto con esse, le cellule PRO B non evolvono ulteriormente. Tali cellule producono inoltre una citochina essenziale, la IL-7, per la proliferazione della cellula B: in particolare la interazione tra un recettore espresso dalla cellula B, cioè c-Kit, interagendo con un recettore posto sulle cellule stromali, cioè SCF (stem cell factor), stimola la esposizione di un recettore per il IL-7 e la evoluzione verso il PRE-B.

- **PRE B (precursor B cell)** in questa fase assistiamo al **RIARRANGIAMENTO GENICO** del **CROMOSOMA 14** necessario alla espressione della catena pesante:
 - comincia il riarrangiamento delle sequenze VDJ.
 - a seguito subiscono processi di ricombinazione anche i frammenti C, in particolare quello codificante per la Ig di classe M.a questo punto è **STATA ORGANIZZATA LA SEQUENZA GENICA DELLA CATENA PESANTE**, questa viene già espressa spontaneamente dalla cellula ed è quindi possibile:

- permeabilizzare la membrana tramite enzimi perforinici.
- far entrare degli anticorpi specifici per la cellula B.
- visualizzare la catena pesante μ nel citosol.

Questo ci consente di individuare con certezza le cellule B e di determinare che sono proprio a questo stadio di sviluppo. Durante questa fase la cellula B non necessita di contatto diretto con le cellule stromali, ma permane essenziale la presenza di IL-7. Durante questa fase la cellula B espone una PRE B cell receptor così costituito:

- la catena pesante μ .
- Due coppie di pepetidi organizzati a formare un surrogato della catena leggera e che ne occupa i siti di legame.

Nel momento in cui tale recettore non venga espresso, la cellula B non procederà oltre nel suo sviluppo.

- **B IMMATURA:** in questa fase si assiste al riarrangiamento necessario alla

produzione delle catene leggere, si formano quindi anche le IgM COMPLETE CHE VENGONO ESPOSTE ANCHE SE IN PICCOLA QUANTITÀ sulla membrana della cellula. Naturalmente anche in questa fase la cellula è in grado di vedere l'antigene, ma se entra in contatto con esso diviene provvisoriamente insensibile alle stimolazioni antigeniche o va incontro ad apoptosi. Tale insensibilità si risolve con la evoluzione della cellula allo stadio successivo.

- **B MATURA:** si distingue dalla precedente in quanto comincia ad esporre una grande quantità di IgM, TIPICO INDICE DI MATURITÀ, E LE IgD la cui sequenza è associata, come noto, ad una medesima sequenza di attivazione rispetto alle IgM.
- **B ATTIVATA** lo sviluppo a questo punto dipende dai fattori attivatori citochinici e antigenici descritti in precedenza.
- B DELLA MEMORIA
- PLASMACELLULA

CLASSI B1 E B2:

esistono nel nostro corpo due tipi di cellule B:

- i linfociti B1 che producono anticorpi naturali, cioè anticorpi che vengono costitutivamente prodotti e secreti in piccole quantità:
 - si sviluppano anche in assenza di antigene.
 - non mutano il loro titolo: sono di solito presenti in quantità costante a bassi livelli, i loro titoli non superano mai 1/32.
 - A livello della loro superficie si trovano pochissime IgD.
 - Si sviluppano prima delle B2, sono presenti già a 2-3 mesi dalla nascita.Questo avviene normalmente per gli anticorpi prodotti contro i gruppi AB0. Si tratta di una popolazione quantitativamente limitata, solo il 5% della popolazione linfocitaria B totale. Tali anticorpi vengono comunque prodotti a prescindere da stimolazioni legate alla vita di relazione: stimolazioni esterne non fanno altro che incrementare un titolo anticorpale costitutivamente prodotto. La funzione di queste immunoglobuline potrebbe essere:
 - costituire una prima linea di difesa rispetto ad antigeni ambientali.
 - Contribuire alla omeostasi del sistema in particolare in relazione alla eliminazione di componenti invecchiate e non più utili.
- i linfociti B2 che producono antigeni di tipo B dipendente o B indipendente:
 - si sviluppano unicamente in presenza dell'antigene.
 - mutano il loro titolo in modo strettamente dipendente dall'antigene stesso.

UNO DEI MARKERS DI SUPERFICIE CHE CARATTERIZZA I LINFOCITI B1 È IL RECETTORE CD5 che:

- compare molto presto nella evoluzione della linea mieloide B.
- scompare con la evoluzione nei linfociti B2.
- permane unicamente nei linfociti B1.

POSSIAMO QUINDI IDENTIFICARE I LINFOCITI B1 IN MODO UNIVOCO, questo è molto importante dal punto di vista clinico soprattutto nelle leucemie linfatiche croniche dove:

- sono coinvolti i linfociti B1.
- Spesso si hanno fenomeni di trombocitopenia autoimmune legata all'attacco da parte di linfociti B1 delle piastrine.

LA SELEZIONE NEGATIVA:

anche le cellule B vanno ovviamente incontro a processi di selezione: normalmente nel midollo osseo murino vengono prodotti $5 \cdot 10^7$ linfociti al giorno, mentre solo $5 \cdot 10^6$, cioè

circa il 10%, lasciano effettivamente il midollo spinale, questo è dovuto al fatto che:

- linfociti B che riconoscono direttamente antigeni di tipo SELF presenti nel midollo osseo vengono eliminati.
- Alcuni linfociti B, che riconoscono nella fase di cellula B immatura antigeni di natura self, vengono bloccati e vanno incontro ad un processo di questo tipo:
 - viene UP REGOLATA la espressione di RAG 1 e 2 FONDAMENTALI PER IL RIARRANGIAMENTO DELLE CATENE LEGGERE.
 - Il linfocita B va incontro ad un altro PROCESSO DI RIARRANGIAMENTO DI UN'ALTRA CATENA LEGGERA, quella presente sul cromosoma non riarrangiato in precedenza.
 - IL LINFOCITA ESPRIME UN NUOVO BCR che PUÒ ESSERE COMPATIBILE CON LA PROSECUZIONE DELLA SUA LINEA CELLULARE.

LE CITOCHINE NELLA MATURAZIONE contribuiscono ai fenomeni di maturazione dei linfociti B, IN PARTICOLARE RICORDIAMO LA IL6 essenziale nel differenziamento dei linfociti B attivati a plasmacellule. Nel mieloma multiplo si riscontra un livello INCREDIBILE DI IL6.

LA MATURAZIONE DELLE CELLULE T:

la maturazione di queste cellule si svolge in modo differente a quanto non avvenga per le cellule B:

- comincia nel midollo osseo in ogni caso, come per tutte le cellule circolanti, a partire da cellule staminali normali sulle quali agiscono fattori di crescita quali:
 - CSF specifica per la linea linfoide.
 - IL3.
 - IL7.
- continua e viene portata a termine a livello DEL TIMO: in questa sede è fondamentale che vi sia un controllo serrato della reattività di queste cellule onde evitare fenomeni di autoimmunità potenzialmente pericolosi.

Il TIMO ha quindi una funzione SELETTIVA rispetto ai linfociti T in fase di maturazione.

IL TIMO:

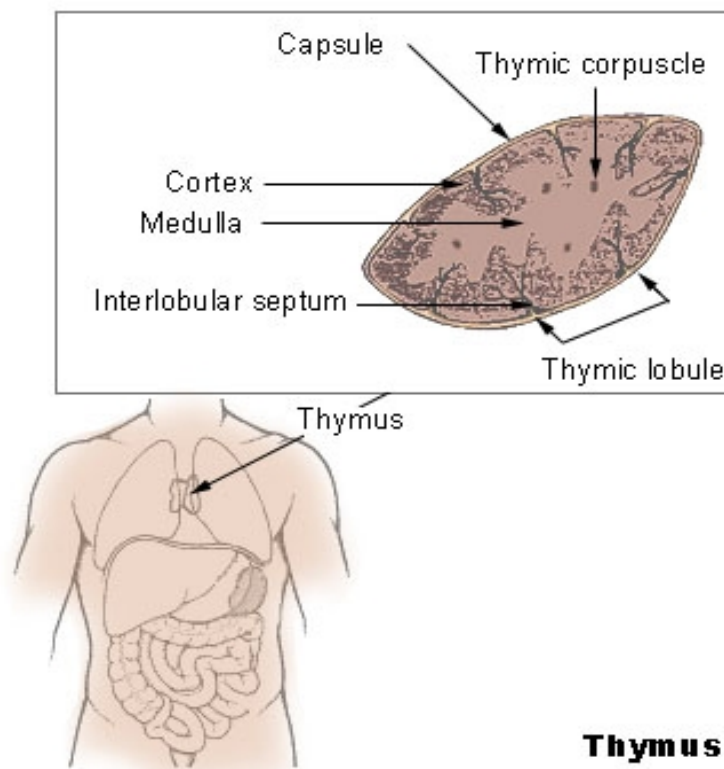
il timo comincia la sua deriva embriologicamente dalla terza tasca faringea che si unisce con la fessura branchiale corrispondente; nell'adulto si tratta di:

- un organo linfoide primario.
- presenta natura LINFOEPITELIALE in quanto alla sua costituzione contribuiscono:
 - ECTODERMA.
 - MESODERMA.
- SI COLLOCA IN POSIZIONE RETROSTERNALE nel MEDIASTINO, in particolare risulta visibile nel neonato tramite quella che viene definita OMBRA TIMICA a livello radiologico: tramite tale ombra è possibile monitorare la grandezza dell'organo nel tempo che sappiamo ipotrofizza nel tempo divenendo intorno ai 10-12 anni decisamente piccolo.
- RISULTA ORGANIZZATO STRUTTURALMENTE IN:
 - CAPSULA ESTERNA che invia all'interno della struttura piena delle TRABECOLE.
 - Una serie DI LOBI tra loro separati dalla presenza delle TRABECOLE appunto. All'interno delle strutture lobari si trovano cellule:
 - clonali.
 - dendritiche.

- epiteliali CHE:
 - si organizzano nella parte corticale dell'organo in modo sparso.
 - una volta cheratinizzate e degradate FORMANO I COSIDDETTI CORPUSCOLI DI HASSAL a forma di cipolla, osservabili nelle parti più midollari dell'organo.Svolgono inoltre un ruolo fondamentale nella formazione della barriera emato-timica.
- analogamente a quanto avviene per i linfonodi possiamo riconoscere:
 - parte periferica.
 - parte centrale.
- Si tratta di una vera e propria ghiandola e come tale produce degli ormoni:
 - timopoiatina.
 - Timulina.
 - Timosina.
 - Fattore timico umorale.

LA CUI FUNZIONE PRINCIPALE È QUELLA DI STIMOLARE LA PRODUZIONE DI LINFOCITI T PRESENTI IN SEDE E DI PASSAGGIO.

le cellule secernenti EPITELIOIDI sono dette, in virtù del loro ruolo, CELLULE NUTRICI.



LA MATURAZIONE DELLE CELLULE T:

Come accennato in precedenza le cellule T maturano in due organi distinti, il midollo osseo e il timo. Queste cellule seguono degli stadi di maturazione estremamente simili a quelli delle cellule B:

- CELLULA STAMINALE.

- PRO T.
- PRE T (DOUBLE NEGATIVE).
- DOUBLE POSITIVE.
- SINGLE POSITIVE.
- NAIVE MATURE T CELL.

MATURAZIONE DELLE CELLULE T A LIVELLO DEL MIDOLLO OSSEO:

la RICOMBINAZIONE GENICA che sta alla base della formazione dei TCR SPECIFICI DI CIASCUN CLONE, È GARANTITA DA PROCESSI DI MATURAZIONE CHE COINVOLGONO ALCUNE MOLECOLE:

- RAG che agisce sul processo di maturazione in particolare nelle fasi tra PRO-T e DOUBLE POSITIVE ed è essenziale per il riarrangiamento delle catene del TCR.
- TdT o terminal desossittransferasi: si tratta di un marker precoce, si sviluppa subito, viene espresso nelle primissime fasi di sviluppo, quelle precedenti alla formazione del PRO-T.

queste molecole assumono una valenza pratica in particolare per comprendere quale sia la deficienza che genera fenomeni leucemici analogamente a quanto avviene per le cellule B. La cellula T nella realtà dei fatti migra già in forma di precursore linfoide comune a livello del TIMO prima cioè di sviluppare TCR, CD8 e CD4; in ogni caso riconosciamo dei MARCATORI DI MEMBRANA, oltre ai due precedentemente citati, possono essere utili a determinare lo stadio di evoluzione della cellula:

- cKIT essenziale per garantire la sensibilità della cellula T a fattori di stimolazione.
- CD25 cioè la catena alfa del recettore per la interleuchina 2.
- CD 44.

LA SELEZIONE TIMICA DEI LINFOCITI T CD4 e T CD8:

Anzitutto ricordiamo che queste cellule si portano al timo attraverso la circolazione sanguifera, e che si associano ad un apposito recettore in particolare tramite molecole di HOMING dette NOTCH. Possiamo distinguere chiaramente due fasi di sviluppo di queste cellule, in particolare:

- inizialmente le cellule T IN FASE DI SVILUPPO si presentano DOPPIAMENTE NEGATIVE: non esprimono né CD4 né CD8.
- A questa fase segue un PERIODO DI DOPPIA POSITIVITÀ durante il quale vengono espressi sia CD4 che CD8: SARÀ L'AZIONE DEL TIMO A DETERMINARE QUALE STRADA PRENDERÀ LA CELLULA T.

la cellula T in arrivo al timo non presenta marcatori specifici noti e una volta giunta a livello del timo stesso staziona in periferia per circa tre settimane; durante tale periodo assistiamo alla esposizione di:

Per quanto riguarda lo sviluppo dei processi di ricombinazione genica ricordiamo che:

- prima si sviluppa la catena BETA che presenta un meccanismo di ricombinazione a tre geni.
- a seguito si sviluppa la catena ALFA che presenta un meccanismo di ricombinazione a due geni.

La sintesi del TCR procede attraverso diverse fasi a partire dal PRO-T fino al T DOUBLE POSITIVE, fondamentalmente possiamo dire che:

- inizialmente si assiste al riarrangiamento genico necessario alla produzione della catena beta.
- Viene espresso un recettore particolare, detto pre-T cell receptor che ha la

funzione fondamentale di:

- indicare che la cellula T necessita di ulteriori stimoli per poter proliferare.
- Sopprime la ricombinazione di altre catene beta portando, di fatto, alla esclusione allelica necessaria alla evoluzione della cellula stessa.
- Rende la cellula pronta per il riarrangiamento dei geni codificanti la catena alfa.
- Induce il passaggio allo stato di DOUBLE POSITIVE.
- Inizia a questo punto una fase di proliferazione caratterizzato dalla attiva produzione delle proteine ricombinanti RAG1 e 2: durante questa fase tuttavia non avvengono processi di ricombinazione in quanto RAG2 viene rapidamente degradata.
- Al termine della fase proliferativa RAG2 diviene stabile nel citoplasma della cellula e la cellula T comincia I PROCESSI DI RICOMBINAZIONE UTILI ALLA PRODUZIONE DELLA CATENA ALFA.

Assistiamo quindi durante questo periodo alla formazione di marker tipici delle cellule T:

- TCR che comincia a comparire allo stadio di DOUBLE POSITIVE.
- CD3 che sappiamo è il coreettore del TCR e compare con esso.
- CD4 e CD8 che si sviluppano allo stadio DOUBLE POSITIVE.

LA SELEZIONE TIMICA:

le cellule che arrivano in questa sede sono potenzialmente attive in quanto presentano già il TCR e tramite esso possono riconoscere fundamentalmente qualsiasi cosa, anche molecole di natura SELF, i processi di selezione sono essenziali proprio ad impedire fenomeni di autoimmunità e portano alla eliminazione del 95% dei linfociti T in arrivo al timo. **DISTINGUIAMO DUE TIPI DI SELEZIONE:**

- **POSITIVA** che lascia vivere i linfociti che riconoscono correttamente l'MHC self, a seguito di questa selezione la popolazione viene molto ridotta: questo tipo di selezione prevede l'interazione tra cellule di tipo T e cellule epiteliali che si trovano in periferia rispetto alla struttura del timo. Si presume che la sopravvivenza delle cellule capaci di interagire correttamente con MHC presenti sulle cellule epiteliali ricevano un segnale di sopravvivenza che le altre cellule non ricevono.
- **NEGATIVA** che uccide i linfociti che reagiscono con gli antigeni self o che riconoscono in modo eccessivo MHC self.

LE CELLULE T CHE DIVERRANNO CD4 POSITIVE INCONTRANO UNA CELLULA DENDRITICA e vengono da essa poste sotto esame:

- DEVONO RICONOSCERE L'MHC DI CLASSE II, in caso contrario vengono uccise.
- DEVONO RICONOSCERE I PEPTIDI SELF ASSOCIATI ALL'MHC DI CLASSE II CON UNA ADEGUATA AFFINITÀ, in caso contrario devono morire. Il sistema di selezione delle cellule T si basa su FENOMENI DI AFFINITÀ con antigeni esposti dalla cellule dendritiche:
 - **AFFINITÀ BASSA:** il linfocita è capace di riconoscere l'MHC di classe II, ma PRESENTA bassa affinità con L'ANTIGENE SELF DA ESSO ESPOSTO: tali cellule potranno quindi essere adeguate al riconoscimento di antigeni not self che l'organismo potrà incontrare.
 - **ALTA AFFINITÀ:** il linfocita riconosce molto bene sia L'MHC DI CLASSE II che L'ANTIGENE SELF; in tal caso la cellula T viene uccisa: in caso contrario genererebbe dei fenomeni di autoimmunità.

LE CELLULE COSÌ SELEZIONATE diverranno LINFOCITI T HELPER e perderanno la capacità di esprimere IL MARCATORE CD8.

LE CELLULE T CHE DIVERRANNO CD8 POSITIVE INCONTRERANNO DELLE CELLULE EPITELIALI che presentano in questa sede funzione di APC, si svolge a seguito di questo incontro un processo di selezione IDENTICO a livello funzionale CON QUELLO DI SELEZIONE DELLE CELLULE B CD4 POSITIVE, ma DIPENDENTE DALL'MHC DI CLASSE I tale per cui vengono eliminate:

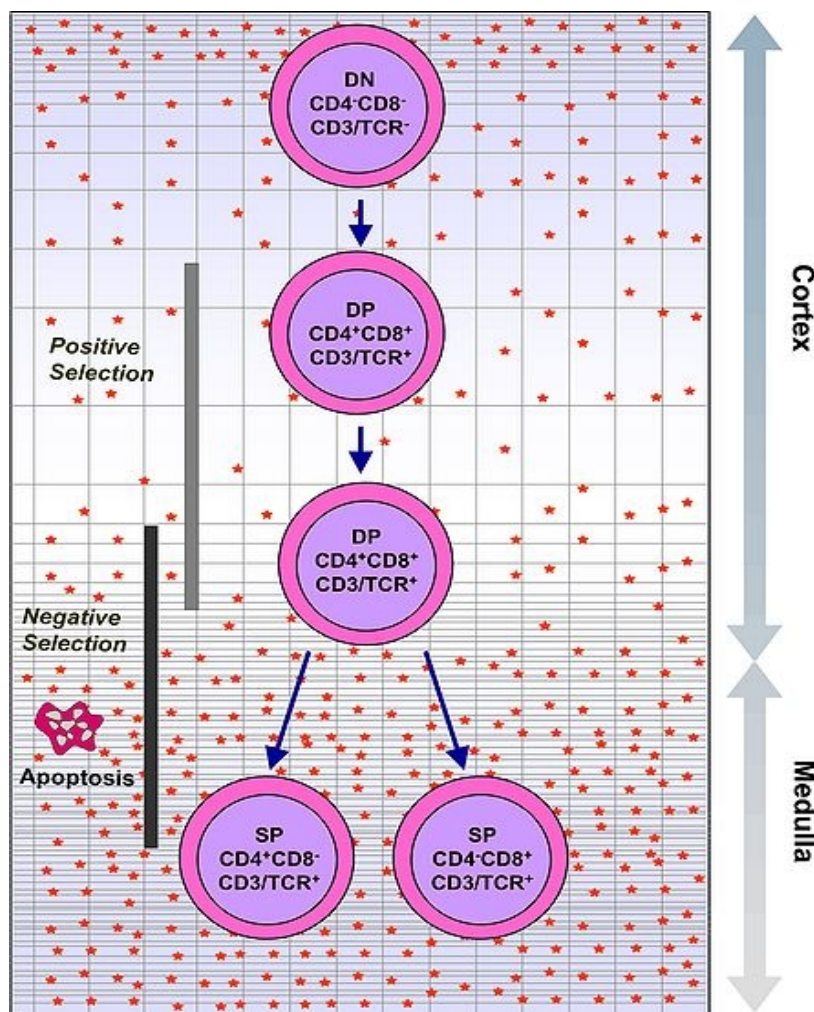
- cellule che non riconoscono l'MHC di tipo I.
- cellule che riconoscono il complesso MHC I-peptide self con una affinità eccessiva.

QUESTO SISTEMA DI SELEZIONE PRESENTA IN OGNI CASO DEI RISCHI:

- non è detto che la selezione sia precisa in modo assoluto.
- è possibile che antigeni poco rappresentati non si trovino, al momento dei processi di evoluzione dei linfociti T, nel timo: si possono quindi sviluppare LINFOCITI T ALTAMENTE SENSIBILI AD ANTIGENI SELF soprattutto a livello periferico. Questo può avvenire per esempio rispetto ad antigeni EPATICI.

sarà quindi sempre e comunque necessario un sistema di controllo di NATURA PERIFERICA la cui deficienza potrà generare forti fenomeni di autoimmunità.

Questi cloni spengono chiaramente l'esposizione del recettore CD4 e mantengono unicamente il recettore CD8 a livello della membrana.



VALUTAZIONE DELLA ATTIVITÀ TIMICA:

possiamo valutare la attività del timo nel corso degli anni monitorando la attività di tale organo per esempio a seguito di trapianto di midollo, quando cioè sarà necessaria una sua riattivazione, valutando le concentrazioni di ormoni di derivazione timica nel sangue.

NEL CORSO DELLA EVOLUZIONE TIMICA DEI LINFOCITI, nel caso in cui giungano molecole antigeniche tramite la placenta e nel caso in cui la concentrazione di tali molecole sia abbastanza alta, è possibile che si generino dei fenomeni di TOLLERANZA in quanto i CLONI CHE RICONOSCONO E REAGISCONO CON TALE PROTEINA ANTIGENICA NOT SELF VENGONO ELIMINATI e non saranno disponibili a seguito dell'invasione da parte del patogeno.

02-IMMUNOPATOLOGIA



LE IMMUNODEFICIENZE

le patologie del sistema immunitario si possono fondamentalmente classificare in due grandi categorie:

- **SVILUPPO ERRATO** o **MANCANTE** di alcune delle componenti che dà vita a fenomeni di IMMUNODEFICIENZA.
- **MAL FUNZIONAMENTO** del sistema immunitario che attacca delle componenti che non devono essere attaccate o che reagisce in modo eccessivamente violento ad antigeni ambientali o non pericolosi.

Le immunodeficienze si possono a loro volta distinguere in:

- **PRIMITIVE** che emergono generalmente in ambito PEDIATRICO, si tratta di patologie legate ad un **MANCATO SVILUPPO DEL SISTEMA IMMUNITARIO**; si tratta di difetti di natura genetica chiaramente.
- **SECONDARIE** si tratta di patologie che emergono con il tempo e sono legate alla presenza di fattori esterni; la causa più comune è sicuramente l'HIV e la patologia ad esso correlata, l'AIDS.

le persone affette da questo tipo di patologie si presentano in clinica con sintomi legati a **INFEZIONI RICORRENTI E GRAVI** accompagnate, a volte, da una notevole **SUSCETTIBILITÀ A TUMORI**¹.

IMMUNODEFICIENZE PRIMITIVE

Fondamentalmente questo tipo di patologie sono legate al mancato sviluppo di alcune componenti del sistema immunitario e la loro gravità è strettamente legata al punto in cui la catena evolutiva si è interrotta. Fondamentalmente possiamo ricordare che:

- una disfunzione che colpisca i primi stadi evolutivi delle cellule staminali precursori delle cellule bianche chiaramente **INFLUIRÀ SU TUTTO IL SISTEMA IMMUNITARIO** sia specifico che aspecifico sia cellulo mediato che anticorpale. Si tratta della peggiore delle ipotesi: questi individui, salvo trattamenti estremamente aggressivi, muoiono in età giovanissima per l'enorme numero di infezioni contratte.
- Disfunzioni selettive per esempio della classe **FAGOCITICA** incrementano nettamente la suscettibilità a infezioni di natura batterica.
- Disfunzioni associate a mancanza di produzione di IgA sono invece associate ad un netto incremento della frequenza di **INFEZIONI URINARIE** e di **INFEZIONI DELL'APPARATO RESPIRATORIO**.
- Disfunzioni delle linee linfoidi possono portare a risultati molto diversi:
 - **DISFUNZIONI DELLE CELLULE B** portano chiaramente ad un calo della **RISPOSTA ANTICORPALE CONTRO I BATTERI**.
 - **DISFUNZIONI DELLE CELLULE T** possono avere conseguenze differenti:
 - **DISFUNZIONI DELLE CTL** decrementano nettamente la risposta contro virus, funghi e patogeni intracellulari in generale.
 - **DISFUNZIONI DELLE T HELPER** finiscono per interessare tutti gli ambiti della risposta immunitaria specifica: la mancata produzione di TH1 e TH2 blocca sia la risposta cellulo mediata sia la risposta anticorpale.

¹ di difficile valutazione in particolare in quanto a lungo termine

LE DIVERSE IMMUNODEFICIENZE PRIMARIE:

possiamo distinguere immunodeficienze primaria molto diverse tra loro:

- DIFETTI A LIVELLO DELLE CELLULE STAMINALI; si parla di DISGENESIA RETICOLARE ma tale patologia risulta visibile unicamente in caso di autopsia sul feto: sono patologie incompatibili con la vita.
- DIFETTI DELLA CLASSE MIELOIDE a livello della quale possiamo riconoscere diverse patologie:
 - DEFICIENZE DELLA MIELOPEROSSIDASI essenziale alla produzione di acqua ossigenata, si tratta di una componente fondamentale per diverse cellule:
 - si tratta di un difetto molto comune.
 - Risulta facilmente riscontrabile: si utilizzano dei substrati per il riconoscimento dei granulociti in particolare specifici per la mieloperossidasi, se i granulociti presenti nel campione non vengono riconosciuti, il paziente è positivo.
 - sono generalmente asintomatiche in quanto esistono diversi altri circuiti difensivi che possono supplire a tale deficienza.
 - LAD leucocyte adhesion deficiency: si tratta di patologie legate al mancato passaggio delle cellule bianche attraverso la barriera endoteliale; possono essere associate a diverse disfunzioni molecolari:
 - ROLLING: in particolare interessa la proteina LEWIS X, si tratta di quella proteina che si lega all'endotelio in particolare alle selectine P e B. DEFICIENZE DI QUESTO TIPO PROVOCANO UNA LAD II.
 - SPREADING in particolare in relazione a molecole quali CD11/CD18 (CR3) delle cellule leucocitarie; in questo caso molto spesso manca la CATENA BETA e i granulociti non riescono a oltrepassare l'endotelio. si parla di LAD I in questo caso.

IN OGNI CASO TALI PAZIENTI:

- sono soggetti a infezioni frequenti e presentano una grande quantità di ascessi e simili.
- Dopo la nascita normalmente il funicolo ombelicale va incontro a NECROSI e si degrada: la mancanza di tale fenomeno è strettamente associata ad un netto incremento del rischio che il paziente sia affetto da LAD I.
- CHEDIAK HIGASHI SINDROME, si tratta di una patologia per cui si assiste a:
 - formazione di complessi lisosomiali enormi che non funzionano correttamente.
 - deformazione dei granuli dei granulociti che non funzionano bene.
 - deficienze delle cellule NK.Tale patologia è correlata alla deficienza di una proteina, detta LYST coinvolta nei meccanismi di traffico vescicolare intracellulare. Oltre ad un incremento della suscettibilità ad infezioni, si assiste ad un parziale albinismo oculare e cutaneo.
- CHRONIC GRANULOMATOUS DISEASES o CGD: si tratta di una patologia grave che si manifesta con:
 - ascessi distribuiti purulenti nella cute, nel tessuto nervoso e non solo.
 - Granulomi.

QUESTI INDIVIDUI NON SONO CAPACI DI UTILIZZARE I METODI DI UCCISIONE O₂ DIPENDENTE in quanto risulta difettosa la NADPH OSSIGENASI essenziale nella

formazione dei mediatori della via ossigeno dipendente, tali pazienti vanno incontro a patologie causate da:

- funghi soprattutto le candide.
- Batteri.

Alcuni batteri CATALASI POSITIVI, capaci cioè di degradare attivamente l'acqua ossigenata, non incrementano il loro livello di patogenicità.

A livello genetico si distinguono due forme differenti:

- X LINKED relativa a circa il 70% dei pazienti affetti.
- AUTOSOMICA RECESSIVA relativa al restante 30%.

generalmente granulociti e macrofagi, oltre a non attaccare l'antigene in modo efficace, perdono anche parte della loro capacità di presentarlo.

Questi pazienti non sopravvivono generalmente oltre i 20-25 anni.

- DIFETTI DELLA LINEA LINFOIDE: questo tipo di difetti può coinvolgere le fasi precedenti o successive alla divisione tra T e B; i più comuni e preoccupanti coinvolgono entrambe le categorie:

- PATOLOGIE DELLA LINEA LINFOIDE GENERALE: tali patologie sono dette SCID cioè severe combined immunodeficiency; si manifestano in questo modo:

- già al primo anno di vita cominciano a manifestarsi infezioni virali.
- la deficienza dei linfociti B non emerge inizialmente per la presenza di anticorpi materni di derivazione TRANSPLACENTARE prima e TRAMITE IL LATTE MATERNO poi.
- queste patologie coinvolgono fundamentalmente molecole coinvolte in entrambe le linee evolutive.
- Queste patologie non influiscono sullo sviluppo di altri tipi di linee, come le linee mieloidi ed eritroidi.

tali patologie sono spesso identificabili tramite tecniche genetiche apposite, in particolare; distinguiamo in particolare:

- DEFICIT DI RAG proteine di ricombinazione genica.
- MANCANZA DI ADA adenosina deaminasi: si tratta dell'enzima che normalmente si occupa dello smaltimento della adenosina, la sua mancanza provoca un incremento della adenosina che porta alla morte della cellula.
- mancanza di PNP fosforilasi nucleosidica purinica enzima fondamentale per catalizzare la trasformazione della INOSINA ad IPOXANTINA; l'accumulo conseguente di inosina provoca la morte della cellula.
- mancanza di un componente recettoriale DELLA IL2: queste deficienze interessano in particolare le catene BETA E GAMMA, componenti costitutive di tale recettore. LA MANCANZA DELLA CATENA GAMMA è probabilmente la RAGIONE PIÙ COMUNE DI SCID IN ASSOLUTO; la mancanza di tale recettore coinvolge chiaramente:
 - CELLULE NK.
 - CELLULE B.
 - CELLULE T.

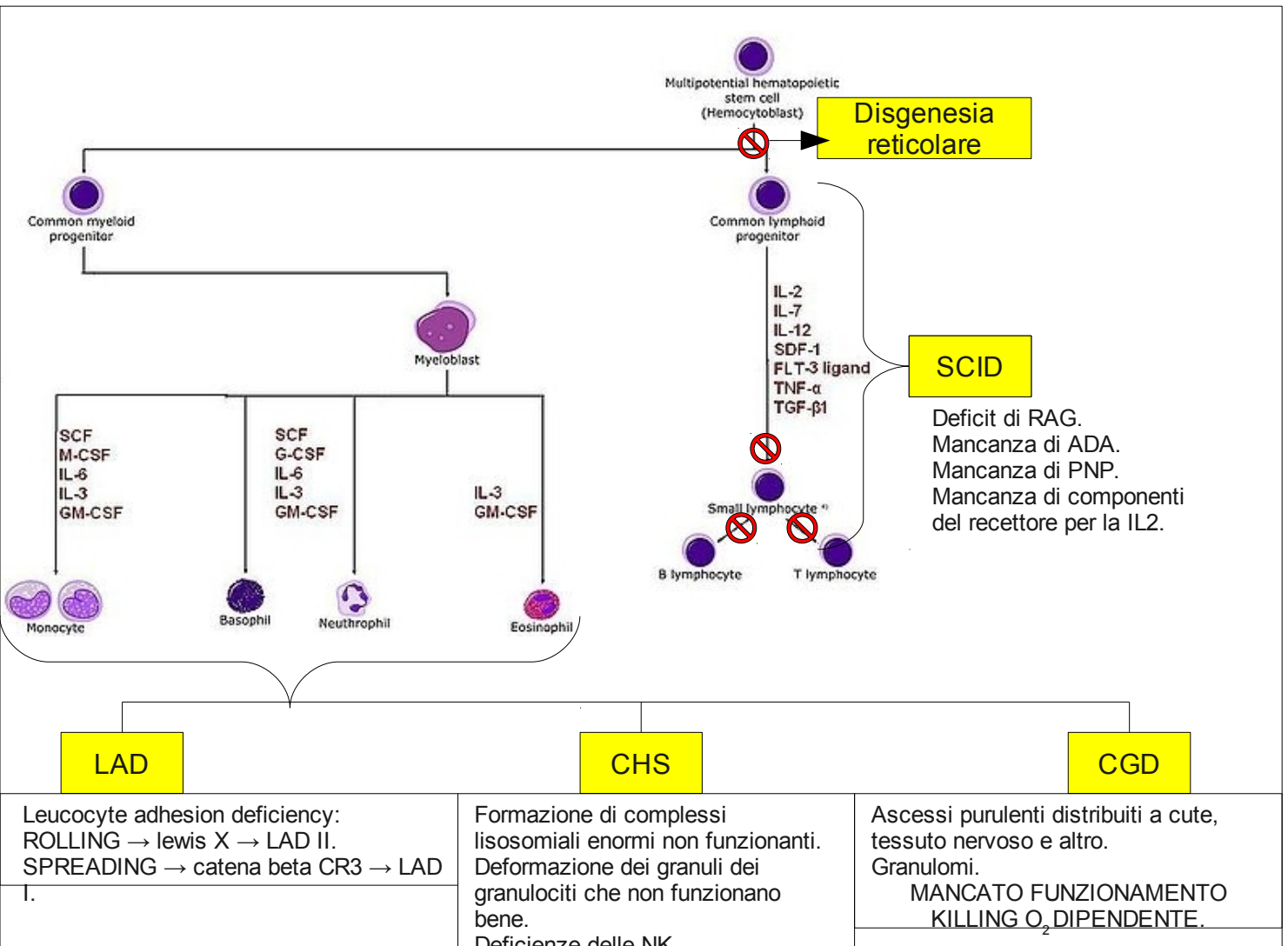
questi pazienti sono affetti da sintomi gravissimi a livello infettivo, i trattamenti possono essere due:

- TRAPIANTO DI MIDOLLO.
- TERAPIA GENICA in particolare al S Raffaele di Milano si sono fatti degli esperimenti clinici di grande importanza.

- **PATOLOGIE DELLA LINEA LINFOIDE B**; generalmente si tratta di patologie associate ad iper o ipo produzione di una delle singole classi di immunoglobuline. Ricordiamo in particolare agammaglobulinemie quali:
 - **SINDROME DI BRUTON** legata al sesso, si tratta di un quadro precoce per cui le cellule B **NON PRODUCONO IMMUNOGLOBULINE DI MEMBRANA**.
 - **SINDROME COMUNE VARIABILE** per cui non vengono prodotte immunoglobuline solubili, ma il linfocita presenta in questo caso immunoglobuline di membrana. Tale sindrome presenta una trasmissione autosomica recessiva.

Anche in questo caso l'unica terapia possibile è il trapianto di midollo. Per individui di questo tipo è possibile eseguire trasfusioni terapeutiche senza necessariamente prestare attenzione al gruppo AB0.

Altra patologia della linea linfoide B è **IL DIFETTO SELETTIVO DELLE IgA**: a livello clinico ricordiamo che individui politrasfusi presentano un elevato rischio a seguito di numerose trasfusioni, di andare incontro a shock infiammatorio legato alla produzione di immunoglobuline anti IgA.
- **PATOLOGIE DELLA LINEA LINFOIDE T** generalmente non sussistono da sole: i linfociti T presentano un ruolo fondamentale nello stimolare lo sviluppo dei linfociti B



.IMMUNODEFICIENZE SECONDARIE:

Tra le immunodeficienze secondarie più comuni e rappresentative sicuramente ricordiamo l'AIDS: L'AIDS o sindrome da immunodeficienza acquisita è il risultato della infezione da parte del virus HIV. Tale virus ha la capacità di associarsi alle cellule linfocitarie T tramite:

- GP120.
- GP41.

il virus tende a permanere in forma DORMIENTE nella cellula che infetta, a seguito della infezione può essere espresso per riattivazione della cellula infetta stessa:

- IL VIRUS SI ASSOCIA AL RECETTORE CD4 è una molecola composta di:
 - quattro domini immunoglobulinici.
 - il cui sito più esterno è la sede di legame dell'HIV.
- IL VIRUS NECESSITA DI UN CORECETTORE oltre al recettore CD4: SI TRATTA DI UN RECETTORE CHEMOCHINICO², si tratta di un recettore chemiotattico fondamentale. Le chemochine principali sono classificabili, sulla base della presenza di cisteine nelle loro sequenze amminoacidiche, in due grandi categorie:
 - CXC nel momento in cui tra le due cisteine vi sia un altro amminoacido; si tratta di una serie di chemochine che agiscono sui mononucleati come i LINFOCITI.
 - CC nel momento in cui a livello della struttura siano presenti in sequenza due cisteine: un esempio è la IL8 essenziale per la proliferazione dei MONOCITI.

La classe coinvolta nella adesione del virus è quindi IL RECETTORE DELLE CHEMOCHINE CXC in particolare CXC R4.

- sappiamo inoltre che IL VIRUS PUÒ PENETRARE NELLE STRUTTURE CELLULARI TRAMITE DIVERSI TIPI DI MOLECOLE ESPOSTE SU CELLULE DIVERSE in quanto, mutando, può EVOLVERE FORME DI TROPISMO DIFFERENTI. Queste mutazioni di tropismo consentono al virus di sfruttare recettori chemochinici differenti rispetto a CXC R4:
 - il virus M-TROPO per esempio acquisisce la capacità di esprimere un ligando per la CHEMOCHINA CCR5.
 - Il virus D-TROPO acquisisce la capacità di aggredire le cellule DENDRITICHE. Tali mutazioni possono verificarsi anche nel corso di una malattia in atto per cui L'HIV diviene capace di infettare cellule differenti.

Per quanto riguarda la proliferazione del virus, è importante sottolineare il fatto che:

- i virus T compatibili hanno la capacità di REPLICARSI.
- i virus M e D TROPICI insediati in cellule differenti dalle cellule T CD4:
 - NON HANNO CAPACITÀ DI REPLICAZIONE paragonabile a quella che presenterebbero in una cellula T.
 - Danno da sedi cellulari differenti dai linfociti CD4 fenomeni di SPREADING.

Durante l'infezione fondamentale il virus penetra nelle diverse cellule soprattutto a livello delle strutture LINFONODALI che divengono un punto notevole di accumulo. Per quanto riguarda la risposta anticorpale ricordiamo che:

- la prima risposta anticorpale contro il virus è piuttosto inefficace.
- Il virus presenta inoltre la capacità di penetrare attraverso processi di opsonizzazione-fagocitosi, di conseguenza la presenza di:
 - complemento.

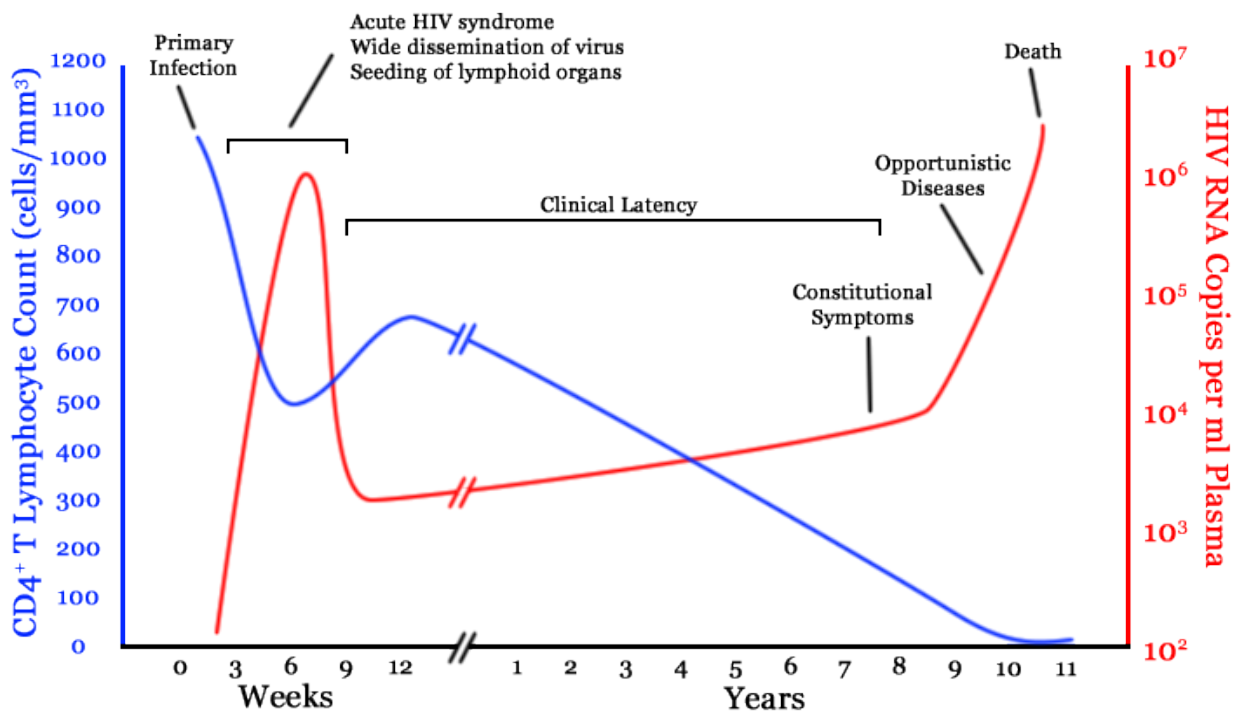
2 in presenza di chemochine il virus non si lega.

- Anticorpi.

Ha una azione fortemente facilitante la propagazione virale.

L'AIDS si sviluppa con una fase di latenza straordinariamente lunga durante la quale il virus si propaga nell'organismo ospite; le cellule T helper scendono da $1300/\text{mm}^3$ a $400-500/\text{mm}^3$, concentrazione a livello della quale compaiono i primi sintomi di AIDS conclamato, in particolare le prime infezioni opportunistiche:

- CANDIDA ALBICANS.
- VIRUS ERPETICI come il CITOMEGALOVIRUS.
- MYCOBATTERI ATIPICI capaci di dare infezioni tubercolari o simili come il mycobacterium avium intracellulare.
- LINFOMI in particolare delle cellule T.



è importante sottolineare in ogni caso che le patologie da patogeni occasionali tipiche dell'HIV non sono trasmissibili ai pazienti sani; viceversa un paziente malato è estremamente pericoloso per l'immunodepresso affetto da AIDS.

Dal punto di vista citopatico ricordiamo che:

1. sembra che anche un virus non integrato nel genoma della cellula ospite possa avere un effetto citopatico.
2. Sembra che l'entrata del virus nella cellula ospite riduca l'espressione di CD4 e inattivi di conseguenza la cellula.
3. La molecola GP120 espressa dal virus associandosi a CD4 invia uno stimolo apoptotico al linfocita stesso.
4. Le cellule T infettate non raggiungono la completa maturità.
5. Nel momento in cui vengono rilasciate forme solubili di GP120 queste, associandosi a CD4, possono provocare la morte della cellula a causa della risposta citotossica che l'organismo monta contro tale complesso antigenico.
6. Gli anticorpi prodotti contro GP120 possono andare ad agire contro GLI MHC DI CLASSE II.

L'AZIONE DEL VIRUS SUI LINFOCITI B:

L'azione di questo patogeno sui linfociti B e sulla produzione di anticorpi è piuttosto particolare:

- **INIZIALMENTE** si assiste ad una **IPERGAMMAGLOBULINEMIA** legata prevalentemente ad una riattivazione di virus latenti come l'Epsteinn Barr virus o altri virus dotati di latenza; il medesimo fenomeno può essere legato alla attività della LPS.
- **A SEGUITO DELLE AZIONI COMPIUTE DAL VIRUS** si assiste chiaramente ad un calo della produzione di IL2, mediatore fondamentale della risposta anticorpale: di conseguenza anche se le cellule B sono presenti nel sangue in concentrazioni normali, come avviene in una prima fase della patologia, la attività anticorpale stessa risulta ridotta.
- **CON IL TEMPO** cala anche il numero dei linfociti B circolanti e non solo la loro attività, di conseguenza la risposta immunitaria cala in modo estremamente considerevole.

Gli anticorpi prodotti contro il virus sono fondamentalmente inutili dal punto di vista immunitario, anzi, come si accennava in precedenza, favoriscono la propagazione virale in cellule NON T. Non è ancora chiaro il motivo, ma alcuni individui presentano una siero protezione contro l'HIV e sono di conseguenza immuni dalle infezioni di questo virus.

IL MONITORAGGIO DELLA PATOLOGIA:

oltre a tutti i test specifici eseguiti in relazione alla attività virale, è possibile valutare la concentrazione di linfociti T presenti:

- **IL NUMERO ASSOLUTO** è molto indicativo chiaramente.
- **IL RAPPORTO** presenta una valenza relativa, le ragioni di una variazione di rapporti tra linfociti CD4 e CD8 possono essere infatti molto diverse.

LA TERAPIA HAART:

si tratta di una terapia combinata di diversi farmaci, in particolare si parla di **HIGHLY ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY**; si tratta dell'unica terapia capace di risollevare il numero di linfociti T circolanti, in particolare prevede l'utilizzo di:

- **2 INIBITORI DELLA TRASCRIPTASI INVERSA.**
- **ALCUNI FARMACI INIBITORI DELLE PROTEASI virali** essenziali alla replicazione del virus stesso.

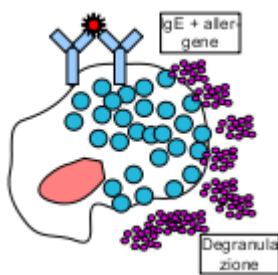
LE REAZIONI DI IPERSENSIBILITÀ

Le reazioni di ipersensibilità sono reazioni caratterizzate da un'eccessiva risposta immunitaria ad un antigene, i diversi tipi di reazioni in questione vennero classificati da COMBES e GELL in quattro modelli fondamentali differenti tra loro per la eziologia della reazione:

- REAZIONI DI PRIMO TIPO si tratta di una ipersensibilità mediata da ANTICORPI e in particolare dalle IgE: si tratta di immunoglobuline essenziali contro le invasioni parassitarie e tramite appositi recettori sono capaci di ATTIVARE EOSINOFILI E MASTOCITI.
- REAZIONI DI SECONDO TIPO mediate ancora da anticorpi che in questo caso sono rivolti contro antigeni di natura CORPUSCOLATA.
- REAZIONI DI TERZO TIPO anche in questo caso l'eziologia è anticorpale: gli anticorpi si complessano ad antigeni solubili formando dei piccoli immunocomplessi che non vengono smaltiti correttamente.
- REAZIONI DI QUARTO TIPO: mediate in questo caso da CELLULE T la cui azione si estrinseca in una azione citotossica e chemiotattica molto significativa.

IPERSENSIBILITÀ DI PRIMO TIPO:

si tratta di una ipersensibilità estremamente comune nel mondo occidentale, circa il 25% della popolazione ne soffre; si parla di ATOPIA cioè di predisposizione genetica a sviluppare sintomi quali:



- febbre.
 - Orticaria: chiazze rossastre sollevate ripiene di liquido e pruriginose.
 - Congiuntivite.
 - Rinite.
 - Asma: broncospasmo a livello bronchiale o bronchiolare, gli alveoli non vengono mai colpiti da questo tipo di manifestazioni.
- Angioedema; tipiche manifestazioni sono:
 - angioedema di Quincke a livello palpebrale.
 - Labbra.
 - Prime vie aeree, in particolare l'area della glottide: il paziente rischia la morte per asfissia.
 - seni nasali e paranasali.
 - Mucosa intestinale.

a seguito di contatto con antigeni ambientali detti allergeni. Il quadro più comune viene detto SOA sindrome orticaria-angioedema: si distingue per la presenza di piccole lesioni ripiene di liquido ed estremamente pruriginose:

- le vescicole, di colore biancastro per la tensione cutanea che l'accumulo di liquido genera, sono dette POMFI.
- La lesione è inoltre, per la stimolazione di fibre nervose periferica, particolarmente PRUGINOSA.

Riveste un ruolo fondamentale anche lo SHOCK ANAFILATTICO , reazione estremamente grave caratterizzata da ipotensione, bradicardia e pallore.



Eritema a livello dell'arto inferiore e angioedema al volto.

immagine tratta da wikipedia
immagine tratta da wikipedia



È importante sottolineare che diverse specie animali reagiscono in modo differente alla esposizione ad allergeni:

- le cavie presentano una sintomatologia molto simile a quella umana: UN BRONCOSPASMO CHE DIVIENE LETALE IN POCHISSIMO TEMPO; sono le cavie animali in assoluto più utilizzate per questo tipo di studi.
- Il cane subisce un rapido attacco cardiaco.
- Nel coniglio la vena sovraepatica è l'organo maggiormente colpito e la sua lesione provoca una serie di sanguinamenti intestinali.

L'ANGIOEDEMA:

si tratta di una reazione che si verifica non solo in associazione a reazione di primo tipo, ma anche UN DIFETTO EREDITARIO DEL COMPLEMENTO DETTO ANGIOEDEMA EREDITARIO, i due casi si possono distinguere grazie a:

- anamnesi.
- esami legati alla iperreattività:
 - INCREMENTO DEGLI EOSINOFILI.
 - INCREMENTO DELLE IgE specifiche valutabile tramite RAST.Che risultano positivi unicamente nell'individuo iperresponsivo.
- PRICK TEST che analogamente ai precedenti è positivo unicamente per l'individuo iperresponsivo.
- esami legati alla attività del COMPLEMENTO EVENTUALMENTE.

GLI ALLERGENI:

gli antigeni capaci di scatenare questo tipo di risposta sono comunemente presenti nell'ambiente e tutti gli individui ne risultano esposti, la BASE DELLA INCREMENTATA RISPOSTA AD UN DATO ALLERGENE È DI NATURA GENETICA. Tipici allergeni ambientali sono:

- POLLINI soprattutto di graminacee, betulle, olivi e cipressi.
- PRODOTTI ANIMALI generalmente il pelo ma non solo.
- ACARI in particolare possiamo distinguere due categorie di acari coinvolti in questo tipo di manifestazioni:
 - DERMATOFAGOIDE allergene estremamente comune e tipicamente responsabile delle allergie alla polvere.

- FARINAE allergene che vive in particolare nella farina del grano, spesso responsabile di malattie del lavoro anche molto gravi.
- ALIMENTI, soprattutto:
 - UOVO
 - FRUTTI DI MARE.
 - LATTE.
 - FRUTTA.
 - VERDURA.

Una lieve sindrome orale allergica si manifesta come un prurito orale a seguito della assunzione di uno specifico alimento.

- FARMACI e si parla in questo caso di PATOLOGIE IATROGENE; sicuramente tra i casi più comuni ricordiamo alcuni antibiotici tra cui GLI ANELLI DELLE CEFALOSPORINE: l'allergene è l'anello caratteristico dei beta lattamici.
- VELENI DI INSETTI PUNGITORI: molto pericolosi in quanto strettamente associati a SHOCK ANAFILATTICO.

Gli allergeni sono degli antigeni T dipendenti, di conseguenza provocano in tutti gli individui una reazione immunitaria che varia in modo e intensità; in particolare:

- I NON ATOPICI a seguito della elaborazione degli antigeni da parte delle APC producono prima IgM e poi IgG.
- GLI ATOPICI producono invece unicamente IgE, mediatori fondamentali di questo tipo di reazioni.

È possibile valutare la prevalenza delle cellule Th2, essenziali per montare la risposta anticorpale, in relazione alla esposizione ad un allergene, pazienti normali presenteranno elevati livelli di Th2 e di conseguenza elevati livelli di citochine ad essi associate: si valutano generalmente IL4 e IL13.

LE IMMUNOGLOBULINE IgE:

a differenza delle IgG le IgE:

- sono presenti in concentrazioni ematiche differenti, in particolare:
 - nei pazienti NON ATOPICI si misurano nell'ordine di 80-100 UI.
 - Nei pazienti ATOPICI raggiungono livelli anche di 500UI.Dove 1UI=2,4ng.
- Presentano un peso molecolare lievemente maggiore per la presenza di:
 - una maggiore quantità di GLUCIDI STRUTTURALI che incrementano la citofilia della molecola proteica.
 - Un segmento aggiuntivo detto CH4.
- Presentano una emivita decisamente inferiore rispetto alle IgG: le IgE hanno una emivita di circa 3 giorni mentre le IgG di 21.
- le IgE inoltre sono estremamente labili, dopo poco tempo perdono la loro capacità di legarsi con l'antigene.

L'ANAFILASSI CUTANEA PASSIVA:

si tratta di una procedura che prevede l'iniezione endovenosa di un antigene associato ad un colorante che si associa alla albumina; l'incontro antigene-anticorpo forma un complesso la cui presenza stimola la formazione di un ANGIOEDEMA RICCO DI COLORANTE. Generalmente si utilizza il BLUE EVANS.

AZIONE DELLE IgE:

queste immunoglobuline si associano a:

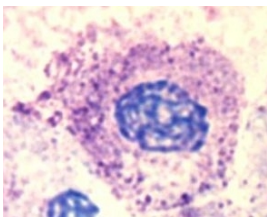
- mastcellule e basofili: si tratta di cellule presenti principalmente a livello tissutale, ma non solo, sono i principali responsabili delle reazioni mediate da IgE.
- Eosinofili che stimolati in tali situazioni possono arrivare a costituire il 10% della totale popolazione leucocitaria.
- Anche altre sedi possono essere interessate, in particolare macrofagi, cellule B e T e monociti.

Queste immunoglobuline agiscono chiaramente una volta associate a specifici recettori, in particolare si parla di FcεR; distinguiamo due recettori di questo tipo:

- FcεRI ad alta affinità: strutturalmente simile al complesso TCR CD3 risulta caratterizzato da:
 - una catena principale ALFA con domini di tipo immunoglobulinico che nello specifico lega il frammento Fc delle immunoglobuline.
 - Una catena secondaria BETA caratterizzata dalla presenza di 4 segmenti transmembrana.
 - Due catene gamma caratterizzate dalla presenza di un grande dominio intracitoplasmatico essenziale alla trasduzione del segnale.
- FcεRII a bassa affinità: risulta costituito di una sola catena suddivisa in diverse subunità, un dominio lectinico risulta di particolare importanza. Tale recettore, entrato in contatto con le IgE va incontro ad autodigestione enzimatica e i frammenti da esso ricavati vanno a potenziare la risposta anticorpale in forma di IgE dei linfociti B.

LE MASTOCELLULE:

queste cellule svolgono la loro fondamentale funzione semplicemente esocitando granuli presenti a livello citoplasmatico, in particolare distinguiamo:



- MASTCELLULE CONNETTIVALI caratterizzate da:

- una vita molto lunga, di 40 giorni circa.
- Una quantità di recettori per i frammenti Fc delle IgE valutabili nell'ordine di $3 \cdot 10^4$.

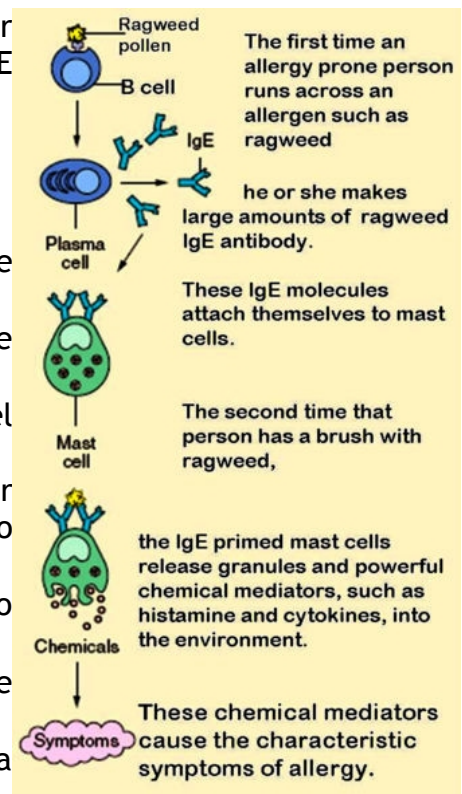
- presentano un elevato contenuto in istamina.

- MASTCELLULE MUCOSALI:

- vita di minore durata, inferiore ai 40 giorni.
- Una enorme quantità di recettori per le Fc delle IgE: $25 \cdot 10^5$.
- contenuto in istamina inferiore rispetto alle mastcellule connettivali.
- Presentano uno stretto controllo da parte del sistema immunitario Th2.

Le mastcellule contengono principalmente recettore per gli Fc delle IgE ad elevata affinità, di tipo I quindi e la loro presenza fa sì che la RISPOSTA SIA IMMEDIATA:

- le IgE si associano al loro antigene e cross linkano tra loro.
- I recettori per le IgE presenti sulla superficie cellulare clusterizzano.
- Una grande quantità di IgE si associano alla



membrana delle mastocellule.

Il medesimo fenomeno si estrinseca nel momento in cui si utilizzino anticorpi anti IgE o sostanze in grado di reagire con esse.

ALTRI FATTORI CHE POSSONO PROVOCARE LA DEGRANULAZIONE DELLE MASTCELLULE:

le mastcellule sono estremamente sensibili a stimoli di natura molto differente:

- freddo e caldo.
- Modificazioni di osmolarità delle vie bronchiali: questo si verifica soprattutto nel soggetto asmatico che fa sport.
- La presenza di frammenti del complemento, soprattutto C3a per cui possiedono uno specifico recettore.
- L'ingresso di calcio a livello intracellulare.
- Alcuni anestetici come la morfina o la D tubocurarina.
- Mezzi di contrasto iodati.

Alcuni individui sono particolarmente pronti a fenomeni di degranulazione anche a seguito di stimolazioni cutanee di minima entità: tale fenomeno viene detto dermatografia e si osserva in questi soggetti una lieve reazione eritemica anche a seguito di stimolazioni tattili di minima entità.

LA DEGRANULAZIONE DELLE MAST CELLULE:

si tratta di un processo che interessa diversi mediatori enzimatici e che si sviluppa in tempi rapidissimi, in particolare:

- si attiva la PTK (protein tirosin chinasi) la cui azione attiva la FOSFOLIPASI C che attiva la via DAG-IP3: a seguito di tale attivazione si assiste ad UN INCREMENTO INTRACITOPLASMATICO DI CALCIO che provoca UNA RIORGANIZZAZIONE GENERALE DEL CITOSCHELETRO, essenziale alla degranulazione.
- si attiva la adenilato ciclasi e si assiste ad un INCREMENTO DELLE CONCENTRAZIONI INTRACITOPLASMATICHE DI AMP ciclico; a seguito di tale attivazione una protein chinasi risulta stimolata che indirizza I GRANULI LUNGO I BINARI ACTOMIOSINICI PRECEDENTEMENTE ORGANIZZATI. Eseguite queste operazioni si assiste ad un REPENTINO CALO DELLE CONCENTRAZIONI INTRACITOPLASMATICHE DI AMP ciclico: tale calo è fondamentale a dare il definitivo avvio alla degranulazione delle mastocellule.
- Parallelamente a tutto questo si attivano anche:
 - fosfolipasi A2.
 - Metiltransferasi.

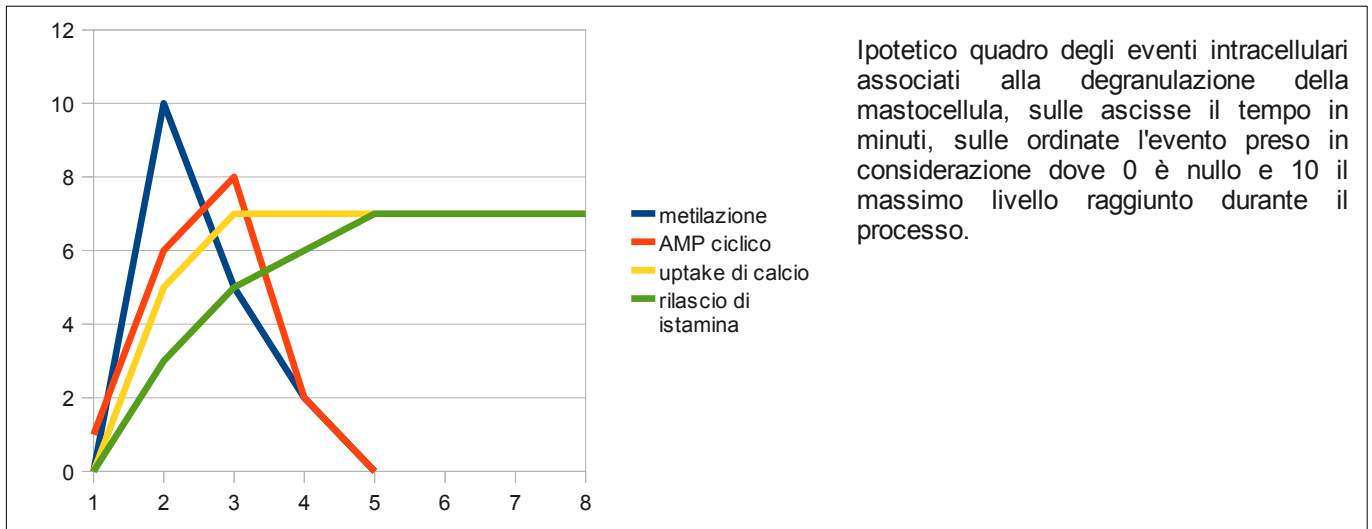
La fosfolipasi A2 degrada la fosfatidil colina di membrana a molecole lipidiche, come l'acido arachidonico, utilizzabili nella sintesi di mediatori prostaglandinici. L'acido arachidonico neoprodotto diviene substrato di:

- CICLOOSSIGENASI producendo in particolare TROMBOSSANI E PROSTAGLANDINE.
- LIPOOSSIGENASI producendo in particolare LEUCOTRIENI.

Queste attività contribuiscono alla formazione di SRS-A ovvero slow reacting substance of anaphylaxis, si tratta di un complesso di leucotrieni:

- LTC4.
- LTD4.
- LTE4.

Parallelamente assistiamo anche alla formazione di LYSO PAF che può divenire a seguito di ulteriori elaborazioni PAF.



Le molecole secrete si dividono quindi in PRODOTTI NEOFORMATI E PRODOTTI PREFORMATI, in particolare:

- **PRODOTTI PREFORMATI** sono:
 - istamina che **INCREMENTA LA PERMEABILITÀ CAPILLARE** stimolando la formazione di angioedemi.
 - eparina il cui ruolo metabolico non è completamente chiaro, sappiamo che risulta per ragioni elettrostatiche, risulta carica negativamente, associata alla istamina, carica invece positivamente. In presenza di calcio la eparina si stacca dalla istamina e risulta possibile utilizzare il complesso calceparina come un misuratore della reazione anafilattica.
 - Triptasi: si tratta di un enzima estremamente pericoloso che provoca una grande quantità di danni sia ai tessuti che ai microbi.
 - Serotonina anche se nell'uomo in quantità relativamente limitate.
- **PRODOTTI NEOSINTETIZZATI** sono invece:
 - leucotrieni a formare la SRS-A la cui azione si manifesta:
 - sindrome asmatica da broncosotrisione della muscolatura liscia.
 - Broncosecrezione.
 - Incremento della permeabilità vascolare.
 - PAF che presenta diverse funzioni:
 - chemiotassi e attivazione leucocitaria.
 - Broncocostrizione.
 - Incremento della permeabilità vascolare.
 - **PROSTAGLANDINE** il cui effetto locale provoca:
 - vasodilatazione.

- Broncocostrizione.
- Chemiotassi dei neutrofili.

Le mastcellule sono anche in grado di produrre INTERLEUCINE quali:

- IL4 e 13: tali molecole stimolano lo shift verso le cellule Th2 che a loro volta stimolano una risposta di natura anticorpale.
- IL5 che stimola la attivazione degli eosinofili.
- IL3 che promuove la proliferazione dei mastociti stessi.

LE MAST CELLULE E L'ASMA:

le mastcellule mucosali della mucosa respiratoria sono estremamente importanti nella eziologia della patologia asmatica: in questo tipo di fenomeni sono coinvolti i piccoli bronchi ma non gli alveoli. Con l'arrivo dell'allergene le IgE sono in questo caso già associate alle mastocellule e con il semplice legame si attiva tutto il meccanismo di degranolazione che porta a:

- contrazione delle strutture muscolari lisce della parete legata alla azione di SRS-A e altri mediatori.
- Formazione di un escreto bronchiale legato all'incremento della permeabilità vasale associato ancora a SRS-A ma anche ad altri fattori come la istamina.

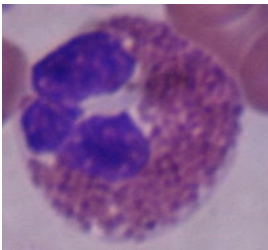
Generalmente patologie di questo tipo nascono come forme intermittenti che tendono alla cronicizzazione, spesso il quadro si evolve in questo senso:

- BRONCHITI che possono divenire croniche visto soprattutto il netto incremento del rischio di infezioni.
- ENFISEMA conseguenza a lungo termine molto grave della patologia asmatica.

Dal punto di vista sintomatologico si possono registrare SIBILI ESPIRATORI che per il fenomeno infiammatorio divengono CREPITII E RANTOLII.

GLI EOSINOFILI:

si tratta di granulociti che si muovono grazie a fattori quali LA EOTASSINA verso la sede della infezione e la loro presenza è molto indicativa di fenomeni di natura atopica; a seguito di lavaggio CONGIUNTIVALE o BRONCHIALE, a seconda della patologia chiaramente, è possibile eseguire un CONTEGGIO DEGLI EOSINOFILI. Fondamentalmente tali cellule:



- possiedono recettori a bassa affinità per le IgE.
- Espellono con la degranolazione LEUCOTRIENTI, PAF E PROSTAGLANDINE.

- Producono citochine quali IL3 e 5.
- Nei granuli è possibile trovare due molecole proteiche:
 - PROTEINA BASICA MAGGIORE.
 - PROTEINA CATIONICA DEGLI EOSINOFILI: si tratta di una perforina molto pericolosa soprattutto per le cellule bronchiali.
 - NEUROTOSSINA derivata degli eosinofili.
 - PEROSSIDASI eosinofila.

La attività di queste cellule è quindi estremamente dannosa rispetto all'epitelio polmonare.

DIFFERENZE TRA PARASSITOSI E ATOPIA:

oltre, ovviamente, al differente agente eziologico della reazione, le due reazioni condividono alcuni mediatori fondamentali:

- Th2.

- IgE.
- EOSINOFILI.

Tuttavia nelle reazioni ALLA PRESENZA DI PARASSITI NON SONO COINVOLTI I MASTOCITI che giocano invece nei fenomeni di atopia UN RUOLO FONDAMENTALE.

LE BASI DELLA PATOLOGIA:

SI TRATTA, come accennato, DI UNA PATOLOGIA MOLTO PARTICOLARE, e possiamo parlare di:

- **BASE GENETICA o FAMILIARE** soprattutto in riferimento alla ATOPIA IN SENSO LATO, LA SUSCETTIBILITÀ AUMENTA SENSIBILMENTE SE UNO O ENTRAMBI I GENITORI SONO AFFETTI. La basi per interpretare questo tipo di fenomeni sono:
 - HLA ma la associazione non è tanto evidente come per altre patologia come per esempio la spondilite anchilosante, e in questo caso la prevalenza non va oltre il 30-40%.
 - **ALTRI FATTORI GENETICI** sono sicuramente molto coinvolti e giocano un ruolo fondamentale, non sappiamo esattamente dove si collocano a livello genico, ma sappiamo che coinvolgono:
 - una **IPERSENSIBILITÀ DELLE MASTOCELLULE** che secernono i loro mediatori in modo rapido e per stimoli anche di minima entità.
 - **iperstimolazione periferica di fibre nervose nocicettive**; a seguito di una tale stimolazione vengono ad essere attivate terminazioni di natura NANC la cui attivazione porta a:
 - secrezione di sostanza P
 - secrezione di fattori adenosino derivati.
 - **BASE AMBIENTALE** sicuramente molto significativa; possiamo riconoscere fattori molto diversi ma sicuramente ricordiamo:
 - esposizione all'allergene.
 - esercizio fisico che porta ad un incremento dell'affanno respiratorio che può portare eventualmente a squilibri osmotici della mucosa respiratoria.
 - stimolazione del sistema NANC legata, per esempio, a fattori esterni.

LA DIAGNOSI:

in questi casi è fondamentale una corretta applicazione della ANAMNESI in particolare in relazione a manifestazioni e casi pregressi, questo è difficile soprattutto per le allergie alimentari:

- se i segni sono solo di natura intestinale soprattutto e di conseguenza poco visibili.
- Segni cutanei possono essere interpretati in modo errato ma sono spesso i più indicativi in assoluto.

soprattutto in ambito pediatrico risulta problematico il riconoscimento di questo tipo di ipersensibilità.

la reazione all'allergene diviene in ogni caso evidente anche alla somministrazione di dosi minime dello stesso, su questo si basano fondamentalmente tutte le tecniche diagnostiche a disposizione.

IL PRICK TEST:

si tratta del metodo diagnostico più semplice e immediato:

- si esegue a livello dell'avanbraccio.
- si eseguono dei piccolissimi fori sulla cute.
- si iniettano gli allergeni sotto esame.

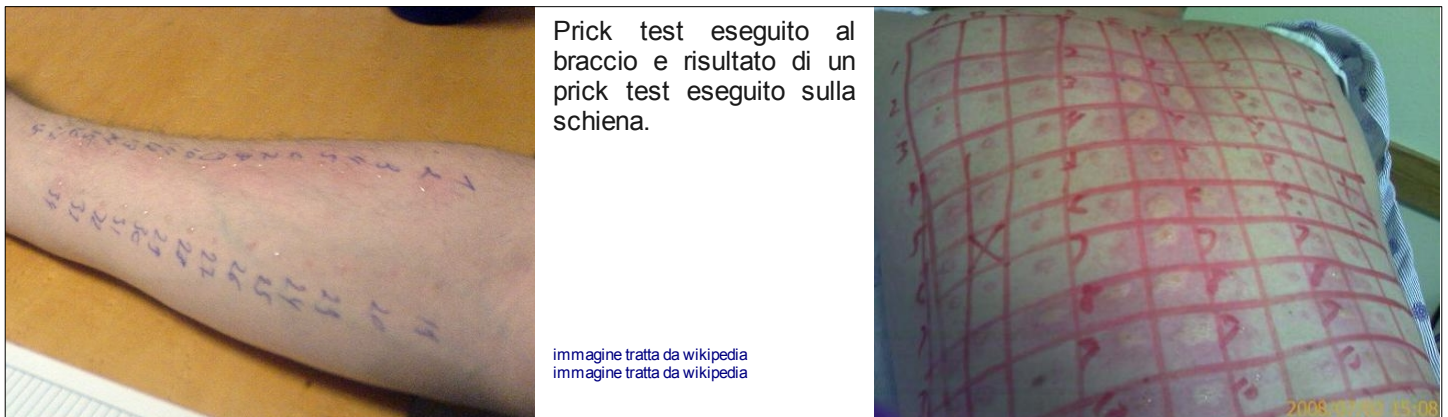
Si tratta di fatto di una reazione INTRADERMICA e si sceglie l'avanbraccio in quanto in

questa sede la pelle è glabra e sottile: se l'esame fosse eseguito a profondità eccessive, allora il test risulterebbe fondamentalmente illeggibile. La distanza tra i fori eseguiti deve essere regolamentare in quanto è indispensabile che i campioni non interferiscano tra loro, si utilizzano due parametri:

- un controllo negativo, cioè il glicerolo, utilizzato come base solubile per gli altri allergeni.
- un controllo positivo, cioè l'istamina.

le reazioni sono ERITEMICHE e LIEVEMENTE EDMICHE in quanto INCREMENTA LA PERMEABILITÀ DEL VASO, come parametri di valutazione si utilizzano:

- vastità dell'eritema.
- Il rigonfiamento.



Tramite il PRICK TEST si valuta UNICAMENTE LO STATO DI SENSIBILIZZAZIONE ad un dato allergene: questi test non sono in alcun modo sufficienti per poter creare una RELAZIONE TRA IL QUADRO CLINICO e uno specifico allergene. L'unico modo per avere certezza della correlazione tra un quadro clinico e un allergene specifico è eseguire un TEST DI INALAZIONE.

I controlli sono essenziali per evitare i falsi negativi e positivi:

- I FALSI NEGATIVI sono generalmente causati da errori dell'operatore legati al fatto che i fori possono essere troppo vicini tra loro per esempio o che il campione sia contaminato.
- FALSI POSITIVI causati da:
 - ipersensibilità al glicerolo stesso nel quale è sciolto l'allergene, valutabile in relazione al controllo negativo.
 - ipersensibilità in generale valutabile in relazione al controllo negativo.

Ricordiamo infine che specialmente gli allergeni di origine vegetale sono RELATIVAMENTE DIFFICILMENTE REPERIBILI in quanto mancano di stabilità dal punto di vista chimico.

VALUTAZIONE DEL LIVELLO DELLE IgE:

si possono eseguire due test per valutare quale sia il livello sierico di IgE del paziente:

- RIST: radio immuno solvent test, questo test DOSA LE IgE TOTALI; si tratta di un test di COMPETIZIONE e si esegue in questo modo:
 - si utilizzano dei dischi di cellulosa associati ad anticorpi:
 - IgE marcate.
 - Anticorpi anti IgE generalmente di coniglio.Si esegue quindi questa reazione fino a saturare le anti IgE di coniglio all'80%.
 - Si inserisce nel preparato il siero del paziente: le IgE presenti nel siero del

paziente andranno a competere con le IgE marcate presenti nel campione. Valutando il calo della radioattività del campione è possibile valutare quante IgE fossero presenti nel siero del paziente.

LE IgE sono quantificabili, come accennato in precedenza, in termine di IU dove $1IU=2,4ng/ml$:

- nei pazienti normali i livelli di IgE sono circa 80 IU/ml.
- nei pazienti atopici le concentrazioni di IgE possono anche arrivare a 400-500 IU/ml, 600-700IU/ml nei casi estremi.

si tratta di un test relativamente poco significativo in quanto le IgE sono AUMENTATE ANCHE IN CASO DI PARASSITOSI per esempio.

- RAST: radio allergo sorbent test che DOSA LE IgE ANTICORPALI specifiche per UN DATO ANTIGENE:
 - si associa al supporto solido l'allergene.
 - si inserisce il siero del paziente con le sue IgE che si legano all'antigene se presenti.
 - si inseriscono anticorpi radioattivi anti IgE che si legano all'Fc delle IgE del paziente rendendole VISIBILI E QUANTIFICABILI.

Si tratta di un test molto significativo e specifico.

Viste le scarsissime quantità di IgE presenti nel sangue, un test di immunofluorescenza sicuramente è in assoluto il più adatto per la sua elevata sensibilità.

LE INTOLLERANZE ALIMENTARI possono essere causate da diversi tipi di fattori in particolare:

- mancanza di enzimi digestivi che causano di fatto un accumulo della sostanza in questione generando la sintomatologia gastroenterica.
- particolare sensibilità a fattori VASOATTIVI presenti NORMALMENTE NEL CIBO come per esempio istamina, serotonina e non solo.

Un caso tipico è la IPERSENSIBILITÀ ALL'ACIDO ACETILSALICIDICO: generalmente provoca attacchi asma-simili nel paziente; è sufficiente eliminare i cibi contenenti tale allergene per risolvere il problema alla radice.

LA TERAPIA:

Oltre alle terapie preventive, sicuramente molto efficaci, è possibile tramite appositi farmaci andare a bloccare la eziologia molecolare e cellulare della patologia stessa; a questo proposito si utilizzano farmaci molto diversi:

- BLOCCO DEI FATTORI DELLE MAST CELLULE SOPRATTUTTO:
 - ANTISTAMINICI che bloccano soprattutto la istamina:
 - soprattutto gli antistaminici di terza generazione che generalmente non danno problemi di sonnolenza.
 - Molto spesso non sono sufficienti.
 - ANTIRECETTORI dei LEUCOTRIENI: queste molecole lipidiche sono responsabili di parte dei fenomeni di broncospasmo caratteristici degli attacchi d'asma.
 - TERAPIA PREVENTIVA E DI MANTENIMENTO con SODIO CROMO GLICATO: si tratta di fattori che INCREMENTANO LA STABILITÀ DEI GRANULI facendo in modo che questi permangano nella mastcellula senza essere escreti.
 - BLOCCO DELLA SECREZIONE:
 - ADRENALINA essenziale soprattutto nell'ASMA BRONCHIALE dove genera:
 - BRONCODILATAZIONE.
 - VASOCOSTRIZIONE.
- Agisce direttamente sulla ADENILATO CICLASI BLOCCANDOLA IN FORMA ATTIVA E

IMPEDENDO QUINDI LA ESOCITOSI DI ULTERIORI GRANULI.

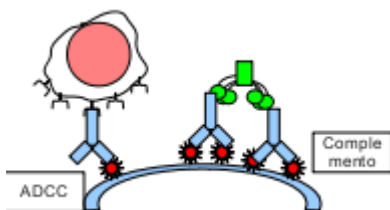
- FARMACI CHE AGISCONO SULLA FOSFODIESTERASI BLOCCANDOLA, in pratica hanno il medesimo effetto della ADRENALINA. Dal punto di vista farmaceutico sono:
 - teobromina.
 - teofillina.L'effetto di questi farmaci richiede un tempo eccessivamente lungo e di conseguenza non possono essere utilizzati nella risoluzione della crisi asmatica acuta.
- MISURE PREVENTIVE COME LA IMMUNOTERAPIA, non si tratta di una vaccinazione, ma DI UNA ALTERAZIONE DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA DEL PAZIENTE in riferimento al fenomeno atopico: l'obiettivo è quello di abbassare una risposta immunitaria che a monte è stata stimolata dalla esposizione ad allergeni. Questo tipo di terapia si esegue UNICAMENTE per quadri clinici GRAVI:
 - viene eseguito un test, generalmente il prick test, per accertare quale sia la situazione di sensibilizzazione del paziente.
 - SI ESEGUE LA DESENSIBILIZZAZIONE, in particolare si utilizza L'ANTIGENE PER GENERARE UN TEST DI SCATENAMENTO in ambienti SPECIALIZZATI:
 - si somministrano piccolissime dosi di antigene volatilizzato e sotto strettissimo controllo clinico.
 - si valutano le diverse reazioni.
 - Una volta valutata la reazione si cerca di mutare la attività della risposta immunitaria: si cerca di trasformare una risposta di tipo IgE in una risposta di tipo IgG, fundamentalmente non nociva per il paziente.
 - LA TERAPIA DURA PER ANNI: l'unico modo per valutarne l'efficacia è il calo delle manifestazioni cliniche nel tempo e della loro gravità.Se la terapia funziona correttamente, IL PAZIENTE PRODUCE IgG4 che INCREMENTANO IN MODO COSTANTE NEL TEMPO CON LA DIMINUZIONE DELLE IgE; questo avviene in quanto il gene per le IgE è prossimo al gene per le IgG4. Rispetto alle IgE le IgG4 presentano:
 - scarsa capacità di attivazione rispetto alle mastocellule.
 - Hanno attività COMPETITIVA RISPETTO ALLE IgE STESSE e di conseguenza provocano un calo della risposta mediata dalle IgE stesse.

Questo tipo di terapia va eseguita unicamente in ambiente ospedaliero per la sua estrema pericolosità. Ricordiamo infine che si tratta di una **CONSTATAZIONE CLINICA**, non è nota la ragione specifica per cui le cellule B passino dal produrre IgE a produrre IgG4.

Ad oggi si eseguono delle terapie sperimentali per la somministrazione degli allergeni per via sottolinguale, sembra stia dando risultati ottimali.

IPERSENSIBILITÀ DI SECONDO TIPO:

si tratta di un tipo di ipersensibilità che vede in causa immunoglobuline di tipo G e M: in questo caso semplicemente un antigene di tipo self viene interpretato come not self dal nostro organismo e attaccato. I meccanismi per cui si genera un danno di natura citotossica di fatto non sono diversi da quelli indotti da una risposta normale, in particolare:



- incremento della citotossicità legata a:
 - NK associata alla attivazione delle NK tramite

immunoglobuline nel meccanismo definito ADCC (antibody dependent cell-mediated cytotoxicity).

- CTL.
- Fagocitosi del bersaglio cellulare, mediata in particolare da:
 - le IgG.
 - le IgM in particolare in relazione alla attivazione del complemento fino a C3b
CON CONSEGUENTE ATTIVAZIONE DELLA FAGOCITOSI TRAMITE recettori CR posti sulle membrane dei fagociti.
- attivazione del complemento ed eventuale lisi delle cellule bersaglio.

IPERSENSIBILITÀ DI SECONDO TIPO E GLOBULI ROSSI:

sicuramente il GLOBULO ROSSO è il bersaglio principale di questo tipo di reazioni, soprattutto in relazione alle trasfusioni di sangue.

IL GRUPPO ABO:

Per quanto riguarda questi antigeni alla prima trasfusione SONO GIÀ PRESENTI ANTICORPI nel sangue del paziente, si tratta di:

- IgM.
- a basso titolo.
- presenti sempre in tutti gli individui.

L'unico periodo della vita durante il quale tali anticorpi non sono presenti sono i primi mesi di vita: le IgM normalmente prodotte contro questi antigeni non oltrepassano la placenta e le IgA che la madre trasmette al neonato tramite l'allattamento non sono dirette contro questo tipo di antigeni. In un adulto immunizzato, come avviene normalmente, A SEGUITO DI UNA TRASFUSIONE NON COMPATIBILE per il gruppo ABO SI HA UNA REAZIONE VIOLENTA:

- bruciore a livello del braccio di iniezione.
- brividi.
- dolore a livello renale: gli anticorpi naturali si legano ai globuli rossi e ne STIMOLANO LA LISI tramite la attivazione del complemento, si riversa emoglobina nel sangue e le proteine liberate si depositano a livello del glomerulo renale portando alla insufficienza renale.
- EMORRAGIE DIFFUSE dovute a:
 - la lisi dei globuli rossi stimola fenomeni di coagulazione intravascolare disseminate o CID: questo fenomeno è dovuto al fatto che la membrana dei globuli rossi presenta elevate concentrazioni di fattore tissutale attiva la via estrinseca della coagulazione e quindi una coagulazione diffusa.
 - a seguito del consumo di fibrinogeno legato alla CID il paziente diviene INCAPACE DI DARE FENOMENI DI COAGULAZIONE e di conseguenza va incontro ad emorragie diffuse.



Piccole emorragie cutanee.
immagine tratta da wikipedia

IL GRUPPO Rh:

Per quanto riguarda questo gruppo sanguigno, e anche altri gruppi quali Kidd, Kell e Duffy, non sono presenti anticorpi preformati, di conseguenza:

- alla prima somministrazione non succede nulla.
- alla seconda somministrazione il sistema immunitario del paziente produce una

grande quantità di anticorpi specifici contro quei dati antigeni, si tratta di IgG in questo caso.

- IN QUESTO CASO LA DENSITÀ DEGLI ANTIGENI È TANTO BASSA CHE SPESSO NON È SUFFICIENTE A PORTARE ALLA ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO, a prescindere dal tipo di Ig stimolata, i globuli rossi vengono quindi eliminati in organi quali:
 - MILZA.
 - FEGATO.

DOVE TROVIAMO NUMEROSISSIMI MACROFAGI¹. I globuli rossi associati alle immunoglobuline anti Rh quindi vengono ELIMINATI PER LISI EXTRAVASCOLARE: i macrofagi degli organi sopra descritti possono attaccare i globuli rossi circolanti fagocitandoli tramite CD16. Alcuni di questi globuli rossi, soprattutto se presenti in grandi quantità, non vengono completamente eliminati ma semplicemente ALTERATI A LIVELLO CONFORMAZIONALE dalla azione DEI MACROFAGI:

- divengono più piccoli, acquisiscono un volume molto minore di $90\mu\text{m}^3$.
- assumono una forma sferica e non biconcava.
- presentano una concentrazione media di emoglobina molto più elevata: la diminuzione del volume non è infatti accompagnata da una perdita di emoglobina intracellulare significativa.

Questi globuli rossi vengono detti SFEROCITI e la loro presenza è associata a diversi tipi di patologie tra cui la più grave e comune è sicuramente una forma AUTOIMMUNE DA INCOMPATIBILITÀ DA Rh.

LA VALUTAZIONE DEL GRUPPO SANGUIGNO:

si esegue tramite la combinazione di gruppi sanguigni noti con il campione di sangue prelevato dal paziente, fondamentalmente:

- se si forma agglutinato allora il sangue non è compatibile.
 - se non c'è agglutinazione, si ha un deposito normale dei globuli rossi, non un agglutinato.
- per quanto riguarda il test Rh GLI ANTICORPI ANTI Rh NON SONO CAPACI DI DARE AGGLUTINATO, si deve eseguire quindi un test di coombs.

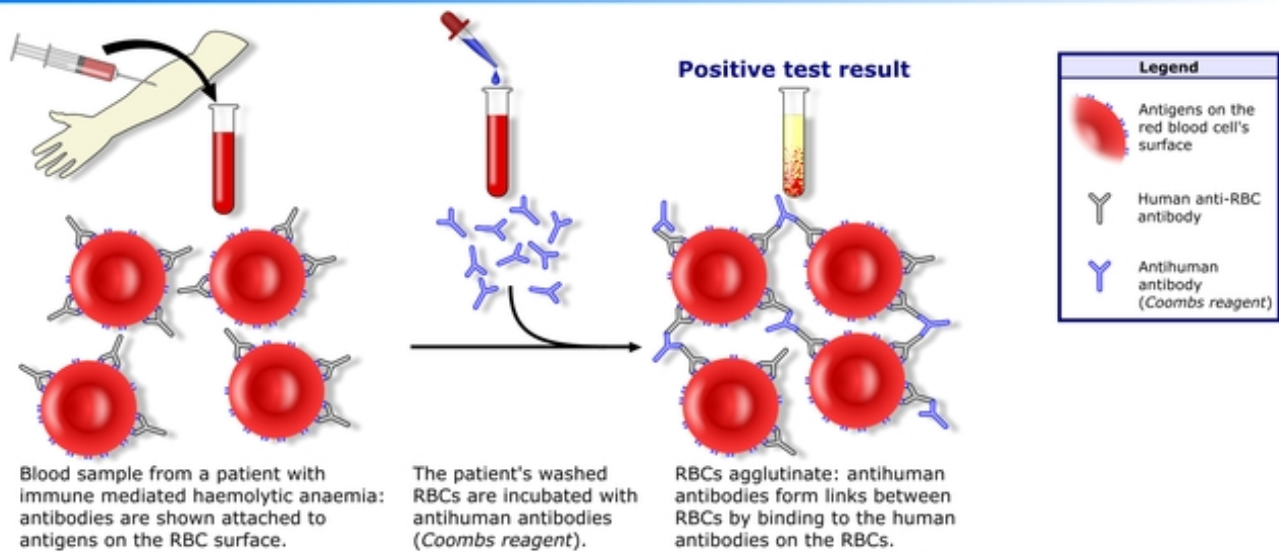
GLOBALI ROSSI E AUTOIMMUNITÀ:

si tratta di anemie emolitiche autoimmuni che portano alla distruzione dei globuli rossi. Un tipico bersaglio di questi fenomeni autoimmuni sono proprio gli Rh in una qualsiasi delle varianti antigeniche presenti. È possibile distinguere in modo certo tra una MALATTIA AUTOIMMUNE e una REAZIONE MEDIATA DA TRASFUSIONE eseguendo alcuni test, in particolare:

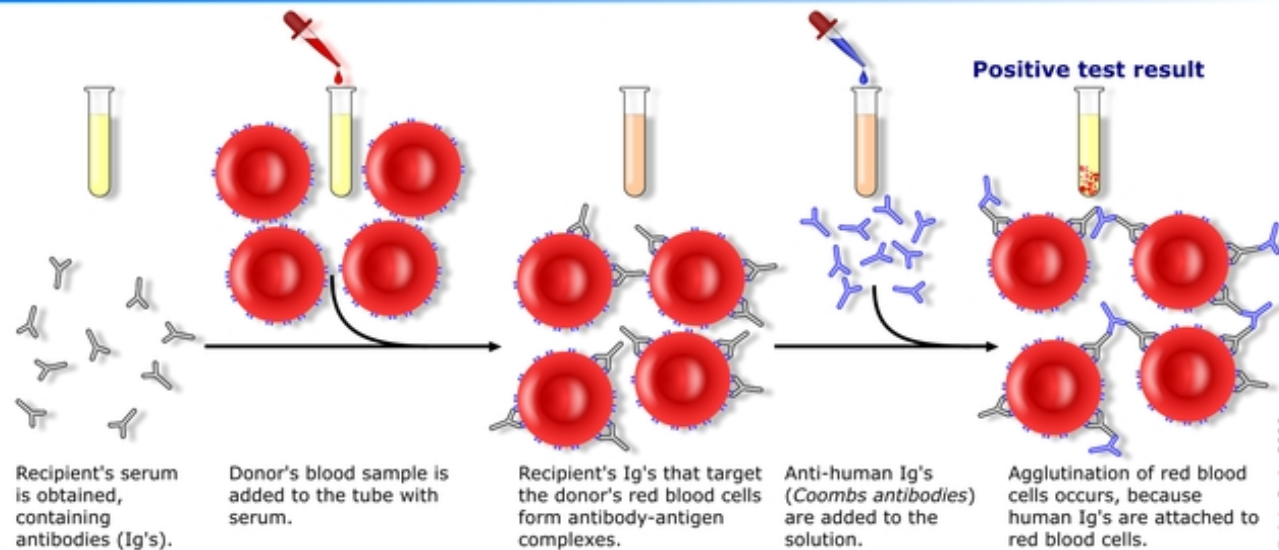
- UN TEST DI COOMBS DIRETTO che risulta positivo in entrambi i casi, sono sempre presenti infatti globuli rossi associati ad anticorpi anti Rh nel sangue: si esegue semplicemente introducendo anticorpi anti Fc delle immunoglobuline coinvolte (anticorpi di Coombs) e si valuta la loro capacità di dare reazioni di agglutinazione in vitro.
- UN TEST DI COOMBS INDIRETTO: si preleva il siero del paziente sotto esame e lo si pone in contatto con globuli rossi di GRUPPO 0: se alla aggiunta di immunoglobuline anti Fc si osservano fenomeni di agglutinazione, allora nel siero del paziente saranno presenti costitutivamente anticorpi anti Rh e si parla di ANEMIA EMOLITICA AUTOIMMUNE.

¹ Anche il polmone è in grado di contribuire a questo processo.

Direct Coombs test / Direct antiglobulin test



Indirect Coombs test / Indirect antiglobulin test



**ALCUNI ESEMPI DI REAZIONI DI TIPO II:
ANEMIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI DA FARMACI:**

si tratta di patologie iatrogene per cui:

- il farmaco somministrato si associa al globulo rosso per una cross compatibilità casuale.
- il globulo rosso viene attaccato dalle immunoglobuline prodotte contro il farmaco.
- Si assiste ad una ANEMIA EMOLITICA potenzialmente molto grave, di natura di fatto AUTOIMMUNE.

Oltre ai globuli rossi, come avviene più di frequente, questo tipo di patologia può coinvolgere diversi elementi del sangue: si possono produrre autoanticorpi contro farmaci che si legano a leucociti e piastrine²; sono notevoli in alcuni casi risposte

² Il sedormid, un farmaco molto utilizzato, presenta tra i diversi effetti collaterali una PORPORA TROMBOTICA TROMBOCITOPENICA potenzialmente anche molto grave.

autoimmuni contro reni o altri organi.

LA MALATTIA EMOLITICA NEL NEONATO:

si tratta di una patologia che si verifica nel momento in cui una madre Rh negativa abbia un figlio Rh positivo che abbia acquisito dal padre tale carattere. Come sappiamo al distacco della placenta c'è un contatto tra il sangue della madre e del feto: si tratta di una quantità relativamente ridotta, di circa 3cc, ma sufficiente ad immunizzare la madre contro il gruppo Rh. Il problema si viene a creare nel momento in cui:

- gli anticorpi materni passano attraverso la placenta.
- attaccano i globuli rossi del feto Rh positivi generando nel feto una sindrome EMOLITICA, il feto a questo punto:
 - muore per aborto.
 - se vive presenta:
 - EPATOSPLENOMEGALIA CONSISTENTE.
 - IDROCEFALIA legata a squilibri osmotici dovuti al fatto che la barriera ematoencefalica del feto risulta non completamente formata.
 - DANNI NEUROLOGICI GRAVI: parte dei gruppi eme presenti nel sangue vengono convertiti a BILIRUBINA, si tratta di una molecola:
 - LIPOSOLUBILE.
 - ESTREMAMENTE TOSSICA.

Capace senza problemi di attraversare la membrana ematoencefalica del feto e di provocare danni neurologici gravissimi.

La presenza o assenza di un tale quadro patologico naturalmente dipende dalla segregazione dei cromosomi paterni: nel momento in cui il padre sia omozigote D dominante, allora il figlio sarà sistematicamente Rh positivo, in caso contrario, allora il figlio potrebbe essere o meno Rh positivo³.

LA INDAGINE ANAMNESTICA è fondamentale:

- aborti precedenti possono avere creato fenomeni di immunità anti Rh estremamente pericolosi quindi anche per il primo figlio.
- Trasfusioni ripetute con gruppi sanguigni Rh positivi possono aver immunizzato la madre.

si esegue molto spesso un TEST DI COOMBS INDIRETTO di modo da valutare la presenza di una RISPOSTA IMMUNITARIA PRESENTE NELLA MADRE.

L'INCOMPATIBILITÀ ABO è decisamente meno preoccupante e meno pericolosa rispetto a quella dei gruppi Rh, questo per due motivi:

- gli antigeni ABO sono presenti anche a livello extravascolare, di conseguenza gli eventuali anticorpi in forma IgG della madre vengono bloccati a livello extravascolare, direttamente nella placenta.
- Normalmente, ad eccezione di individui immunizzati, gli anticorpi anti ABO sono in forma di IgM e di conseguenza NON POSSONO OLTREPASSARE LA PLACENTA.

È possibile eseguire delle azioni terapeutiche e preventive a riguardo:

- le donne devono essere anzitutto il meno possibile sensibilizzate a gruppi sanguigni differenti dai propri.
- Nel caso in cui la incompatibilità venga per qualsiasi motivo diagnosticata a gravidanza iniziata, la terapia dipende fondamentalmente dalla gravità della reazione:
 - PER CASI GRAVI è possibile eseguire una intrauterine blood exchange: si

³ È possibile determinare quale sia il genotipo del padre unicamente osservando la prole.

eseguono delle trasfusioni intrauterine di sangue ogni 10-21 giorni fino alla gravidanza.

- PER CASI MENO GRAVI non si esegue questo tipo di terapia ma si attende il parto per eseguire una trasfusione di tutto il sangue fetale soprattutto per ELIMINARE LA BILIRUBINA PRESENTE IN CIRCOLO.
- Il feto viene inoltre colpito con radiazioni UV per degradare la bilirubina presente in circolo e limitarne la pericolosità.
- La madre può essere anche trattata con PLASMAFERESI: si tratta di una procedura che consente di eliminare il plasma materno e di sostituirlo con plasma esogeno, privo di anticorpi anti Rh, mantenendo le componenti cellulari.
- ENTRO 24-48 ORE a seguito della contaminazione della madre da parte del sangue fetale, si deve eseguire una INIEZIONE DI ANTICORPI ANTI D (antigene principale del gruppo Rh) AD ALTISSIMO TITOLO, si tratta di un meccanismo di sieroprofilassi, infatti:
 - gli anticorpi si legano all'antigene D.
 - il complesso immune si associa al linfocita B.
 - il linfocita B viene INATTIVATO.

si utilizzano insomma anticorpi preformati per ridurre la risposta anticorpale: il linfocita B vede il complesso immune tramite il recettore CD32b che presenta una sequenza ITIM che blocca immediatamente la proliferazione della cellula impedendo la formazione di cellule della memoria.

è possibile distinguere tra la emoglobina fetale e quella materna in quanto la struttura è differente: la emoglobina fetale viene testata tramite test di kley hauer sottoposta a acidi molto forti.

ANEMIE EMOLITICHE A FREDDO:

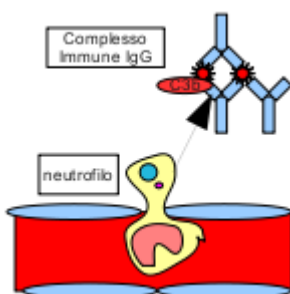
fondamentalmente si producono delle IgM che agglutinano i globuli rossi unicamente a basse temperature, la agglutinazione avviene a livello:

- delle mani.
- dei piedi.

oltre alla agglutinazione possono portare a fenomeni di LISI INTRAVASCOLARE che porta a PROBLEMI SIMILI A QUELLI DESCRITTI PER ALTRI CASI DI EMOLISI INTRAVASCOLARE. Il gruppo soggetto a questo tipo di reazioni è il gruppo li, spesso queste patologie sono stimulate in senso transitorio da infezioni da mycoplasmi.

IPERSENSIBILITÀ DI TERZO TIPO:

si tratta di reazioni patologiche legate in questo caso a IMMUNOCOMPLESSI:



- si tratta di una ipersensibilità mediata da ANTICORPI.
- L'antigene non è corpuscolato ma solubile: si tratta di antigeni che possono essere
 - solubili per loro stessa natura come tossine o virus.
 - solubili in quanto parti proteiche distaccate da strutture cellulari.
- non si tratta di una patologia frequente, è piuttosto rara: non sono rari i casi in cui gli immunocomplessi si formano, ma sono rari i casi in cui questi DANNO PROBLEMI.

Le ipersensibilità di III tipo sono causata da un MANCATO O INCOMPLETO SMALTIMENTO DI IMMUNOCOMPLESSI.

FORMAZIONE E SMALTIMENTO DI IMMUNOCOMPLESSI:

si tratta della formazione di un precipitato legata alla interazione tra antigeni e anticorpi:

- se predomina l'anticorpo o le due componenti sono presenti in concentrazioni simili, si forma un precipitato:
 - i singoli anticorpi formano cross-linkano gli antigeni solubili.
 - si formano interazioni tra i frammenti Fc delle immunoglobuline coinvolte.
- se predomina invece l'antigene le due componenti non formano il precipitato e gli immunocomplessi permangono allo stato solubile: non si formano interazioni Fc-Fc sufficienti a garantire la formazione del precipitato.

La manifestazione più comune di questo tipo di fenomeni sono sicuramente LE VASCULITI tipiche di numerosissime patologie esantematiche; all'arrivo di un antigene, come un batterio o un virus, alla sua prima invasione, SARANNO PRESENTI:

- POCHI ANTICORPI.
- MOLTI ANTIGENI.

Con il tempo la situazione si inverte chiaramente, ma in un primo momento si formano complessi solubili che devono essere eliminati; in generale tali complessi si possono formare:

- IN CIRCOLO dove possono provocare reazioni anche gravi, generalmente vengono eliminati:
 - nella MILZA grazie ai numerosi macrofagi presenti.
 - Nel FEGATO una grossissima parte grazie alle CELLULE DEL KUPFER.
 - Nel POLMONE grazie ai suoi numerosi fagociti.gli organi fondamentalmente del RETICOLO ENDOTELIO.
- AL DI FUORI DEL CIRCOLO: generalmente in questo sono i MACROFAGI A LIBERARE L'ORGANISMO DA QUESTO TIPO DI COMPLESSI, sono infatti sensibili a:
 - elementi delle proteine del complemento.
 - segmenti Fc delle IgG.nel caso in cui non siano sufficienti I FAGOCITI PRESENTI IN LOCO vengono richiamati CHEMIOTATTICAMENTE ALTRI MONOCITI DAL CIRCOLO e MACROFAGI DALLE ZONE CIRCOSTANTI e il problema viene risolto.

LA CAPTAZIONE DEI COMPLESSI CIRCOLANTI:

si tratta di un processo complesso che prevede delle interazioni molecolari la cui corretta elaborazione è fondamentale per consentire a cellule FISSE come i macrofagi alveolari, splenici e le cellule del kupfer di catturare complessi che si muovono in circolo. Fondamentalmente il processo si svolge in questo modo:

- l'antigene si avvicina alla periferia del vaso questo è reso possibile perché:
 - il flusso a livello delle sinusoidi caratteristiche di questi organi rallenta notevolmente.
 - La ristrettezza delle strutture vascolari contribuisce in modo notevole.
- I macrofagi delle sedi di smaltimento sono sensibili:
 - ai recettori Fc delle immunoglobuline.
 - i recettori per il complemento, presentano infatti:
 - CR1 che si associa a C3b.
 - CR3 che si associa al C3bi.
- I complessi immuni sono capaci di ATTIVARE IL COMPLEMENTO che si fissa su di essi, il complemento stesso a questo punto:
 - FAVORISCE LA CLEARANCE.
 - RENDE MENO PERICOLOSI QUESTI COMPLESSI IN QUANTO LI SOLUBILIZZA.

Si lega al frammento Fc dell'anticorpo INTERFERENDO CON LE SUE CAPACITÀ DI INTERRELAZIONE Fc-Fc DI MODO CHE IL RETICOLO TRIDIMENSIONALE SIA INFERIORE IN VOLUME E IL COMPLESSO PERMANGA SOLUBILE.

- Risulta fondamentale il ruolo dei GLOBULI ROSSI CHE SI FANNO CARICO DI QUESTO TIPO DI COMPLESSI ASSOCIATI AL COMPLEMENTO E LI VEICOLANO ALLA ESTREMITÀ DEL VASO DOVE VENGONO ELIMINATI: i globuli rossi presentano infatti il recettore CR1 di cui sono molto ricchi e tramite il quale sono capaci di legare il complesso immune e di veicolarlo a livello della periferia del vaso. Il processo è abbastanza complesso, possiamo dire che complessivamente il globulo rosso:
 - si associa all'immunocomplesso.
 - arriva all'organo reticolo endotelio.
 - Scorre attraverso le sinusoidi dove:
 - rallenta la sua corsa.
 - il CR1, al quale è associato il complesso immune solubile, che è un coattivatore per il C3b INIBITORE:
 - TRASFORMA IL C3b IN C3bi, inattivato.
 - il globulo rosso NON È PIÙ SENSIBILE AL LEGAME CON IL COMPLESSO IMMUNE CHE SI DISTACCA.

IL COMPLEMENTO È QUINDI FONDAMENTALE PER QUANTO RIGUARDA QUESTE OPERAZIONI: chiaramente questo tipo di fenomeni si estrinseca in circolo in luoghi molto diversi, tuttavia assume dimensioni notevoli in queste sedi per il rallentamento del circolo. È stato possibile dimostrare con certezza come il fegato giochi un ruolo fondamentale a questo proposito, in particolare:

- a livello della VENA PORTA vi è una grande quantità di immunocomplessi solubili associati a globuli rossi.
- Nelle VENE EPATICHE il complesso immune fondamentalemente SCOMPARE.

Come controllo il medesimo test è stato eseguito a livello del circolo renale dimostrando come a questo livello non avvengono fenomeni di clearance da immunocomplessi.

IL RUOLO DI FEGATO E MILZA:

Oggi sappiamo che FEGATO E MILZA OPERANO IN MODI DIFFERENTI:

- IL FEGATO ELIMINA I COMPLESSI IMMUNI SOLUBILI SOPRATTUTTO TRAMITE il sistema del CD16 grazie alle CELLULE DEL KUPFER.
- LA MILZA ELIMINA I COMPLESSI IMMUNI SOLUBILI SOPRATTUTTO TRAMITE IL sistema C3b-C3bi.

Conducendo il medesimo esperimento descritto in precedenza in animali deplementizzati, si osserva che LA CLEARANCE SPLENICA RISULTA FONDAMENTALMENTE NULLA; inoltre studiando pazienti deficienti per C2 del complemento e utilizzando complessi marcati radioattivamente si osserva una notevole ombra radioattiva a livello epatico che a livello splenico risulta completamente assente.

LA MALATTIA DA SIERO ACUTA:

si tratta di una patologia che, almeno per come era nota nell'era preantibiotica, oggi non sussiste più e che è stata estremamente utile come modello sperimentale per diversi tipi di patologie legate a ipersensibilità di terzo tipo. In età preantibiotica non era possibile difendersi da patologie batteriche, l'unico metodo era quello di eseguire delle SIEROPROFILASSI CON SIERO DI CAVALLO tramite ipodermoclisi: iniezioni continuative di anticorpi di cavallo. A seguito di iniezioni di siero di cavallo ripetute spesso questo tipo di pazienti cominciava a mostrare:

- FEBBRE.

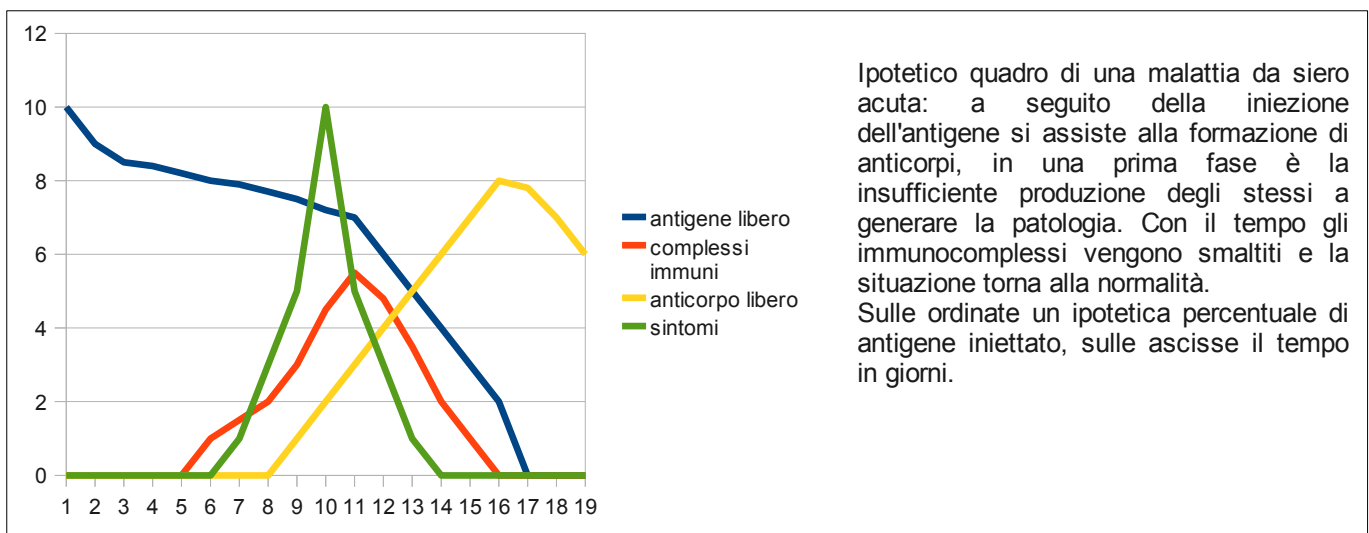
- ORTICARIA.
- ARTRALGIA.
- MANIFESTAZIONI RENALI TRANSITORIE.

Tutte manifestazioni transitorie che con il tempo spariscono; la patologia assume il nome di MALATTIA DA SIERO ACUTA. Oggi sappiamo che:

- il siero di cavallo stimola la produzione di anticorpi contro di esso.
- Le somministrazioni successive ripetute a breve distanza di tempo provocano la formazione di immunocomplessi solubili.
- i complessi solubili si depositano e creano problemi in diverse regioni dell'organismo.

A livello clinico si INDIVIDUANO TRE FASI come descritto in precedenza:

- inizialmente non si hanno problemi.
- si ha una malattia acuta transitoria fintanto che si formano complessi solubili.
- con la scomparsa dei complessi solubili dovuta all'incremento del numero di anticorpi, LA MALATTIA SCOMPARE.



MANIFESTAZIONI CLINICHE ASSOCIATE A REAZIONI DI TERZO TIPO:

anzitutto è importante sottolineare il fatto che le cause di una patologia di questo tipo possono essere fondamentalmente due:

- nel breve periodo mancanza di anticorpi.
- nel lungo periodo, in senso cronico, possiamo avere una persistenza di antigeni costante sempre in eccesso:
 - agenti infettivi cronicizzanti come il virus dell'epatite.
 - tumori.
 - Autoimmunità.

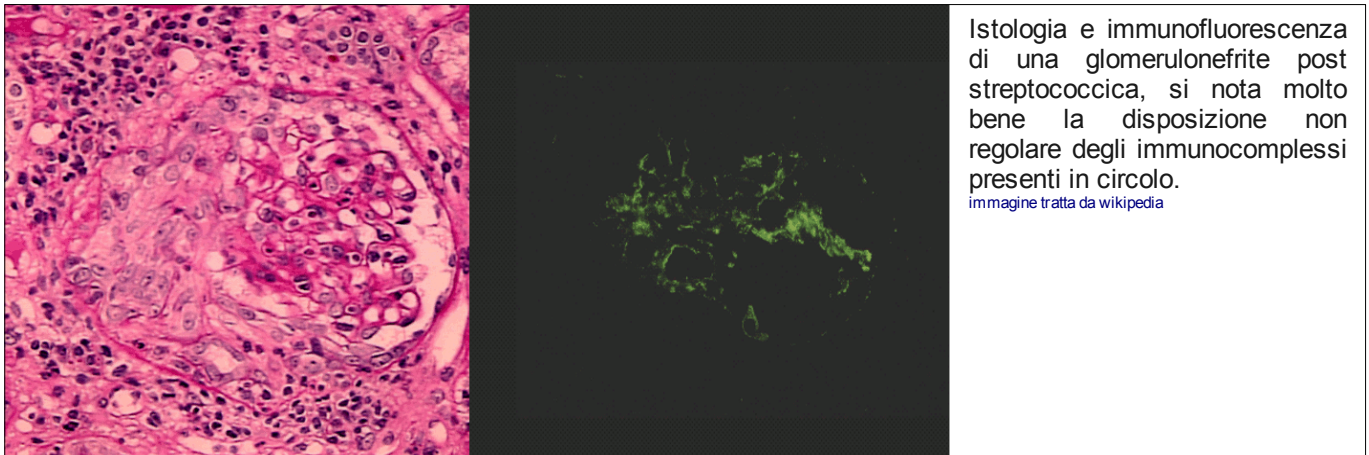
Complessivamente patologie di questa natura si possono classificare in due grandi categorie: patologie di natura sistemica e patologie di natura locale.

PATOLOGIE SISTEMICHE:

- GLOMERULONEFRITE POST STREPTOCOCCICA:
si tratta di una patologia caratterizzata da:
 - ematuria.
 - proteinuria.

Transitorie. La causa di questo tipo di patologia è da imputarsi al deposito di

immunocomplessi solubili a livello dei glomeruli renali, il deposito di tali complessi provoca una infiammazione locale e una alterazione dei processi di filtrazione che prosegue fino allo smaltimento dei complessi stessi.



- **VASCULITE e MALATTIA DA SIERO CRONICA:**

Si tratta di una patologia caratterizzata da danni vascolari periferici molto gravi: in questo caso infatti i **COMPLESSI SOLUBILI HANNO UNA VITA LUNGA E IL QUADRO CLINICO DIVIENE CRONICO**, si parla di **MALATTIA DA SIERO CRONICA**. Somministrando **CONTINUAMENTE** dosi costanti di antigene è possibile **DETERMINARE SPERIMENTALMENTE UNA PATOLOGIA DI QUESTO TIPO**, infatti:

- LA PERMANENZA DEI COMPLESSI DIVIENE COSTANTE.
- SI HANNO DEGLI EFFETTI PROLUNGATI:
 - proteinuria consistente.
 - Vasculite.

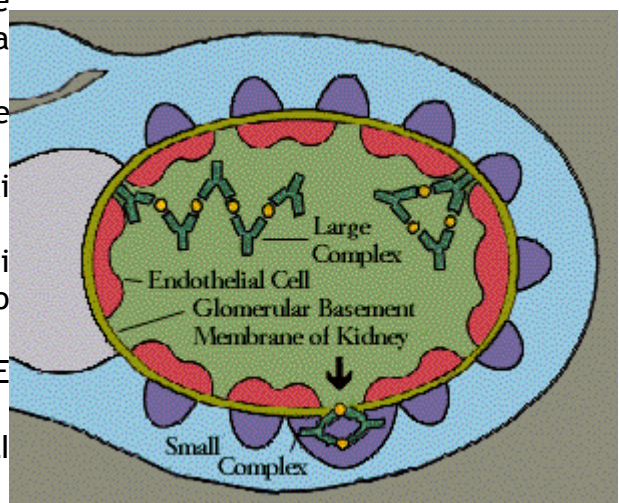
Una patologia di questo tipo può essere causata da:

- un continuo afflusso antigenico in circolo come avviene per alcuni antigeni self continuamente prodotti.
- Una **INCAPACITÀ DI SMALTIRE TALI IMMUNOCOMPLESSI**.

tutte le patologie che prevedono la presenza di un antigene presente in modo costante nel plasma sono associate a questo tipo di manifestazione clinica; sicuramente ricordiamo il **LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO**: si tratta di una malattia autoimmune per cui il paziente produce anticorpi contro il DNA, in una situazione di questo tipo:

- l'antigene è sempre e comunque presente.
 - gli anticorpi vengono prodotti sempre e con un profilo costante.
- la produzione continua di complessi antigene anticorpo solubili possono generare seri problemi:

- **DEPOSITO IN VASI DI PICCOLE DIMENSIONI** cioè **VASCULITE**.
- **DEPOSITO A LIVELLO DEI GLOMERULI RENALI**.



Per quanto riguarda questo tipo di patologie possiamo dire che si manifestano, in particolare il lupus, con quadri di questo tenore:

- proteinuria e insufficienza renale.
- eritema cutaneo, soprattutto nel lupus eritematoso sistemico:
 - risulta visibile soprattutto in caso di riacutizzazione della patologia.
 - Assume il tipico aspetto a farfalla a livello del volto.
- Molto spesso le donne soggette da lupus eritematoso sistemico sviluppano problemi psichiatrici prima che vere e proprie manifestazioni fisiche,
- artralgia in quanto vengono colpiti i piccoli vasi della sinovia articolare generando dolori considerevoli.
- occhio soprattutto in relazione a microstruzioni delle piccolissime strutture vascolari che vi si collocano.
- **MALATTIE CRONICHE:**
si tratta di un fenomeno che avviene tipicamente a seguito di una epatite virale che porta alla formazione di un antigene persistente sempre espresso:
 - si formano piccoli complessi che danno una vasculite.
 - si portano nei vasi sulle pareti associandosi sulle pareti in modo IRREGOLARE o GRANULARE.Oltre a patologie croniche questo tipo di fenomeni si verifica per:
 - patologie tumorali dove gli antigeni vengono espressi in quantità enorme e con costanza.
 - Patologie autoimmuni dove l'antigene è fundamentalmente sempre presente in circolo.

PATOLOGIE LOCALIZZATE:

- **ECCESSO DI PRODUZIONE DI ANTICORPI:**
si tratta di reazioni localizzate legate alla presenza di eccessi di anticorpi diretti contro quel dato antigene; tali reazioni si verificano:
 - DOVE È STATO INIETTATO L'ANTIGENE.
 - IN SOGGETTI SUPERIMMUNIZZATI.si ha un quadro caratterizzato da:
 - eritema.
 - noduli consistenti e palpabili.
 - Che si presenta dopo 5-6 ore DALLA ENNESIMA INIEZIONE.Si tratta di una REAZIONE DI ARTHUS: si tratta di una reazione che si sviluppa a seguito di una SENSIBILIZZAZIONE che porta alla produzione di una ENORME QUANTITÀ DI IgG, queste si trovano, come noto, per un terzo in territorio extravascolare e di conseguenza possono FORMARE DEGLI IMMUNOCOMPLESSI AL DI FUORI DELLA STRUTTURA DEL VASO, sulla parete esterna come avviene in questo caso.
- **ALVEOLITE ALLERGICA:**
in questo caso si ha un coinvolgimento delle strutture alveolari sede a livello della quale inizia una FLOGOSI con FORTI ALTERAZIONI DELLE STRUTTURE ALVEOLARI, tale patologia può portare nel tempo anche ad ENFISEMA. Questo tipo di reazione si estrinseca in:
 - soggetti esposti a antigeni specifici a livello delle vie respiratorie che stimolino la produzione di IgG.
 - soggetti iperproduttori di anticorpi.DI FATTO SI FORMANO DEI COMPLESSI CHE VANNO A DEPOSITARSI SULLA PARETE

ESTERNA DEI VASI ALVEOLARI proprio per il fatto che le IgG prodotte sono una ENORME QUANTITÀ.

si TRATTA molto spesso DI MALATTIE PROFESSIONALI:

- ASMA DA FIENO associata alla inalazione di funghi presenti nel fieno ammuffito.
- MALATTIA DEGLI ALLEVATORI DI PICCIONI: in questo caso si tratta di una patologia associata alla inalazione di antigeni disseccati derivati dallo sterco del piccione.

In ogni caso l'insorgenza di questo tipo di patologia È LEGATA AD UNA PREDISPOSIZIONE GENETICA ALLA IPERPRODUZIONE DI IgG.

IL DEPOSITO DEI COMPLESSI IMMUNI A LIVELLO DEI GLOMERULI RENALI:

per quanto riguarda questo fenomeno possiamo fondamentalmente distinguere due casi la cui osservazione consente di eseguire una diagnosi differenziale rapida e sicura:

- DEPOSITO IRREGOLARE o GRANULARE: tale quadro si manifesta nel momento in cui gli anticorpi SONO PRODOTTI IN CIRCOLO E ARRIVANO IN SEDE per DEPOSITO SUCCESSIVO. Si tratta di una manifestazione legata molto spesso a LUPUS ERITEMATOSO.
- DEPOSITO REGOLARE per cui gli anticorpi si depositano in modo DISTRIBUITO: si tratta in questo caso di una specifica patologia renale per cui i complessi si formano direttamente in loco; la causa più comune è la sindrome di Good-Paster, per cui vengono prodotti anticorpi contro antigeni del glomerulo. SI TRATTA IN QUESTO CASO DI UNA REAZIONE DI SECONDO TIPO in quanto L'ANTIGENE È ASSOCIATO ALLA MUCOSA E QUINDI CORPUSCOLATO.

FATTORI PREDISPONENTI ALLE IPERSENSIBILITÀ DI TERZO TIPO:

le cause predisponenti o eziologiche di patologie di questo tipo possono essere molto diverse:

- SCARSA PRODUZIONE DI ANTICORPI come avviene nelle malattie post streptococciche: si tratta spesso di una situazione TRANSITORIA.
- ECCESSO DI ANTIGENE che viene SEMPRE PRODOTTO come nel caso del lupus o delle epatiti virali croniche.
- I COMPLESSI POSSONO NON ESSERE SMALTITI CORRETTAMENTE, questo può avvenire per:
 - DEFICIENZE DEL COMPLEMENTO SOPRATTUTTO LE PRIME COMPONENTI FINO A C2: in questo caso non si formano le molecole utili all'incremento della clearance e si possono avere quadri simili a quelli del lupus eritematoso sistemico.
 - DIFETTI DEI GLOBULI ROSSI che possono non presentare il recettore CR1 e di conseguenza essere incapaci di legare e rilasciare gli immunocomplessi; QUESTO PUÒ ESSERE DOVUTO A:
 - DIFETTO GENETICO.
 - IL FATTO CHE IL CR1 SIA IMPEGNATO da:
 - da un C3b LIBERO che va ad associarsi direttamente al CR1.
 - presenza di ANTICORPI AUTOIMMUNI per tali molecole del complemento.
- FATTORI DI NATURA EMODINAMICA: si tratta di fattori che rendono maggiormente probabile il deposito di TALI COMPLESSI A LIVELLO DI PICCOLI VASI, possono essere dei più diversi e generalmente i complessi in questione si depositano:
 - nei PICCOLI VASI DELLA CUTE dove non si vede praticamente nulla, ma i depositi ci sono, non danno sintomatologie.
 - A livello dell'ENCEFALO dove possono generare problemi di natura PSICHIATRICA.

- Nel RENE.
 - Nel CUORE possono essere colpiti piccoli vasi del circolo cardiaco.
- QUESTO AVVIENE IN QUANTO NEI VASI:**
- con l'incremento della total cross sectional area andando verso le strutture capillari si assiste ad un netto RALLENTAMENTI DEL FLUSSO.
 - MOTI TURBOLENTI tipici delle diramazioni ad angolo acuto dei vasi sanguiferi e che generano una rottura del moto laminare che porta al deposito sulle superfici vasali di questo tipo di complessi.
- I COMPLESSI DEVONO PORTARSI, per poter essere smaltiti, A LIVELLO DELLA STRUTTURA CONNETTIVALE SOTTOENDOTELIALE: è a questo proposito INDISPENSABILE UN INCREMENTO DELLA PERMEABILITÀ DELL'ENDOTELIO. Influiscono su questo fattore sia FATTORI DI PERMEABILIZZAZIONE DELLE STRUTTURE ENDOTELIALI sia FATTORI STERICI ASSOCIATI ALLA NATURA DELL'ANTIGENE. Eccessi aberranti di permeabilità delle strutture vascolari possono provocare danni molto seri:
 - a livello renale dove si instaura un fenomeno di questo tipo:
 - il complesso oltrepassa l'endotelio.
 - Passa al di sotto la membrana basale.
 - Si innesta sotto i podociti.
 - arriva in contatto con il mesangio intraglomerulare: SI TRATTA DI UN TESSUTO ESTREMAMENTE IMBIBIBILE E SENSIBILE A FENOMENI FLOGISTICI e ne risulta di conseguenza molto danneggiata.Tale fenomeno è strettamente legato alla natura dell'antigene in particolare in relazione a:
 - dimensioni dell'antigene che deve essere sufficientemente piccolo.
 - Concentrazione del complesso tra i due lati della membrana.
 - La capacità dei globuli rossi e di altre molecole e cellule di legarli prima che passino attraverso la barriera endoteliale.La rimozione di questo tipo di complessi è affidata a:
 - MACROFAGI LOCALI.
 - CELLULE DEL MESANGIO INTRAGLOMERULARE che hanno anche attività macrofagica.
 - A livello articolare DOVE TALI COMPLESSI GENERANO UNA ARTRALGIA MOLTO FORTE legata alla penetrazione di tali complessi a livello sinoviale.
- L'INCREMENTO DELLA PERMEABILITÀ LOCALE PUÒ ESSERE CAUSATO in forma transitoria da:
- PRODUZIONE PIASTRINICA DI PAF che incrementa la permeabilità vasale, le piastrine sono anche in grado di legare il complemento.
 - Attività dei BASOFILI: che possono essere stimolati dalla attivazione del complemento tramite il C3a stimolando in generale la permeabilità vasale.

LA VASCULITE:

La vasculite è la conseguenza più comune di questo tipo di ipersensibilità, anche se non l'unica, SI TRATTA DI UNA INFIAMMAZIONE DELLA PARETE DEL VASO SANGUIFERO legata allo stravasamento di COMPLESSI IMMUNI molto spesso, ma non solo, causato da un incremento della permeabilità vasale. Complessivamente devono essere mobilitati:

- MACROFAGI LOCALI che, ove insufficienti, emettono fattori di natura chemiotattica.
- GRANULOCITI richiamati in sede dai fattori chemiotattici dei macrofagi locali.

I FATTORI CHIEMIOTATTICI coinvolti possono anche essere DERIVATI DEL COMPLEMENTO come il C5a.

GENESI DELLA VASCULITE:

I complessi immuni in questione sono robusti e, una volta extravasati, relativamente poco solubili; a questo punto:

- I MACROFAGI DEVONO STRAPPARARE DAL CONNETTIVO I COMPLESSI.
- LA ELIMINAZIONE DIVIENE MOLTO DIFFICOLTOSA.
- La ATTIVAZIONE MACROFAGICA E GRANULOCITICA genera:
 - la produzione di STIMOLI INFIAMMATORI.
 - Danni MOLTO SERI ALLE STRUTTURE CONNETTIVALI.

I danni legati alla degranolazione di tali cellule generano la VASCULITE che si osserva tipicamente in questi pazienti.

LA REAZIONE DI ARTHUS:

si tratta di una reazione eziologicamente differente da quelle precedentemente descritte, risulta infatti associata non ad un eccesso di antigene ma ad un eccesso di anticorpo; risulta generalmente associata a:

- esposizione ad antigeni per lavoro.
- Farmaci.

Fondamentalmente tale patologia si estrinseca in reazioni locali che si manifestano come PORPORE PERIFERICHE: si tratta di piccole emorragie periferiche, QUESTE MANIFESTAZIONI SONO INFILTRATE DI GRANULOCITI presenti in grandissima quantità tanto che si parla di PORPORA LEUCOCITOCLASTICA. In questa sede c'è un infiltrato in quanto:

- CON L'ARRIVO DELL'ANTIGENE VIENE STIMOLATA PRODUZIONE DI ANTICORPI.
- GLI ANTICORPI IN ECCESSO OLTREPASSANO LA PARETE ENDOTELIALE.
- FORMANO COMPLESSI SULLA PARETE ESTERNA DEL VASO DOVE SI COLLOCANO GLI ANTIGENI.

Di fatto la manifestazione clinica è identica, ma la causa e la natura dell'infiltrato sono differenti, in particolare si assiste ad:

- attivazione del complemento.
- richiamo di polimorfonuclati.
- Degranolazione massiccia degli stessi.
- Un danneggiamento tissutale notevole.

Si tratta di un FENOMENO È IDENTICO, MA NON È NECESSARIO IN QUESTO CASO L'INCREMENTO DI PERMEABILITÀ VASALE IN QUANTO L'ANTIGENE SI TROVA GIÀ FUORI DAL VASO.

LA DIAGNOSI:

per quanto riguarda la ricerca di prove per la sensibilità a questo tipo di reazioni sono possibili indagini di diversa natura, generalmente:

- SI DOSA IL COMPLEMENTO in caso di dosi di proteine del complemento basse non giustificate dalla presenza di altri fattori immunostimolanti si eseguono ulteriori indagini.
- BIOPSIA RENALE per esempio: si ricercano per immunofluorescenza anticorpi presenti nel campione. Come si accennava in precedenza i complessi immuni depositati possono assumere una conformazione differente a seconda del tipo di patologia.
- È possibile infine CERCARE DIRETTAMENTE IMMUNOCOMPLESSI CIRCOLANTI, in

particolare si utilizza il C1q BINDING TEST:

- si prende il C1q e lo si fissa ad un supporto solido.
- si immette il siero del paziente.
- Se il campione contiene immunocomplessi, questi si legheranno alla C1q.
- La certificazione dell'avvenuto legame si prova con ANTICORPI MARCATI.

IPERSENSIBILITÀ DI QUARTO TIPO:

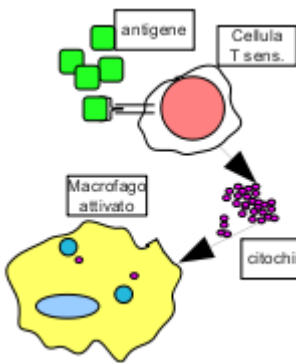
in questo caso si tratta di una reazione legata alla attività cellulare e non alla attività anticorpale, sappiamo infatti che le cellule T CITOTOSSICHE possono agire, in situazioni normali, contro:

- cellule infettate da virus.
- cellule tumorali.

nel caso in cui il bersaglio sia invece INTRACELLULARE allora la REAZIONE SARÀ LEGATA A MODALITÀ DI ATTACCO DIFFERENTI associate a FATTORI FLOGISTICI e quindi ad una infiammazione.

due tipici esempi di questo tipo di reazioni sono:

- ALLERGIA DA CONTATTO.
- REAZIONE TUBERCOLINICA, spesso utilizzata come prototipo per descrivere altre situazioni cliniche.



LA ALLERGIA DA CONTATTO:

il termine allergia è un termine generico e in questo caso almeno non ha nulla a che fare con reazioni di primo tipo; con questo termine si intende indicare una risposta al contatto con antigene che genera lesioni:

- a livello CUTANEO, particolarmente visibili e studiabili.
- a livello di ALTRE MUCOSE ESPOSTE soprattutto quella intestinale.

LE MANIFESTAZIONI CUTANEE sono ESTREMAMENTE DIFFERENTI DALLE REAZIONI ALLERGICHE DI PRIMO TIPO: in questo caso abbiamo un ERITEMA con desquamazione della cute DETTO ECZEMA⁴. La lesione si sviluppa in maniera RITARDATA rispetto a quanto non avvenga per gli allergeni responsabili di reazioni di primo e secondo tipo ed è necessario aspettare anche 12-24 ore per valutare questo tipo di reazione.



Eczema alla mano, si nota molto bene la desquamazione della cute caratteristica di questo tipo di manifestazione (al contrario dell'orticaria).

immagine tratta da wikipedia

Sostanze capaci di generare questo tipo risposta sono APTENI PARTICOLARI spesso presenti in sostanze utilizzate da lavoratori quali:

- VERNICIATORI.
- ADDETTI AI SERVIZI DI PULIZIA.
- FALEGNAMI.

⁴ A differenza delle ipersensibilità di primo tipo che sono caratterizzate da ORTICARIA una lesione rossastra con bolle, ma priva di distacco degli strati superficiali della cute.

- **LAVORATORI CON SOSTANZE CHIMICHE.**

Spesso si tratta di metalli quali:

- nichel.
- cromo.
- cobalto.

A prescindere da quale sia l'aptene responsabile, per le reazioni di quarto tipo possiamo distinguere_

- **REAZIONI CUTANEE** come l'eczema appunto.
- **REAZIONI INTESTINALI** anche molto diverse tra loro quali:
 - diarrea.
 - colon irritabile.
 - stipsi.

Spesso sintomi difficilmente identificabili in modo chiaro.

UNICAMENTE INDIVIDUI DI NATURA IPERESPONSIVA VANNO INCONTRO A QUESTO TIPO DI REAZIONI: si tratta naturalmente di quadri di natura multifattoriale e spesso soggetti predisposti a reazioni di terzo tipo possono essere soggetti anche a reazioni di quarto tipo.

L'APTENE:

l'aptene è un antigene incompleto che necessita, per poter attivare il sistema immunitario, di un CARRIER; oltre al carrier ci devono essere spesso fattori predisponenti quali:

- lesioni cutanee che incrementano l'esposizione.
- variazioni di pH e delle caratteristiche della CUTE che favoriscono l'esposizione.

IL CARRIER:

il carrier viene in questo caso AD ASSOCIARSI A LIVELLO DELLA CUTE in particolare ALLE STRUTTURE PROTEICHE DI MEMBRANA DELLE CELLULE VIVE DEGLI STRATI PIÙ PROFONDI DELL'EPIDERMIDE quali lucido, granuloso, spinoso e basale per esempio; a questo punto:

- l'aptene si lega alla superficie della cellula.
- viene individuato dalle cellule di Langhans⁵ generalmente ma anche da altre APC.
- queste lo captano e lo presentano al sistema immunitario.

queste cellule una volta ACQUISITO IL COMPLESSO APTENE-CARRIER e ELABORATOLO:

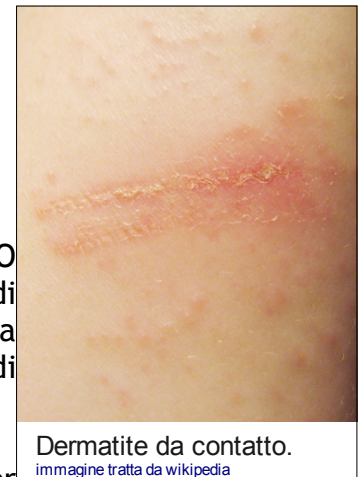
- SI SPOSTANO AL CIRCOLO LINFATICO.
- SI PORTANO AL LINFONODO.
- DANNO VITA A REAZIONI SPECIFICHE.

L'importanza del circolo linfatico è vitale: dove vengono recise anche le terminazioni linfatiche e l'organismo si esposto all'antigene, non si avrà immunizzazione.

ATTIVITÀ LINFONODALE:

le cellule di langherans chiaramente devono a questo punto INFORMARE I LINFOCITI T CORRETTI E SPECIFICI PER QUEL DATO ANTIGENE, nel caso specifico si portano a linfonodo ed spongono il loro antigene tramite cui:

- informano le CELLULE TH1 TRAMITE il complesso antigene - MHC II.
- le cellule TH1 attivate proliferano e attivano CTL specifiche che nell'arco di 3-4 giorni raggiungono livelli estremamente elevati: questo avviene grazie ad un



Dermatite da contatto.
immagine tratta da wikipedia

5 le cellule di LANGHERANS occupano una superficie consistente, rappresentano il 3% della popolazione cellulare della cute; risultano facilmente identificabili

- tramite i GRNULI DI BIRBECK.
- TRAMITE ANTICORPI ANTI MHC II.

fenomeno di SHUT DOWN dei vasi linfatici efferenti che BLOCCANDO L'EFFLUSSO DI CELLULE DAL LINFONODO NE CONSENTONO LA PROLIFERAZIONE e L'ACCUMULO.

- raggiunto un livello di proliferazione di CELLULE T adeguata, IL VASO VIENE RIAPERTO.
- LE CELLULE T SI PORTANO IN CIRCOLO.
- Raggiungono lo specifico luogo dove si colloca l'antigene.

LA REAZIONE CUTANEA:

i linfociti prodotti si portano a livello DEL DERMA dove PROVOCANO UNA REAZIONE INFIAMMATORIA CONSIDEREVOLE e raggiungono LA CUTE STESSA, complessivamente la maggior parte dei linfociti sono Th1 ATTIVATI che con la loro attività CITOCHINICA RICHIAMANO NUMEROSISSIMI MONOCITI che divengono MACROFAGI A SEGUITO DELL'EXTRAVASO; abbiamo quindi fondamentalmente:

- una FLOGOSI marcata a livello cutaneo legata alla degranolazione macrofagica.
- Una REAZIONE TISSUTALE LESIVA MOLTO GRAVE anche se localizzata all'area di contatto con l'antigene.

IL TEST:

è possibile valutare la sensibilità ad un dato aptene tramite PATCH TEST: si tratta di una esposizione all'antigene mediata da un fazzoletto imbevuto di una soluzione del possibile antigene e di sostanze oleose che viene poggiato sulla cute. La reazione viene valutata dopo 24-36 ore, massimo 48 e un patch positivo risulta chiaramente visibile.

LA REAZIONE ANTITUBERCOLINICA:

Si tratta chiaramente di un prototipo di reazione CHE IL CORPO UMANO SCATENA CONTRO agenti infettivi ENDOCELLULARI. Come noto la tubercolosi viene trasmessa per via aerea e il mycobacterium tuberculosis si porta a livello ALVEOLARE dove può:

- penetrare nel macrofago in modo diretto, senza essere fagocitato: PRESENTA UNA MOLECOLA C3bi SIMILE TRAMITE CUI PENETRA ASSOCIANDOSI AL RECETTORE CR1.
- Sopravvivere alla EVENTUALE FAGOCITOSI in quanto PRESENTA UNA PARETE PARTICOLARE ESTREMAMENTE SPESSA e resistente a numerosi tipi di attacchi.
- INIBISCE I MECCANISMI DI FUSIONE LISOSOMA-FAGOSOMA.

la tubercolosi lascia una memoria estremamente duratura, prolungata a tutta la vita.

IL BACILLO DI KOCK o MYCOBACTERIUM TUBERCOLOSIS è di difficile coltura in quanto si moltiplica con una lentezza considerevole: un tempo l'unico modo per sapere se in una data infezione polmonare era o meno coinvolto il mycobatterio, si agiva in questo modo:

- si iniettava l'espettorato dei pazienti in cavie.
- se era presente l'antigene, allora si formava localmente un nodulo.
- nell'arco di una settimana o dieci giorni il nodulo andava incontro a necrosi.
- in 40 giorni l'animale moriva.

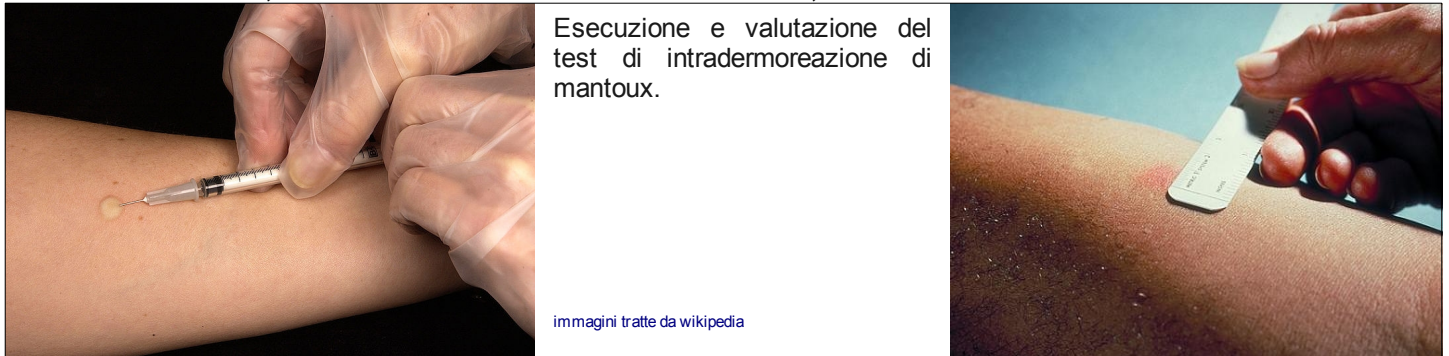
Con il tempo si osservò che nelle cavie sopravvissute alla seconda iniezione si osservava unicamente una reazione LOCALE con la formazione di un TUBERCOLO che spariva nell'arco di un paio di giorni. Con il tempo si PASSÒ AD UTILIZZARE LA TUBERCOLINA: estratto che si otteneva per coltivazione in brodo di bue del mycobatterio, eseguendo una INIEZIONE LOCALE IN ANIMALI IMMUNIZZATI, compreso l'uomo, si poteva assistere ALLA FORMAZIONE DI UNA REAZIONE LOCALE. Oggi, per testare la immunizzazione, sia derivata da un contatto diretto con l'antigene sia derivata dalla vaccinazione, si utilizza L'ANTIGENE DIRETTO DEL MYCOBATTERIO DELLA TUBERCOLOSI detto PPD (protein purified derived): se l'individuo ha incontrato il micobatterio, si SVILUPPA UNA REAZIONE CUTANEA DI QUARTO TIPO O INTRODERMO REAZIONE DI MANTOUX; la reazione si manifesta come:

- infiltrato eritemico.
- duro al contatto.

esaminando in BIOPSIA dell'eritema risulta possibile osservare:

- UNA FLOGOSI.
- UNA DISCRETA QUANTITÀ DI CELLULE.

LA REAZIONE, ESSENDO CLASSICAMENTE RITARDATA, SI OSSERVA DOPO 48-72 ore.



ALTRI ANTIGENI:

è possibile ottenere il medesimo risultato UTILIZZANDO ALTRI ANTIGENI associati ad ALTRI TEST quali:

- REAZIONE DI MITSUDA per la lebbra: si utilizza la lepromina, antigene derivato dal mycobatterio.
- CANDIDINA per la candida.
- BRUCCELLINA per la brucella.

VALE FONDAMENTALMENTE PER TUTTI GLI AGENTI INFETTIVI INTRACELLULARI.

LA REAZIONE:

La reazione si svolge in modo estremamente simile a quanto avviene per le reazioni relative ad allergie da contatto, in particolare possiamo dire che l'antigene stimola una risposta che coinvolge i LINFOCITI Th1 LA CUI ATTIVITÀ STIMOLA LA FLOGOSI LOCALE portando alla formazione di un infiltrato prevalentemente macrofagico. Per quanto riguarda questo tipo di reazione è fondamentale ricordare come i processi di HOMING siano estremamente specifici e tramite essi i linfociti Th si portino:

- in sede CONNETTIVALE dove è avvenuta la esposizione.
- In presenza di due ANTIGENI in punti DIFFERENTI dell'organismo, LE CELLULE cellule T SPECIFICHE MIGRANO IN MODO ESTREMAMENTE PRECISO nelle aree di propria competenza.

ad oggi sembra che TALI PROCESSI DI HOMING SIANO SPECIFICAMENTE STIMOLATI DALLA ESPOSIZIONE DI MOLECOLE APPOSITE DA PARTE DELLE STRUTTURE ENDOTELIALI stimulate da processi flogistici del connettivo.

LA AZIONE DELLE CELLULE T:

a livello della reazione extravasale potremo a questo punto trovare:

- un 10% di linfociti DI CUI LA MAGGIOR PARTE Th1.
- Altre tipologie cellulari TRA CUI SOPRATTUTTO MACROFAGI.

LE CELLULE T CHIARAMENTE NON POSSONO ATTACCARE IL BATTERIO INTRACELLULARE, MA POSSONO:

- INCREMENTARE IL RICHIAMO DI ALTRE CELLULE BIANCHE MACROFAGICHE.
- ATTIVARE ULTERIORMENTE I MACROFAGI che divengono MACROFAGI ATTIVATI:
 - di dimensioni maggiori.
 - maggiormente aggressivi.

UN FATTORE DI ATTIVAZIONE FONDAMENTALE a questo proposito È L'INTERFERON GAMMA: questo viene prodotto in grande quantità dalle cellule TH1.

I fattori chemiotattici prodotti in loco possono appartenere alle classi più diverse:

- CC con due cisteine vicine come la EOTAXINA.
- CXC con due cisteine poste in vicinanza come la IL8.
- C che presentano una cisteina.
- CX3C che presentano tre amminoacidi posti tra due cisteine.

Ciascuna citochina presenta poi il suo specifico recettore; giocano in ogni caso un ruolo fondamentale alcune citochine specifiche quali:

- RANTES prodotte dai macrofagi e a potere attivante sui linfociti.
- MCP monocyte chemotactic proteins che attivano cellule T e cellule NK.
- MIP o macrophage inflammatory protein che incrementa la attivazione di granulociti.

Si tratta di molecole ad azione specifica.

LA TRASFORMAZIONE DEL MACROFAGO:

la trasformazione del macrofago a macrofago attivo avviene nel momento in cui vi sia una coattivazione tra linfociti T e MACROFAGI; questo avviene per esempio a seguito di un incremento della patogenicità di un batterio soprattutto di natura intracellulare e a seguito di tale attivazione si può avere la formazione di cellule GIGANTI:

- molto grandi.
- multinucleate con nuclei posti in periferia.

si tratta di un segno DEL FATTO CHE LA REAZIONE STA PROCEDENDO IN SENSO GRANULOMATOSO: un granuloma è una reazione infiammatoria molto consistente caratterizzata dalla presenza di mononucleati e cellule giganti⁶.

IL TEST:

come accennato il test di intradermoreazione ha significato unicamente in quanto ci consente di determinare se vi sia stato o meno un precedente contatto con il mycobacterium tuberculosis o con il vaccino antitubercolare. A prescindere da quanto detto nel caso in cui un individuo risulti NEGATIVO AL TEST DI INTRADERMOREAZIONE e si intendano eseguire altre analisi, è possibile eseguire altri test:

- si fanno reagire i linfociti T con L'ANTIGENE TUBERCOLINICO, se le cellule BLASTIZZANO, C'È STATA UNA ESPOSIZIONE PRECEDENTE.
- SI POSSONO RICERCARE CITOCHINE derivate dalle CELLULE Th1, in particolare INTERFERON GAMMA che gioca un ruolo fondamentale nella risposta contro la tubercolosi.

la MANCANZA DI UNA REAZIONE CUTANEA PUÒ ESSERE DETERMINATA DA UNA IPOPRODUZIONE DI CHEMOCHINE, altra possibilità è quella che eseguendo DUE TEST A DISTANZA il primo risulti positivo e il secondo negativo, un effetto di questo tipo si potrebbe spiegare per la presenza di:

- TERAPIE IMMUNODEPRESSIVE come cortisonici.
- HIV.
- LINFOMI delle cellule T in particolare.

IL VACCINO PER LA TUBERCOLOSI:

Il vaccino non è un vaccino derivato in modo specifico dal mycobatterio, si tratta infatti di un bacillo differente detto BCG O BACILLUS CALMETTE GUÉRIN, simile al mycobacterium tuberculosis ma differente. La vaccinazione è consigliata:

- per chi vive in comunità.

6 Il medesimo tipo di reazione si verifica per la TUBERCOLOSI e la LEBBRA.

- per chi si sposta in paesi ove la tubercolosi sia pandemica.

può essere pericoloso per alcuni pazienti immunodepressi in particolare dove è capace di dare una BCGite, patologia molto simile ad una tubercolosi vera e propria. L'efficacia di questo vaccino è valutabile intorno al 60-80%.

VALUTAZIONE DELLA IPERREATTIVITÀ.

si esegue tramite un MULTITEST per cui si espone un individuo a diversi antigeni tipicamente presenti nell'ambiente e si valuta la sua REAZIONE.

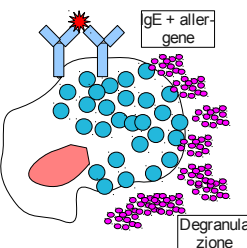
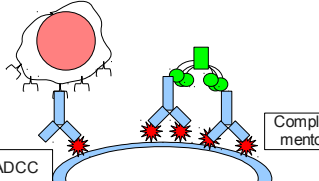
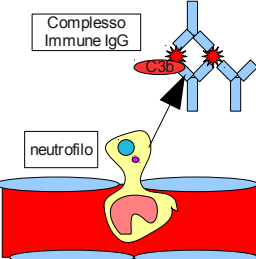
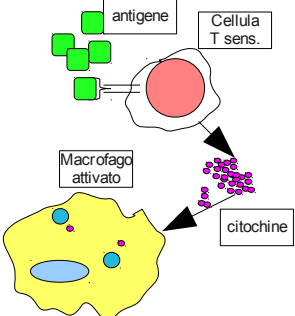
LA VALUTAZIONE DEI PRICK TEST:

un prick test può divenire indicativo non solo per reazioni allergiche di primo tipo, ma anche per reazioni di natura differente:

- se dopo 15 minuti dalla somministrazione dell'antigene è presente un eritema allora il test è positivo per una ipersensibilità di primo tipo.
- se dopo 5-6 ore si osserva un rigonfiamento:
 - duro.
 - Caratterizzato da un infiltrato di polimorfonucleati.

Il paziente risulta positivo per una ipersensibilità di TERZO TIPO e si tratta di fatto di una reazione di Arthus.

- se dopo 48-72 ore si osserva una lesione simile alla precedente, ma caratterizzata da un infiltrato costituito principalmente di MACROFAGI e LINFOCITI allora il paziente sarà positivo per una ipersensibilità di quarto tipo.

			
<p>TIPO PRIMO</p>	<p>TIPO SECONDO</p>	<p>TIPO TERZO</p>	<p>TIPO QUARTO</p>
<p>Ipersensibilità mediata da IgE</p>	<p>Ipersensibilità mediata da risposta citotossica indotta da IgG</p>	<p>Ipersensibilità mediata da complessi immuni.</p>	<p>Ipersensibilità mediata da risposta cellulare.</p>
<p>L'antigene associato alle IgE si lega alla membrana di basofili e mastocellule stimolandone la degranulazione.</p>	<p>Antigeni diretti contro bersagli cellulari ne provocano la distruzione tramite ADCC o COMPLEMENTO.</p>	<p>Complessi immuni di piccole dimensioni si innestano in diversi tessuti dell'organismo stimolando una risposta infiammatoria mediata da neutrofili.</p>	<p>Cellule Th1 attivate producono citochine che stimolano la attività di macrofagi e altre cellule T.</p>
<p>Tipiche manifestazioni sono anafilassi locali e sistemiche quali: SOA. shock anafilattico.</p>	<p>Tipiche manifestazioni sono: trasfusioni di sangue non compatibile. Malattia emolitica del neonato. Anemia emolitica autoimmune.</p>	<p>Tipiche manifestazioni sono: Arthus. Malattia da siero. Vasculiti. Artrite reumatoide. Lupus eritematoso sistemico. Glomerulonefrite.</p>	<p>Tipiche manifestazioni sono: allergie da contatto. Reazione alla tubercolina.</p>

TOLLERANZA E AUTOIMMUNITÀ

I fenomeni di autoimmunità in generale presentano una incidenza sulla popolazione non maggiore al 2-3%; nel restante 98-97% della popolazione il sistema immunitario funziona quindi alla perfezione: in questi individui avviene un NORMALE ATTIVO RICONOSCIMENTO DEL SELF E DI TOLLERANZA RISPETTO ALLO STESSO come dovrebbe accadere. La chiave del fenomeno di tolleranza, alterato nei fenomeni di autoimmunità, risiede principalmente NEI LINFOCITI T che, come sappiamo, influenzano il comportamento di tutto il sistema immunitario.

LA TOLLERANZA NEI BOVINI:

TRA I BOVINI È MOLTO FREQUENTE CHE VI SIANO DELLE GRAVIDANZE GEMELLARI BIOVULARI: durante tali gravidanze LE PLACENTE dei due feti COMUNICANO TRA DI LORO e i CIRCOLI SANGUIGNI DEI DUE FETI STESSI COMUNICANO TRA LORO. Si osserva normalmente in questi individui un FENOMENO DI TOLLERANZA RECIPROCA per tutti gli antigeni circolanti dei due bovini.

Anche NELL'UOMO IL CHIMERISMO ESISTE, è possibile, infatti, che vi siano comunicazioni, anche se di piccolissima entità, TRA CELLULE MATERNE E FETALI:

- LA MADRE PUÒ AVERE DEI LINFOCITI FETALI.
- IL FETO PUÒ AVERE DEI LINFOCITI MATERNI.

è possibile stabilire se vi sia stato o meno un passaggio di cellule tra i due organismi in questo modo:

- sfruttando la presenza o assenza di cromosomi sessuali, chiaramente questo metodo risulta utilizzabile unicamente in caso di feto di sesso maschile.
- Sfruttando le differenze MADRE-FETO relativamente agli MHC esposti dalle cellule in questione.

Seppur raro e di scarso significato diagnostico immediato, questo fenomeno esiste E SI PENSA CHE ALCUNE PATOLOGIE AUTOIMMUNI SI BASINO PROPRIO SULLA RIATTIVAZIONE DI LINFOCITI PASSATI TRA MADRE E FETO E VICEVERSA.

IL CHIMERISMO SPERIMENTALE E LA TOLLERANZA:

è possibile sfruttare il chimerismo animale come base di studio per i fenomeni di tolleranza, questo tipo di studio venne eseguito in particolare da:

- Billingham.
- Brent.
- Medawar.

negli anni '60. I tre ricercatori sperimentarono questo tipo di fenomeni osservando in particolare il rigetto murino a trapianti di cute: normalmente se si pone una cute di un topo di ceppo A su un altro topo di ceppo B, questa viene rifiutata. I ricercatori agirono in questo modo:

- inocularono dei linfociti DEL FUTURO TOPO di tipo B DONATORE nel TOPO di tipo A NEONATO.
- Attesero la crescita del topo neonato.
- eseguirono DUE TRAPIANTI DI PELLE SUL TOPO A:
 - un trapianto dal TOPO B che venne ACCETTATO.
 - un trapianto dal TOPO C che venne RIGETTATO.

QUESTO ESPERIMENTO DIMOSTRA COME LA ACCETTAZIONE DI MATERIALE TRAPIANTATO DIPENDA DA UNA TOLLERANZA e che TALE TOLLERANZA POSSA ESSERE INDOTTA UNICAMENTE IN UN DATO PERIODO DI SVILUPPO E COME LA STESSA SIA SPECIFICA PER UN DATO TIPO DI ANTIGENE associato in questo caso al donatore.

Oggi sappiamo che analogamente al topo anche per l'uomo UNICAMENTE IN UN DATO PERIODO DELLO SVILUPPO DEL FETO SI SVILUPPA LA CAPACITÀ DI DISCRIMINARE TRA SELF

E NOT SELF in modo PRECISO¹.

LO SVILUPPO DELLA TOLLERANZA:

le leggi che regolano la tolleranza sono molto diverse e la tolleranza stessa è un fenomeno dipendente da numerosi e diversi fattori:

- **LA IMMUNOINCOMPETENZA:** la tolleranza si instaura molto più facilmente nel momento in cui il soggetto sia immunoincompetente. Nel feto, vista la durata della gravidanza, il grado di immunocompetenza alla nascita è relativamente elevato, il fenomeno DEVE QUINDI AVVENIRE PRIMA DELLA NASCITA. Risulta estremamente difficile generare fenomeni di tolleranza in un individuo adulto.
- **ANTIGENE:** l'antigene presenta un ruolo fondamentale chiaramente, **GLI ELEMENTI CHE DETERMINANO LA CAPACITÀ DI TOLLERANZA PER UN ANTIGENE SONO OPPOSTI A QUELLI DETERMINANTI LA SUA ANTIGENICITÀ:**
 - **NATURA DELL'ANTIGENE** che è un elemento fondamentale, infatti:
 - è facile indurre tolleranza per antigeni T indipendenti mentre è complesso creare tolleranze per T dipendenti.
 - natura biomolecolare dell'antigene.
 - **DOSE** che risulta critica a parità di condizioni: si tratta di un fattore fondamentale da tenere in considerazione per le vaccinazioni; sappiamo infatti che nel caso in cui gli individui vengano esposti:
 - a livelli di antigene 10 volte superiori alla dose normalmente utilizzata per la vaccinazione.
 - a quantità di antigene troppo basse.

QUESTI ENTREREBBERO IN UNA FASE DI TOLLERANZA, dipendente dai diversi linfociti

possiamo dimostrare se si trova **NEI T** o nei **B:**

- se si induce una tolleranza a **BASSISSIME DOSI** le cellule responsabili del fenomeno di tolleranza sono i **LINFOCITI T** e l'efficacia di tale tolleranza è duratura nel tempo.
- Se si induce invece una tolleranza ad **ALTISSIME DOSI** i responsabili di tale fenomeno sono i **LINFOCITI B:** questo avviene normalmente per il fenomeno di inibizione della proliferazione clonale mediato da immunocomplessi.

CHIARAMENTE QUINDI È POSSIBILE CHE A SEGUITO DELLA TOLLERANZA DEI T, I POSSONO ESSERE NON TOLLERANTI: un antigene B dipendente o una stimolazione dei linfociti B può **GENERARE AUTOANTICORPI²**, in ogni caso **NON DANNO PROBLEMI SALVO CASI PATOLOGICI.**

- **STATO FISICO CHIMICO DELL'ANTIGENE:** sappiamo che l'antigene risulta maggiormente efficace se somministrato con adiuvanti.
- **VIA DI SOMMINISTRAZIONE;** risulta estremamente importante sia per la tolleranza che per vaccinazioni:
 - per via **INTRAMUSCOLO** è possibile utilizzare degli **ADIUVANTI** che incrementano il fenomeno di immunizzazione dell'individuo.
 - Per via **ENDOVENOSA**, al contrario, non è possibile somministrare adiuvanti

1 Questo è tanto vero che se in corso di gravidanza un antigene virale raggiunge il feto e raggiunge livelli tali da penetrare nel timo in via di sviluppo, si possono avere fenomeni di tolleranza rispetto ad esso.

2 Si vede **IN VITRO** semplicemente utilizzando **ANTIGENI B DIPENDENTI** che stimolano i linfociti B O UN **VIRUS DI EPSTEIN BARR** che stimola i linfociti B. Questo si verifica anche nei pazienti che soffrono di HIV dove i T non sono presenti e i B agiscono in modo indipendente.

e soprattutto l'antigene perde gran parte della sua carica antigenica per la filtrazione epatica detossificante.

LA INDUZIONE DELLA TOLLERANZA:

È possibile sperimentalmente dimostrare da quale delle due cellule, B o T, dipenda il fenomeno di tolleranza, in particolare è possibile agire come segue:

- si rende un topo immunoincompetente.
- due topi vengono esposti ALL'ANTIGENE e SENSIBILIZZATI allo stesso chiaramente.
- SI INOCULANO NEL TERZO TOPO, quello immunoincompetente:
 - LINFOCITI T DI UN TOPO 1
 - LINFOCITI B DI UN TOPO 2E si valuta una risposta normale.
- L'esperimento procede RENDENDO UNO DEI DUE TOPI IMMUNIZZATI TOLLERANTI e VALUTANDO CHE RISPOSTA SONO CAPACI DI DARE I LINFOCITI INOCULATI NEL TOPO IMMUNOINCOMPETENTE A SECONDA DEL TIPO DI TOLLERANZA INDOTTA; si scopre che:
 - se si induce una TOLLERANZA A BASSISSIME DOSI le cellule portatrici di tale tolleranza SONO I LINFOCITI T e sappiamo che una tolleranza di questo tipo È DURATURA DEL TEMPO.
 - se si induce una TOLLERANZA AD ELEVATISSIME DOSI le cellule responsabili del fenomeno SONO I LINFOCITI B in virtù dei meccanismi di inibizione associati alla formazione di immunocomplessi. Tale tolleranza è meno duratura nel tempo.

TOLLERANZA CENTRALE E PERIFERICA:

è possibile che alcuni LINFOCITI T A LIVELLO DEL TIMO NON VENGANO CORRETTAMENTE SELEZIONATI:

- gli antigeni SELF cui sono altamente sensibili possono essere poco presenti in quanto non sono normalmente circolanti.
- nel corso del loro percorso non entrano in contatto con antigeni di tipo self cui sono particolarmente sensibili.

Un linfocita quindi che dovrebbe essere eliminato, e questo avviene normalmente per tutti gli esseri umani, può penetrare in circolo in forma attiva. Il motivo per cui solo il 2-3% della popolazione evolve fenomeni di natura autoimmune è legato al fatto che ESISTONO DUE SISTEMI DI TOLLERANZA DISTINTI.

LA TOLLERANZA CENTRALE:

si tratta del meccanismo di selezione centrale dei linfociti T precedentemente accennato: i linfociti T che nascono nel MIDOLLO possono riconoscere di fatto TUTTI I TIPI DI ANTIGENI, anche quelli di tipo self, questo in quanto complessivamente possiedono TCR sensibili a diversi tipi di antigeni; il fenomeno di tolleranza non è infatti di competenza midollare. Il fenomeno di tolleranza è di DIPENDENZA TIMICA come accennato in precedenza: alla selezione timica sopravvivono infatti unicamente i linfociti T capaci di riconoscere il nostro MHC di classe II e di riconoscere in modo IMPRECISO i nostri stessi antigeni.

TOLLERANZA SESSO SPECIFICA:

è possibile generare dei linfociti murini T capaci di ESPORRE UN TCR SPECIFICO PER UN ANTIGENE SELF, nello studio di questo tipo di fenomeni si decise, per la sua particolare natura, di creare dei linfociti T CAPACI DI RICONOSCERE DEGLI ANTIGENI SESSO SPECIFICI diretti verso l'antigene Y. Questi cloni artificialmente prodotti vennero chiaramente SELEZIONATI A LIVELLO TIMICO, in particolare:

- l'antigene Y nel MASCHIO È UBIQUITARIO E IL LINFOCITA T VIENE NEGATIVAMENTE SELEZIONATO in quanto presenta una elevata capacità di riconoscere un antigene di tipo self.

- l'antigene Y è assente NELLA FEMMINA e di conseguenza il LINFOCITA VA INCONTRO AD UNA SELEZIONE POSITIVA che NE CONSENTE LA SOPRAVVIVENZA: a livello periferico è possibile individuare IL LINFOCITA T Y SENSIBILE.

Naturalmente nel caso in cui l'esperimento venga ripetuto creando un linfocita T dotato di MHC non identico a quello del topo, IL LINFOCITA T Y SENSIBILE MUORE IN OGNI CASO a prescindere dalla presenza o assenza dell'antigene.

LA TOLLERANZA PERIFERICA:

La tolleranza periferica è mantenuta dalle cellule T-REG: si tratta di cellule regolatrici di tipo T che passano attraverso il TIMO e vengono selezionate, sono presenti in misura minima, ma sono estremamente importanti; si possono classificare in tre grandi categorie:

1. CD4: si tratta di una particolare categoria di CD4, sono infatti:
 1. CD25 POSITIVE, cioè presentano la catena alfa del recettore per IL2.
 2. FOXP3 POSITIVE che è il marker specifico delle cellule regolatrici.
2. CD8 particolari che sono:
 1. CD25 POSITIVE, cioè presentano la catena alfa del recettore per IL2.
 2. FOXP3 POSITIVE.
3. TH3 che presentano la capacità di PRODURRE:
 1. TGF beta.
 2. IL10.

fondamentalmente possono AGIRE O TRAMITE CONTATTO DIRETTO o TRAMITE SECREZIONE DI INTERLEUCINE CAPACI DI DARE FENOMENI DI REGOLAZIONE rispetto alle ALTRE CELLULE LINFOCITARIE.

QUESTE CELLULE SONO FONDAMENTALI PER IL CONTROLLO DEI FENOMENI DI AUTOIMMUNITÀ.

DIMOSTRAZIONE DELLA ESISTENZA DELLA TOLLERANZA PERIFERICA:

LA PRESENZA DI UN SISTEMA DI CONTROLLO PERIFERICO È STATA DIMOSTRATA CON TOPI TRANSGENICI, in particolare è stato possibile creare DUE DISTINTE COLONIE DI TOPO:

- LA PRIMA COLONIA capace di sintetizzare il lisozima umano; tali topi:
 - non presentavano linfociti T capaci di attaccare il lisozima in quanto tale composto veniva riconosciuto come SELF.
 - Non reagivano alla presenza di lisozima esogeno.
- LA SECONDA COLONIA capace di SINTETIZZARE ANTICORPI ANTI LISOZIMA specifici e funzionanti: questo fu possibile grazie alla creazione di linfociti B specifici contro quel dato antigene e non tramite una normale sensibilizzazione, questi topi, quindi, non presentavano LINFOCITI T SPECIFICI ATTIVATI CONTRO IL LISOZIMA.

LA CREAZIONE DELL'IBRIDO:

l'osservazione definitiva venne alla luce con la produzione di un ibrido tra le due colonie di topi citate in precedenza: teoricamente la capacità da parte dei linfociti B di produrre anticorpi anti lisozima avrebbe dovuto generare delle risposte autoimmuni molto forti, ma, stranamente, questo non avvenne. Ad una più attenta osservazione i ricercatori si resero conto che:

- i topi ibridi NON PRODUCONO ANTICORPI contro LO SPECIFICO ANTIGENE.
- Se si prelevano i linfociti B di questi topi:
 - PRESENTANO IMMUNOGLOBULINE DI SUPERFICIE COMPATIBILI CONTRO L'ANTIGENE.
 - NON PRODUCONO IMMUNOGLOBULINE SOLUBILI.

QUINDI ESISTE UNA TOLLERANZA PERIFERICA CAPACE DI BLOCCARE I CLONI di LINFOCITI B IN QUESTIONE.

LA AUTOIMMUNITÀ

I fenomeni di autoimmunità, quindi, sono fenomeni che si instaurano per IL FALLIMENTO

DEI MECCANISMI DI TOLLERANZA PERIFERICA che dovrebbero inibire la reazione del sistema immunitario contro antigeni di natura self. Per quanto riguarda i fenomeni di AUTOIMMUNITÀ possiamo dire che si verificano in ambiti molto diversi e interessano discipline molto diverse, in ogni caso le patologie di natura autoimmune si possono classificare in:

- **FORME ORGANO SPECIFICHE** che colpiscono diversi organi soprattutto di natura ENDOCRINA quali:
 - tiroide.
 - ghiandole surrenali.
 - pancreas.

ma anche altri organi quali organi sessuali, apparato digerente, encefalo, occhi o anche il cuore: ad oggi si conoscono malattie autoimmuni capaci di colpire fondamentalmente tutti i tipi gli organi dell'organismo umano.

- **FORME ORGANO ASPECIFICHE**, generalmente indicate come CONNETTIVITI, ricordiamo fondamentalmente sei patologie:
 - **ARTRITE REUMATOIDE** che colpisce circa l'1% DELLA POPOLAZIONE, presenta una incidenza molto elevata.
 - **LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO.**
 - **SINDROME DI SJOGREN** che colpisce principalmente le ghiandole esocrine, in particolare le ghiandole salivari e le ghiandole lacrimali. Si può presentare in due forme:
 - come una patologia a se stante e si parla di sindrome di Sjogren primaria.
 - Come una complicanza di patologie di natura reumatica come una artrite reumatoide o Lupus eritematoso sistemico e si parla di sindrome di Sjorgen secondaria.

Manifestazioni tipiche possono essere secchezza orale e dell'occhio, inoltre tale patologia può generare secchezza delle mucose nasale, cutanea e vaginale ed arrivare ad interessare altri e diversi organi quali rene, polmoni, fegato, encefalo.

- **SCLERODERMIA** patologia molto pericolosa, esiste in due forme distinte:
 - **SCLERODERMA LIMITATO ALLA CUTE** le cui manifestazioni sono fondamentalmente cutanee (anche se si registra a volte una ipertensione polmonare).
 - **SCLERODERMA CUTANEO DIFFUSO** che interessa vaste aree della cute e uno o più organi interni tra cui polmoni, reni, cuore ed esofago. Molto spesso fatale.

A prescindere da quale sia la forma della patologia, le lesioni cutanee sono di colore scuro, lisce e dure al tatto nonché immobili.

- **DERMATOMIOSITE:** si tratta di una patologia infiammatoria di cute e muscoli che può presentarsi come una patologia a se stante o in associazione ad altre patologie di natura autoimmune come lupus o simili.
- **PEMFIGO VOLGARE E PERMFIGOIDE** molto pericolose, si tratta di patologie associate alla cute.

Naturalmente tra le due categorie non sono presenti discriminazioni nettissime e gli elementi che avvalorano tale classificazione sono chiaramente:

- **LOCALIZZAZIONE DELL'ANTIGENE**
 - localizzato in un organo e si parla di malattie **ORGANO SPECIFICHE.**
 - diffuso a tutto l'organismo e si parla di malattie **ORGANO ASPECIFICHE.**



- LOCALIZZAZIONE DELLE LESIONI:
 - specifiche di un organo e si parla di malattie ORGANO SPECIFICHE.
 - diffuse con complessi immuni che si depositano a livello renale, nelle articolazioni e nella cute e si parla di malattie ORGANO ASPECIFICHE.

FATTORI PREDISPONENTI:

i fattori predisponenti per quanto riguarda questo tipo di patologie sono numerosi, si tratta infatti di PATOLOGIE MULTIFATTORIALI nelle quali giocano un ruolo molto importante fattori ereditari, ma non solo, tanto che si parla di PREDISPOSIZIONI GENERICHE ALLA AUTOIMMUNITÀ. È possibile valutare LA PRESENZA DI TALI FATTORI DI PREDISPOSIZIONE in quanto si estrinseca nella presenza di AUTOANTICORPI in persone imparentate con malati, ma che ancora non presentano sintomi specifici. Con il tempo si è cercato di INDIVIDUARE DEI MARKER CHE POTESSERO DETERMINARE UNA MAGGIORE O MINORE PREDISPOSIZIONE ALL'AUTOIMMUNITÀ; tale ricerca si è basata principalmente su:

- HLA che come sappiamo è coinvolto in tutti i meccanismi della IMMUNITÀ, non si tratta in ogni caso di COLLEGAMENTI DIRETTI, bensì di INCREMENTO DI FATTORI DI RISCHIO. Tra questi fattori in particolare hanno una grande influenza gli HLA DI CLASSE II, ricordiamo in particolare:
 - LA ETEROZIGOSI DR/DR4 PREDISPONE IN GENERALE A PATOLOGIE DI NATURA AUTOIMMUNE.
 - IL DIABETE DI TIPO I di natura autoimmune è una patologia autoimmune associata alla produzione di anticorpi contro le cellule beta del pancreas. Si tratta di pazienti che fin da piccoli sono insulino dipendenti, per questi soggetti si sono ricercati marker maggiormente specifici utili nel counselling genetico e in particolare oggi sappiamo si tratta di MODIFICHE DELL'AMMINOACIDO IN POSIZIONE 57 DELLA CATENA BETA DEL DQ. Possiamo dire che:
 - normalmente i pazienti sani presentano un ASPARTATO in tale posizione.
 - nei pazienti predisposti al diabete o diabetici dalla nascita o comunque autoimmuni, si riscontra la presenza di:
 - valina.
 - serina.
 - alanina.

si utilizzano generalmente DEI PRIMERS SELETTIVI PER QUESTE SEQUENZE. Questo tipo di metodo consente unicamente di determinare la presenza di un fattore di predisposizione che deve essere poi adjuvato da altri fattori per portare alla insorgenza di patologie autoimmuni.

- ESISTONO DEI CLASTERS DI POPOLAZIONE PARTICOLARMENTE SOGGETTI PER PATOLOGIE AUTOIMMUNI, sicuramente ricordiamo:
 - SARDEGNA.
 - FINLANDIA.

Si tratta sicuramente di una commistione di BASI GENETICHE ED AMBIENTALI.

- La presenza di fattori ambientali MOLTO IMPORTANTI è sicuramente dimostrata dal fatto che con l'avvento della globalizzazione e l'incremento dei fenomeni migratori LA PERCENTUALE DI INCIDENZA DELLE PATOLOGIE AUTOIMMUNI È DECISAMENTE AUMENTATA.

MODELLI ANIMALI:

esistono numerosi animali in cui TALI PATOLOGIE EMERGONO NORMALMENTE, fondamentalmente è possibile determinare CHE IN TUTTE LE FORME SPONTANEE DI



AUTOIMMUNITÀ LA PATOLOGIA NON COMINCIA AL PRIMO GIORNO DI VITA, MA SI SVILUPPA CON IL TEMPO, di conseguenza:

- i fattori genetici sono presenti e importanti.
- i fattori ambientali sono fondamentali.

per esempio il LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO compare con una incidenza decisamente maggiore (di 10 volte) nelle DONNE TRA I 20 E 30 ANNI MA IN LINEA GENERALE POSSIAMO DIRE CHE la predisposizione A PATOLOGIE AUTOIMMUNI È PALESE NELLE DONNE in particolare per il lupus, come appena sottolineato, ma anche per molte altre patologie della medesima natura.

I TOPI NZW/NZB:

si tratta di topi utilizzati per lo studio di patologie quali la malattia emolitica autoimmune, in particolare possiamo distinguere:

- NEW ZELAND WHITE: si tratta di topi che presentano spontaneamente una MALATTIA EMOLITICA AUTOIMMUNE a 6-7 mesi dalla nascita.
- NEW ZELAND BLACK che crescono invece in modo normale.

INCROCIANDO QUESTI DUE TIPI DI TOPO SI OTTIENE UN ANIMALE CHE SVILUPPA UNA PATOLOGIA AUTOIMMUNE ESTREMAMENTE SIMILE AL LUPUS UMANO caratterizzata da:

- anticorpi anti DNA.
- problemi RENALI legati al deposito di immunocomplessi.

POLLI di ceppo OBESO:

polli di CEPPO OBESO presentano UNA ELEVATA PREDISPOSIZIONE ALLA MALATTIA AUTOIMMUNE DELLA TIROIDE, patologia autoimmune simile alla TIROIDITE DI HASHIMOTO umana.

PATOLOGIE DI NATURA AUTOIMMUNE:

si tratta di meccanismi che sono coinvolti anche in fattori di reazioni di primo, secondo, terzo o quarto tipo, in particolare:

- le REAZIONI DI PRIMO TIPO si possono manifestare in contemporanea a manifestazioni di natura autoimmune, ma non sono mai associate in modo causale.
- REAZIONI DI II, III e IV TIPO si possono manifestare come concause o in ogni modo come patologie strettamente associate tra loro; un tipico esempio è il LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO che di fatto si manifesta come una MALATTIA DA SIERO CRONICA.

REAZIONI AUTOIMMUNI DI II TIPO:

la risposta citotossica indotta da IgG è strettamente associata a patologie di natura autoimmune, in particolare ricordiamo in questa sede alcuni casi.

ANEMIA EMOLITICA AD ANTICORPI CALDI:

l'organismo produce anticorpi diretti contro antigeni presenti sulla superficie dei globuli rossi, fondamentalmente si ha la lisi del globulo rosso o la sua deformazione che porta di fatto ad una anemia che può divenire clinicamente molto grave. Si distingue dalla anemia emolitica ad anticorpi freddi in quanto queste agglutinine sono attive a 37°C.

MIASTENIA GRAVIS:

si tratta di una patologia ORGANO SPECIFICA piuttosto seria per la quale VENGONO PRODOTTI ANTICORPI CONTRO IL RECETTORE ACETILCOLINERGICO NICOTINICO MUSCOLARE; risulta impossibile la trasmissione dell'impulso contrattile e si assiste a:

- paralisi flaccida della muscolatura.

- ptosi palpebrale.
- morte per paralisi dei muscoli respiratori.

Fondamentalmente l'autoanticorpo stimola una reazione litica rispetto al suo bersaglio:

- si attiva il complemento e tutto il complesso recettoriale va incontro a lisi, il recettore di fatto sparisce dalla membrana.
- La associazione antigene anticorpo stimola la aggregazione dei recettori presenti sulla membrana e la loro ENDOCITOSI.

In ogni caso viene meno il pool recettoriale necessario al corretto funzionamento della sinapsi neuromuscolare.

IPERTIROIDISMO DI GRAVES:

come sappiamo la tiroide produce degli ormoni la cui sintesi è iodio dipendente; la produzione di questi ormoni è sotto IL CONTROLLO DELLA IPOFISI ANTERIORE O ADENOIPOFISI che produce L'ORMONE STIMOLANTE LA TIROIDE O TSH: TIROXINA E TRIIODOTIRODINA presentano una azione a FEEDBACK che inibisce la produzione da parte della ipofisi di TSH. Individui affetti da questo tipo di patologia PRODUCONO AUTOANTICORPI ANTI RECETTORE DEL TSH ad azione competitiva rispetto all'ormone stesso, stimolano cioè costitutivamente la tiroide. Conseguono quindi:

- una iperproduzione di T3 E T4.
- turbe cardiovascolari quali PROBLEMI CARDIACI E IPERTENSIONE.
- ANSIETÀ e altri problemi di questo genere.

naturalmente L'AUTOANTICORPO È SEMPRE PRESENTE E LA STIMOLAZIONE CONTINUA. Un ottimo metodo diagnostico prevede la ricerca di TSH circolante che è in questi soggetti presente in quantità bassissime, praticamente assente.

ANEMIA PERNICIOSA:

tale patologia si estrinseca in primis come una GASTRITE ATROFICA cui segue una ANEMIA PERNICIOSA: gli autoanticorpi prodotti sono in questo caso RIVOLTI CONTRO IL FATTORE INTRINSECO DELLA VITAMINA B12 che IMPEDISCONO AL FATTORE STESSO DI PROTEGGERE LA VITAMINA B12 E DI RENDERLA ASSORBIBILE A LIVELLO GASTRICO. Si assiste fondamentalmente a:

- una AVITAMINOSI DA VITAMINA B12
- produzione di MEGALOCITI: eritrociti di enormi dimensioni e volume molto maggiore di $90\mu\text{m}^3$.

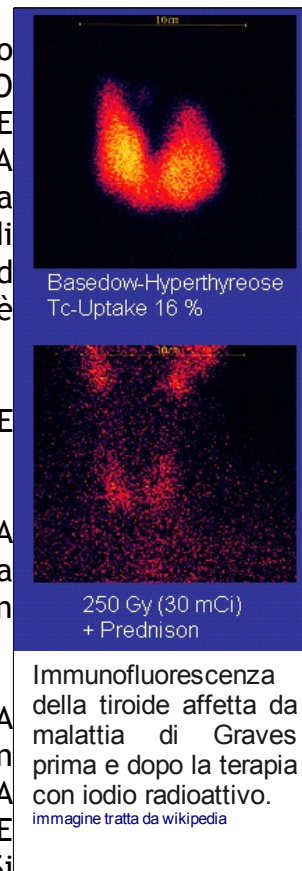
La terapia prevede normalmente la somministrazione di vitamina B12 per via endovenosa.

PEMFIGO VULGARIS:

in questo caso si producono fondamentalmente:

- anticorpi contro il I DESMOSOMI.
- anticorpi contro I MECCANISMI DI ADESIONE TRA LO STRATO BASALE e quello SPINOSO della epidermide.

A prescindere dalla causa prima, le manifestazioni cliniche si manifestano nel distacco



degli strati superficiali della cute.

SINDROME DI GOODPASTURE:

si tratta di una patologia per cui vengono prodotti autoanticorpi contro antigeni presenti a livello delle strutture dei glomeruli renali e a livello degli alveoli polmonari; fondamentalmente si estrinseca in:

- INSUFFICIENZA RENALE.
- SANGUINAMENTI ALVEOLARI ed eventualmente edema polmonare.

Possiamo dire che fondamentalmente la sintomatologia è generata dalla attivazione del sistema del complemento che danneggia direttamente le strutture cellulari e attiva fenomeni infiammatori consistenti

ALTRE PATOLOGIE:

- PRODUZIONE DI ANTICORPI CONTRO IL RECETTORE DELL'INSULINA: tale patologia genera un diabete di eziologia differente rispetto alla normale distruzione pancreaticata.
- PRODUZIONE DI ANTICORPI CONTRO IL RECETTORE BETA ADRENERGICO DI TIPO 1 PRESENTE A LIVELLO CARDIACO.

REAZIONI AUTOIMMUNI DI TERZO TIPO:

LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO:

IL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO è una tipica manifestazione autoimmune di terzo tipo, ricordiamo che tale patologia compare:

- con frequenza 10 volte maggiore nelle donne.
- tra i 20 e i 40 anni.

Gli anticorpi sono RIVOLTI CONTRO IL DNA NATIVO, non modificato, e sono i COMPLESSI DNA-ANTIGENE CHE SI DEPOSITANO IN DIVERSE REGIONI DELL'ORGANISMO A PROVOCARE LA SINTOMATOLOGIA. Sintomi tipici sono:

- VASCULITE.
- FEBBRE.
- DEBOLEZZA.
- ARTRITE.
- PLEURITE.

Come accennato in precedenza risulta distinguibile dalla sindrome di goodpasture per la peculiare disposizione degli immunocomplessi a livello renale.

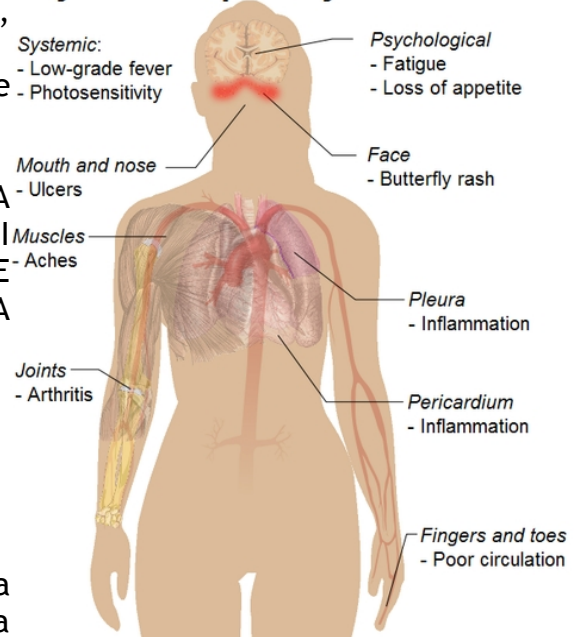
L'ARTRITE REUMATOIDE:

si tratta di una CONNETTIVITE che interessa in maniera SIMMETRICA LE PICCOLE ARTICOLAZIONI DI MANI E PIEDI, può causare:

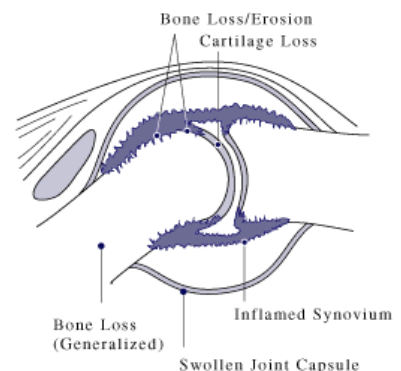
- FORTISSIME DEFORMAZIONI ARTICOLARI.
- ALTRE DEFORMAZIONI IN DISTRETTI DIFFERENTI ma di minore gravità.

anche in questo caso i pazienti sono principalmente DONNE e la causa È IL DEPOSITO DI IMMUNOCOMPLESSI A LIVELLO

Most common symptoms of **Systemic lupus erythematosus**



Joint Affected by Rheumatoid Arthritis



DELLA SINOVIA:

- la sinovia si inspessisce.
- si gonfia la articolazione.
- si hanno dolori molto forti.
- Segue la erosione delle strutture articolari e cartilaginee.

Oggi sappiamo che la causa di questo tipo di patologia è legata alla formazione di immunocomplessi solubili legati alla produzione di IMMUNOGLOBULINE ANTI IgG, generalmente in forma di IgM, che si depositano sulla sinovia delle articolazioni mediando reazioni infiammatorie potentissime. Oltre al fattore reumatoide tra le cause



REAZIONI AUTOIMMUNI DI QUARTO TIPO:

TIROIDITE DI HASHIMOTO:

si tratta di una delle patologie autoimmuni più comuni in assoluto, si manifesta come:

- senso di tensione al collo.
- Spesso la patologia assume un rilievo clinico.
- compare con il tempo un INFILTRATO DI TIPO LINFOCITARIO che si sviluppa fino a formare dei FOLLICOLI GERMINATIVI SIMILI A QUELLI DEGLI ORGANI LINFODI.
- si ha una PROGRESSIVA DISTRUZIONE DELLE STRUTTURE TIROIDEE per cui si perde completamente la funzione della tiroide.

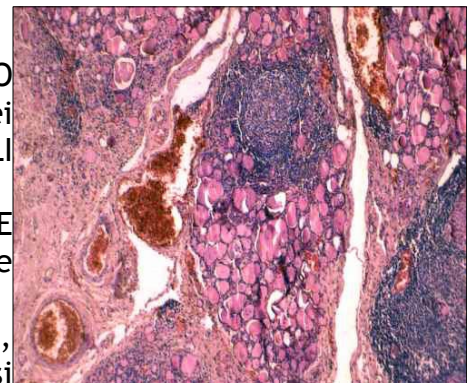
Naturalmente si manifesta come un forte ipotiroidismo, al contrario dell'ipertiroidismo si graves. La diagnosi viene eseguita inizialmente RICERCANDO DEGLI AUTOANTICORPI che sono MARKERS ESTREMAMENTE UTILI, MA NON HANNO UN RUOLO REALE NELLA PATOLOGIA, si tratta infatti di ANTICORPI:

- rivolti CONTRO IL T4.
- Rivolti CONTRO LA TIREOPEROSSIDASI.

Presenti a monte del quadro patologico, ma che non ne sono direttamente responsabili, si tratta, infatti, di una patologia associata ad una risposta citotossica. Con l'andare del tempo si osservano ovviamente:

- aumento del TSH.
- decremento degli ormoni tiroidei.

MORBO DI CROHN:



Istologia di una tiroidite di Hashimoto, si nota la distruzione delle cellule presenti nei lobi della tiroide.

immagine tratta da wikipedia

si forma per infiltrazioni linfomonocitarie a livello di tutto colon e del pancreas, analogamente al caso precedente si possono osservare anticorpi prodotti contro specifici



COMPRENDERE QUALE SIA IL DANNO REALE:

è possibile determinare quale sia il problema reale e dove risieda sulla base di fattori sperimentali e clinici; un tipico esempio riguarda la patologia della tiroide:

- TIROIDITE DI II TIPO: il bambino nato da madre affetta da questa patologia presenta una tiroidite transitoria che sparisce con gli anticorpi della madre.
- TIROIDITE DI HASHIMOTO: la situazione reale si può ricostituire in laboratorio inoculando i linfociti T incriminati con antigeni appositi, approccio analogo può essere utilizzato per le patologie di TERZO TIPO.

LE POSSIBILI CAUSE DI FENOMENI DI AUTOIMMUNITÀ:

le malattie autoimmuni SI SVILUPPANO CON IL TEMPO e, come accennato precedentemente, SONO SPESSO CAUSATE DAL CALO DELLA ATTIVITÀ PERIFERICA DI CONTROLLO la cui causa può essere a sua volta associata a diversi fattori:

- L'ANTIGENE può essere causa di questo tipo di fenomeni:
 - l'antigene può essere normalmente sequestrato dai territori linfatici e vascolari, per esempio:
 - NEL DOTTO DEFERENTE in particolare grazie alla barriera ematotesticolare, rotture di questo equilibrio possono essere causate da:
 - vasectomia con legatura del dotto che può rompersi e portare al contatto tra gli spermatozoi e il sangue.
 - traumatismi del dotto deferente.
 - NELL'OCCHIO in particolare sono privi di accesso al circolo:
 - cornea.
 - congiuntiva.
 - CRISTALLINO che ne risulta completamente isolato.
 - TRAUMI A LIVELLO DELL'OCCHIO possono portare alla ROTTURA DEL CRISTALLINO i cui frammenti si portano in circolo:
 - il sistema immunitario si sensibilizza agli antigeni del cristallino.
 - Si possono verificare delle REAZIONI IMMUNITARIE CONTRO IL CRISTALLINO STESSO.
 - Il paziente va incontro ad una OFTALMIA SIMPATICA che interessa entrambi gli occhi: gli autoantigeni prodotti attaccano infatti il cristallino.
 - MIMETISMO MOLECOLARE: si verifica nel momento in cui ha accesso al sistema

immunitario un antigene che è simile ad un autoantigene; gli antigeni coinvolti possono essere BATTERICI O VIRALI O ADDIRITTURA FARMACEUTICI:

- LA SCLEROSI MULTIPLA, malattia neurodegenerativa molto frequente, è caratterizzata dalla presenza nel liquor dei anticorpi diretti contro il virus del morbillo: è ormai quasi accertato che vi sia una CROSS REATTIVITÀ TRA ANTIGENI DEL MORBILLO e PROTEINA BASICA MILINICA, tale cross reattività sarebbe alla base della degradazione della mielina stessa.
- DIABETE DI TIPO I: sembra che antigeni delle cellule beta siano cross reattivi con antigeni del coxsaeckie virus.
- ALTOMET: si tratta di un farmaco che se preso con continuità per periodi di mesi produce delle ANEMIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI dove il target degli anticorpi è legato all'Rh. Le teorie avvalorate per questo fenomeno sono due fundamentalmente:
 - il farmaco presenta una CROSS REATTIVITÀ con l'Rh.
 - Il farmaco DEFORMA L'Rh rendendolo di fatto percepibile come not self.

Per quanto riguarda questi casi è importante sottolineare il fatto che mentre moltissimi individui in una popolazione sono nel corso della vita affetti da patologie come il morbillo, non tutti sviluppano anticorpi anti proteina basica della mielina: si tratta infatti di PATOLOGIE MULTIFATTORIALI e giocano un ruolo molto importante altri e diversi fattori.

- QUALUNQUE SIA L'OBIETTIVO ANTICORPALE FINALE nel momento in cui si abbia una patologia autoimmune SI AVRÀ UN CALO DELLA ATTIVITÀ DEI Treg PERIFERICI: la differenza tra persone che presentano o meno patologie autoimmuni sembra sia legata
 - INIZIALMENTE alla presenza di UN SOLO AUTOANTICORPO.
 - IN SEGUITO con lo sviluppo della patologia AD UNO SPREADING ANTIGENICO: fundamentalmente il PAZIENTE EVOLVE ANTICORPI CONTRO ALTRI EPITOPI DI UN AUTOANTIGENE la cui presenza PEGGIORA MOLTO IL QUADRO in quanto un medesimo antigene self viene attaccato da numerosi e diversi cloni.

sembra che questo fenomeno sia legato alla ATTIVITÀ DI CELLULE DENDRITICHE CAPACI DI ESPORRE IN MODO MAGGIORMENTE SPECIFICO E MIGLIORE L'ANTIGENE CONTRO CUI È RIVOLTA LA RISPOSTA incrementandone l'efficacia.

AZIONE CLINICA:

con il tempo si sono evolute nuove terapie molto utili, soprattutto in relazione al LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO, ad oggi è possibile:

- utilizzare dei farmaci immunosoppressori: cortisonici o altri farmaci utili che presentano meno effetti collaterali rispetto ad un tempo.
- farmaci immunosoppressori come la CICLCOSPORINA maggiormente specifici di altri.

È POSSIBILE, inoltre, AGIRE IN MANIERA CAUSALE soprattutto per PATOLOGIE ORGANO SPECIFICHE che prevedono la presenza di UN SOLO ANTIGENE:

- È POSSIBILE INDURRE UNA TOLLERANZA INIZIALE SOMMINISTRANDO IMMUNOGLOBULINE: si tratta di una possibilità molto efficace, tuttavia raramente è noto quale sia l'antigene specifico contro cui è rivolta la risposta.
- SOMMINISTRARE ENORMI QUANTITÀ DI ANTIGENI in particolare a livello INTESTINALE; si è tentato di somministrare nella terapia contro il diabete di tipo I una enorme quantità di insulina proprio per questo motivo, ma la terapia fu un fallimento.

- È POSSIBILE STIMOLARE IN PRIMIS UNA REAZIONE IMMUNITARIA CONSISTENTE PER POI UCCIDERE LE CELLULE B COINVOLTE E MOLTIPLICATE CON SPECIFICI FARMACI.
- è possibile STIMOLARE LE CELLULE REGOLATRICI, in particolare si lavora in questo modo:
 - si preleva il sangue da questi pazienti.
 - si producono CELLULE T reg IN VITRO TRAMITE COLTURA.
 - si somministra il sangue ARRICCHITO IN T REG per autotrasfusione.
- esistono già oggi trials che prevedono la STIMOLAZIONE DI CELLULE STAMINALI PERIFERICHE nel tentativo di INCREMENTARE LA PRODUZIONE DI CELLULE T REG DIRETTAMENTE DA PARTE DEL PAZIENTE COINVOLTO.

I TRAPIANTI

Si tratta di una realtà ormai affermata a livello clinico, il trapianto eseguito con maggiore frequenza in assoluto, e utilizzato spesso su modelli murini, è il trapianto di DI CUTE: i topi furono le prime cavie sperimentali per questo tipo di procedure.

Dal punto di vista immunologico IL TRAPIANTO È IL TENTATIVO DI FAR ACCETTARE AD UN ORGANISMO QUALCOSA DI NON PROPRIO.

Con il termine TRAPIANTO si indicano diverse realtà:

- AUTOTRAPIANTO che non è un vero e proprio trapianto, ma si può eseguire per:
 - CUTE.
 - MIDOLLO.
 - STRUTTURE VASCOLARI.

Trattandosi di cellule proprie, non si assiste mai a reazioni immunitarie contro il trapianto.

- ISOTRAPIANTO: si tratta di un trapianto tra GEMELLI OMOZIGOTI, fondamentalmente il background genetico è il medesimo e non si hanno quindi fenomeni di rigetto.
- ALLOTRAPIANTO: si tratta di un trapianto da un'altra persona della medesima specie. A loro volta gli allotrapianti si dividono in:
 - ALLOTRAPIANTO DA VIVENTE eseguibile unicamente per organi presenti almeno in numero di due chiaramente, tale pratica è quindi eseguibile unicamente per:
 - rene.
 - fegato.
 - midollo che si fa ormai unicamente da vivente.
 - DA CADAVERE che invece si esegue per qualsiasi tipo di organo.
- XENOTRAPIANTO: trapianto da animale, si tratta di una pratica molto dibattuta dal punto di vista etico, ma vista la estrema scarsità di organi, si pensa possa essere una buona soluzione.

L'ALLOTRAPIANTO chiaramente è l'evenienza più comune a livello clinico e l'unica, eccetto lo xenotrapianto, che crea problemi seri dal punto di vista immunologico: i fenomeni di RIGETTO sono estremamente gravi in quanto compromettono il trapianto rendendolo inutile, tali fenomeni sono associati chiaramente alla incompatibilità tra donatore e ricevente, tuttavia altri fattori possono contribuire.

IL TRAPIANTO DI CUTE:

il trapianto di cute, soprattutto su animale, è sicuramente il trapianto più studiato in assoluto: si tratta di un trapianto di facile esecuzione e soprattutto facilmente valutabile. Sappiamo che se due soggetti non sono compatibili e viene eseguito un trapianto di cute, la cute trapiantata dopo alcuni giorni:

- PERDE LA SUA IRRORAZIONE.
- VA INCONTRO A NECROSI in circa 12 giorni.
- MUORE.

Il coinvolgimento del sistema immunitario in questo tipo di processi è chiaramente dimostrabile, in particolare:

- sappiamo che un secondo trapianto, eseguito utilizzando la CUTE DEL MEDESIMO DONATORE, genera una RISPOSTA SUPERACCELERATA tale per cui in circa 5-6 giorni la cute va incontro a necrosi e morte.

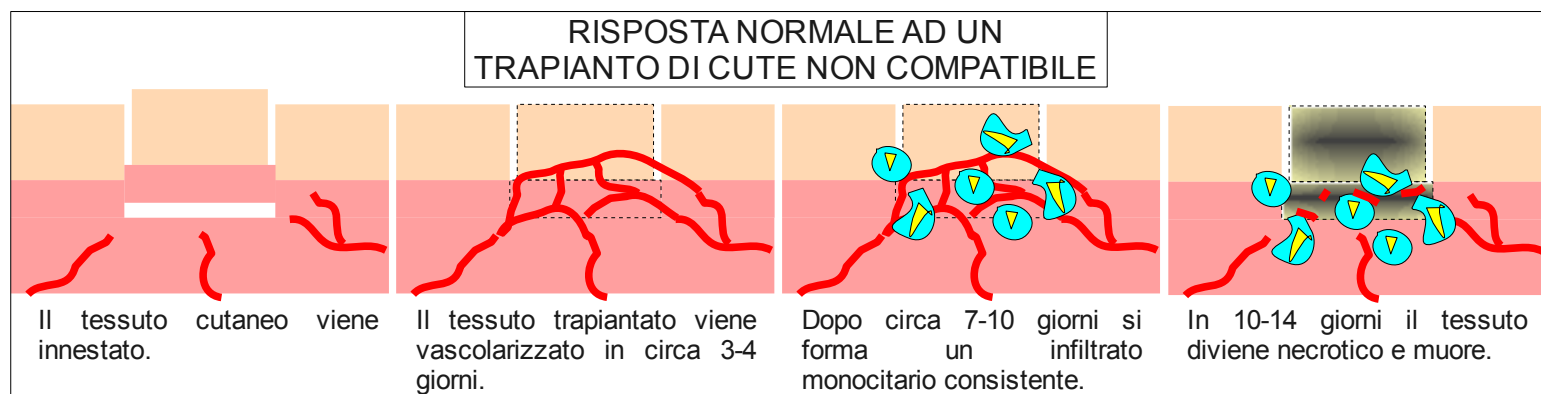


- se invece il secondo trapianto viene eseguito con una cute differente, da un diverso donatore quindi, la risposta richiederà un tempo di circa 12 giorni.
- A seguito di trapianto su un animale precedentemente sensibilizzato passivamente contro il donatore, la reazione sarà velocissima, come se si trattasse di un secondo trapianto incompatibile dal medesimo donatore.

si tratta quindi di meccanismi LEGATI ALLA IMMUNITÀ.

LA CUTE RIGETTATA:

la situazione istologica è molto differente dal normale, dove sia presente il RIGETTO, si può osservare UN INFILTRATO MONONUCLEATO ESTREMAMENTE SIMILE A QUELLO DI UNA REAZIONE DI QUARTO TIPO.



LA RISPOSTA DEI LINFOCITI T:

è sperimentalmente provato che è possibile prolungare la durata di un trapianto utilizzando degli anticorpi anti CD4 e anti CD8, che vadano cioè ad attaccare i T linfociti; in particolare:

- inoculando anticorpi anti CD8 non si ottiene alcun miglioramento.
- Inoculando anticorpi anti CD4 si ottiene un prolungamento della accettazione a 30 giorni.
- Inoculando entrambi gli anticorpi, si ottiene un prolungamento della accettazione fino a 60 giorni.

Capiamo quindi come entrambe le popolazioni siano coinvolte.

GLI ANTIGENI:

è possibile valutare come la COMPATIBILITÀ GENETICA SIA FONDAMENTALE nella accettazione del trapianto:

- TOPI IDENTICI accettano trapianti reciproci senza problemi.
- TOPI DIFFERENTI rifiutano i trapianti reciproci.
- un topo di un CEPPO può donare senza problemi ad un topo di ceppo misto.
- un topo di CEPPO MISTO non può donare ad un topo di uno dei due ceppi che ospita.

GIOCANO UN RUOLO CHIAVE GLI ANTIGENI DI ISTOCOMPATIBILITÀ che vennero per la prima volta individuati proprio in questa sede; gli antigeni CRITICI PER LA ACCETTAZIONE DEL TRAPIANTO NEL TOPO SONO:

- l'H2 murino, sostanzialmente identico all'HLA umano, sappiamo che:
 - IN CASO DI INCOMPATIBILITÀ PER QUESTO ANTIGENE, SI HA UNA REAZIONE RAPIDISSIMA.
 - IN CASO DI COMPATIBILITÀ SI HA UNA PERCENTUALE ACCETTAZIONE MOLTO

MAGGIORE anche nel caso in cui altri antigeni non risultino compatibili.

● ALTRI ANTIGENI che giocano un ruolo importante, ma molto meno fondamentale.
NELL'UOMO SI SA OGGI, soprattutto sulla base di studi sul trapianto di rene che gli ANTIGENI DI ISTOCOMPATIBILITÀ SONO FONDAMENTALI, in particolare:

- MHC I o HLA I composto di A-B-C: GIOCA UN RUOLO FONDAMENTALE IN QUESTO TIPO DI PROCESSI.
- MHC II o HLA II composto di DP-DQ-DR: GIOCA UN RUOLO FONDAMENTALE PER QUESTO TIPO DI PROCESSI.
- MHC III composto di C3, C4, B e altre molecole spesso coinvolte nel sistema del complemento, ma non solo, IL CUI RUOLO È DECISAMENTE MENO IMPORTANTE.

È INDISPENSABILE QUINDI LA TIPIZZAZIONE DI QUESTO TIPO DI MOLECOLE per i POTENZIALI DONATORI, in particolare si possono eseguire diversi test:

- TEST DI CITOTOSSICITÀ PER MHC I A-B-C:
 - si prelevano campioni di sangue del ricevente e dei donatori potenziali.
 - Si inseriscono anticorpi specifici contro dati tipi di HLA di tipo I.
 - nell'ambiente si inserisce del colorante.
 - Si inserisce nel campione del complemento di coniglio: ove il complemento di coniglio trovi un complesso immune, provocherà la apertura di pori sulle superfici cellulari e il loro rigonfiamento con il colorante inserito nel mezzo.

Nel momento in cui donatore e accettore presentino il medesimo HLA, entrambe le cellule risulteranno colorate. È possibile eseguire questo test con numerosi e diversi anticorpi naturalmente fino a tipizzare i profili del donatore e del ricevente.

- REAZIONE LINFOCITARIA MISTA PER DQ-DR-DP:
 - si utilizzano i linfociti di donatore e accettore:
 - i linfociti del donatore vengono trattati con MITOMICINA C onde impedirne la proliferazione.
 - I linfociti dell'accettore vengono invece lasciati liberi di proliferare.
 - I linfociti dei due individui vengono posti in un ambiente ricco di nucleotidi radioattivi, NEL MOMENTO IN CUI I LINFOCITI DELL'ACCETTORE NON SIANO COMPATIBILI CON QUELLI DEL RICEVENTE, allora si osserverà una reazione tale per cui TALI LINFOCITI MOLTIPLICANDOSI PRELEVERANNO UNA GRANDE QUANTITÀ DI NUCLEOTIDI RADIOATTIVI DAL MEZZO.

La incompatibilità è direttamente proporzionale all'uptake di nucleotidi radioattivi. Tale reazione, purtroppo, risulta valutabile unicamente dopo qualche giorno e in caso di trapianto da cadavere, l'attesa è decisamente troppo lunga.

OGGI SONO DISPONIBILI TEST DI BIOLOGIA MOLECOLARE PER CUI SI POSSONO VALUTARE I SINGOLI POLIMORFISMI NELL'ARCO DI QUALCHE ORA.

Anche nell'eseguire forme di tipizzazione si cerca di ottimizzare il tempo di ricerca valutando in primis:

- I GENITORI non sono sempre indicatissimi, ma si possono trovare delle compatibilità considerevoli.
- I FRATELLI sono molto importanti a riguardo.
- I FIGLI possono presentare il medesimo problema dei genitori.

in ogni caso si devono eseguire delle TIPIZZAZIONI specifiche per alcuni antigeni, in particolare possiamo dire che normalmente si tipizzano:

- ANTIGENE HLA che è sicuramente il più importante come sottolineato.
- ANTIGENI MINORI, in particolare:



- ANTIGENI LEGATI AL SESSO:
 - importanti nel trapianto da maschio a femmina in quanto il maschio presenta un cromosoma differente.
 - Assolutamente non rilevanti nel passaggio da femmina a maschio. hanno in ogni caso un potere antigenico scarso.
- ANTIGENI TESSUTO SPECIFICI, diversi antigeni possono presentare diversa antigenicità, in ordine decrescente ricordiamo:
 - MIDOLLO OSSEO.
 - CUTE molto attiva.
 - ISOLE DI LANGHERANS.
 - CUORE.
 - RENE.
 - FEGATO.è necessario quindi tener presente tutto questo: in effetti è più facilmente trapiantabile il FEGATO piuttosto che IL MIDOLLO dal punto di vista antigenico¹.

LA RISPOSTA IMMUNITARIA DEL TRAPIANTATO:

l'organo linfoide che si prende carico di riconoscere antigeni diversi varia a seconda del tipo di trapianto, sicuramente:

- IN CASO DI TRAPIANTO CUTANEO è il LINFONODO LOCALE, analogamente a quanto avviene per la tubercolina, tramite le CELLULE DI LANGHERANS ma anche altre APC.
- IN CASO DI TRAPIANTO DI RENE i LINFONODI PRE E PARA AORTICI ADDOMINALI.

LA RISPOSTA NORMALE AL TRAPIANTO:

Si tratta della risposta che viene montata da un individuo che non ha mai visto gli antigeni presenti a livello delle cellule del donatore. Come sappiamo gli antigeni che sensibilizzano il trapiantato sono sicuramente GLI HLA, sia di tipo I che di tipo II, una fonte fondamentale di questi due potentissimi antigeni sono sicuramente I LEUCOCITI DEL DONATORE:

- è impossibile che nell'organo trapiantato permangano linfociti circolanti in quanto questo viene sempre ripulito prima del trapianto stesso.
- È invece praticamente sempre vero che nel tessuto trapiantato permangono LEUCOCITI migrati in sede in precedenza e che da lì si portano al circolo linfatico riattivato.

i portatori della SENSIBILIZZAZIONE SONO QUINDI GENERALMENTE LE APC:

- si portano alla linfoghiandola vicina.
- sensibilizzano i linfociti del RICEVENTE tramite:
 - la percezione diretta dell'MHC DIFFERENTE CHE PRESENTANO: si tratta di ANTIGENI POTENTISSIMI CAPACI DI RECLUTARE IL 20-30% DEI LINFOCITI DEL RICEVENTE.
 - La percezione, ove l'MHC sia compatibile, DI ANTIGENI ELABORATI DI DERIVAZIONE TISSUTALE che normalmente nel donatore non darebbero nessun fenomeno di reazione, ma che in questo caso vengono riconosciuti come non propri.
 - la attivazione di APC DEL RICEVENTE che elaborano antigeni solubili rilasciati

¹ Sembra che il fegato oltre ad essere scarsamente immunogenico, sia anche parzialmente immunodepressivo: se si trapiantano contemporaneamente un rene e un fegato, sembra che il trapianto funzioni meglio.

dai linfociti del donatore PER PRESENTARLI AI LINFOCITI DEL RICEVENTE.

- SI ATTIVANO a questo punto LINFOCITI CD4 nella zona PARACORTICALE DEL LINFONODO.
- SI ATTIVA LA RISPOSTA IMMUNITARIA:
 - SOPRATTUTTO DI NATURA CELLULO MEDIATA:
 - si formano CTL che distruggono direttamente il bersaglio, in particolare in primis viene attaccato L'ENDOTELIO DELL'ORGANO TRAPIANTATO.
 - Si formano Th sensibili agli antigeni del donatore la cui produzione di citochine GENERA DELLE DIFFUSE REAZIONI DI QUARTO TIPO caratterizzate da infiltrati di MONOCITI e POLIMORFONUCLATI capaci di generare una INFIAMMAZIONE MOLTO FORTE E LESIVA.
 - il ruolo dei LINFOCITI T è fondamentale tanto che in animali timectomizzati i problemi di rigetto non sussistono.
 - IN PARTE ANCHE ANTICORPALE che contribuisce ma in modo non molto significativo al rigetto.

DIVERSE FORME DI RIGETTO:

ESISTONO FORME DIVERSE DI RIGETTO la cui genesi dipende prevalentemente dal tipo di organo trapiantato e dal grado di immunizzazione del paziente trapiantato:

1. RIGETTO IPERACUTO: si tratta di un rigetto che avviene addirittura sul tavolo operatorio e risulta caratterizzata da:
 1. una reazione che si evolve in un tempo di minuti o ore.
 2. Presenza di anticorpi anti donatore PREFORMATI NEL RICEVENTE che generano un attacco immediato dell'organo ricevuto.

Il tutto si manifesta come una forte reazione NECROTIZZANTE del tessuto rivascolarizzato. Questi fenomeni ad oggi non avvengono praticamente mai: si tratta di casi di mala sanità generalmente legati alla mancata o errata tipizzazione del sangue del ricevente e/o del donatore, sappiamo infatti che alla base di un RIGETTO IPERACUTO CI SONO MOLTO SPESSO I GRUPPI SANGUIGNI:

1. ABO: accertare una completa compatibilità ABO è essenziale per quanto riguarda GLI ORGANI, come sappiamo infatti, gli antigeni del gruppo ABO si trovano a livello di tutti i tessuti, non solo sulla membrana dei globuli rossi.
2. Rh e altri gruppi sanguigni non danno nessun problema IN QUANTO A LIVELLO TISSUTALE NON SONO PRESENTI ANTIGENI DI QUESTO TIPO.

A prescindere da questo è necessario ove possibile accertare l'assenza di qualsiasi pregressa immunizzazione del paziente rispetto ad antigeni del donatore.

2. ACCELERATO legato ad una risposta cellulo mediata:
 1. vengono riattivate cellule T sensibilizzate.
 2. Nell'arco di pochissimi giorni si ha un rigetto completo dell'organo.
3. ACUTO, molto frequente, si caratterizza per:
 1. risposta cellulo mediata
 2. attivazione primaria di cellule T.si tratta della reazione più comune ad un trapianto in presenza di antigeni per il paziente non era già stato immunizzato.
Complessivamente si caratterizza come:
 1. danno alle strutture cellulari parenchimali.
 2. Infiammazione intestiziale.
 3. Endotelite.
4. CRONICO, molto frequente:

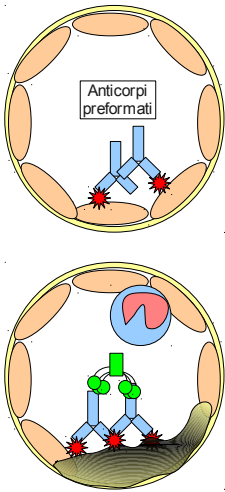
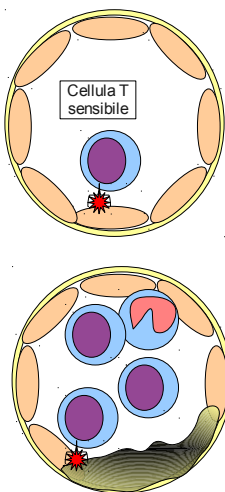
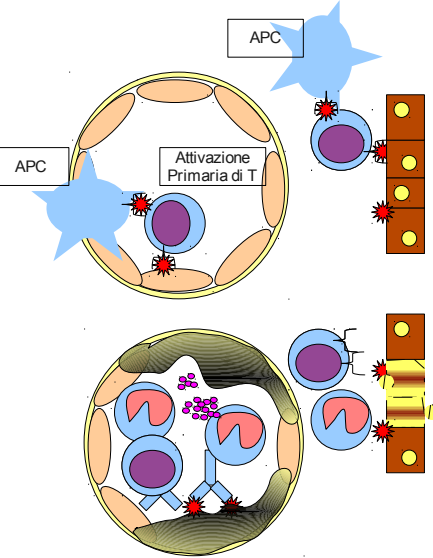
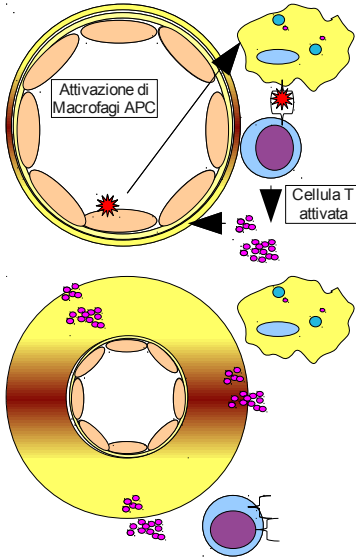
1. anche in questo caso si tratta di una risposta cellulo mediata.
2. L'attivazione della risposta immunitaria non è tuttavia ancora stata completamente chiarita nella sua tempistica, sappiamo che si hanno:
 1. attivazione di cellule T.
 2. formazione di immunocomplessi locali.
 3. Produzione da parte delle cellule T di fattori di crescita rivolti alla parete muscolare del vaso.

Si caratterizza per:

1. ipertrofia della muscolatura liscia delle strutture vasali.
2. Reazione ipertrofica cronica nella parete del vaso.
3. Eventuale occlusione vasale.

Si tratta di fatto di un quadro aterosclerotico accentuato e grave.

Generalmente un rigetto di tipo acuto, una volta superato, evolve in una forma di rigetto cronico i cui effetti possono divenire visibili anche anni dopo il trapianto.

			
IPERACUTO	RAPIDO	ACUTO	CRONICO
Sviluppo in minuti-ore	Sviluppo in giorni	Sviluppo in giorni-settimane	Sviluppo in mesi-anni
Attivazione di anticorpi presenti nel ricevente	Attivazione di cellule T già sensibilizzate	Attivazione primaria di cellule T	Attivazione di cellule T la cui produzione di citochine stimola la proliferazione della muscolatura liscia

LE PROCEDURA DEL TRAPIANTO:



prima, durante e dopo l'esecuzione di un trapianto un team di operatori collabora nel garantire una corretta accettazione dello stesso, ricordiamo sicuramente:

- IMMUNOLOGI essenziali per la tipizzazione del paziente; attualmente esistono diverse associazioni che si coordinano in modo centralizzato per TIPIZZARE I RICEVENTI IN ATTESA:
 - dializzati.
 - diabetici
 - cardiopatici.
- CHIRURGO.
- ANESTESISTI che sono fondamentali per mantenere in vita l'organo prima del trapianto.
- SPECIALISTI DELLE SINGOLE PATOLOGIE: nefrologi, cardiologi a seconda del diverso organo preso in considerazione.

Ad oggi non c'è più, come invece avveniva un tempo, il rischio di MORTE DEL TRAPIANTATO, o quantomeno il rischio è ridottissimo, meno del 10%, mentre assume una importanza sempre maggiore la preoccupazione per la SOPRAVVIVENZA DELL'ORGANO TRAPIANTATO, possiamo dire che:

- per il rene si ha una sopravvivenza del 90%
- 80% per il cuore.
- molto alta per il FEGATO.
- Il trapianto di midollo, eseguibile in modi differenti, rappresenta una classe a se stante.

La sopravvivenza dell'organo trapiantato è valutabile in funzione di:

- COMPATIBILITÀ TRA RICEVENTE E DONATORE.
- NUMERO DI TRAPIANTI RICEVUTI: un paziente che ha rigettato un primo trapianto, ha molte probabilità in più di rigettare un secondo trapianto; il caso viene valutato in modo molto preciso da una commissione che è composta anche da un medico legale.
- PRESENZA DI ANTICORPI ANTI HLA: viene eseguito uno screening pre trapianto in quanto è possibile:
 - siano state eseguite delle trasfusioni capaci di generare tali anticorpi.
 - A seguito di una gravidanza una donna entra in contatto con gli HLA del marito.

di per se la presenza di ANTICORPI ANTI HLA, a prescindere dalla compatibilità, RENDE IL PAZIENTE MAGGIORMENTE SUSCETTIBILE AL RIGETTO.

nel caso di trapianti di organi, eccetto il midollo, si sceglie se eseguire l'operazione DA VIVENTE o DA CADAVERE:

- non ci sono problemi di conservazione.
- si tratta di familiari generalmente: se il trapianto dovesse andare male, entrambi perderebbero il rene.

per quanto riguarda la scelta fondamentale dipende dalla DISPONIBILITÀ DI ORGANI: oggi vale la regola del silenzio assenso per cui se non vengono posti divieti, l'organo viene messo a disposizione; grazie a questo e alla sensibilizzazione della società civile, OGGI L'ITALIA È AL SECONDO-TERZO POSTO IN EUROPA PER DISPONIBILITÀ DI ORGANI.

PRIMA DI PROCEDERE AL TRAPIANTO:

oltre alla identificazione di HLA e ABO, essenziali per la compatibilità dal punto di vista antigenico; si devono valutare:



- caratteristiche del ricevente come:
 - DIALISI che se prolungata riduce il successo.
 - TRAPIANTI PRECEDENTI.
 - STATO DEL SISTEMA CARDIOCIRCOLATORIO.
- è necessario escludere la presenza di ANTICORPI CONTRO L'HLA DEL DONATORE: si sceglie il donatore più compatibile anche da questo punto di vista; si parla di CROSS MATCH, questo test viene eseguito normalmente:
 - prima di una trasfusione: vengono messi a contatto il siero del paziente e i globuli rossi del donatore per evitare la presenza di anticorpi specifici.
 - nei TRAPIANTI DA CADAVERE, si prende il siero del paziente e lo si mette in contatto con I LINFOCITI DEL CADAVERE, difficilmente prelevabili, e si esegue un TEST DI CITOTOSSICITÀ: se il siero del paziente uccide i linfociti, allora il TRAPIANTO È IMPOSSIBILE IN QUANTO SI AVRÀ UN RIGETTO IPERACUTO.

grazie a questo test e alla esclusione di incompatibilità ABO ad oggi PRATICAMENTE NON ESISTONO RIGETTI SUPERACUTI.

DOPO IL TRAPIANTO, IL RIGETTO ACUTO E QUELLO CRONICO:

fondamentalmente il RIGETTO CRONICO grazie a terapie di immunosoppressione è stato ELIMINATO, IN PARTICOLARE si utilizzano FARMACI QUALI:

- CORTICOSTEROIDI in particolare il CORTISONE il cui utilizzo va limitato il più possibile, presenta infatti una grande quantità di effetti collaterali quali:
 - ipertensione.
 - iperglicemia.
 - immunodepressione cronica.
- INIBITORI MITOTICI: anche in questo caso si tratta di farmaci che di fatto bloccano la proliferazione di tutte le cellule LEUCOCITARIE. In particolare ricordiamo:
 - AZOTIOPRINA potente inibitore mitotico che blocca le cellule nella fase S della mitosi impedendo la sintesi di un precursore dei nucleotidi purinici.
 - CICLOFOSFAMIDE: si tratta di un agente alchilante che si inserisce nella doppia elica del DNA scardinandola.
 - METOTREXATO: agisce come un antagonista dell'acido folico impedendo la sintesi del DNA.
- FARMACI CHE BLOCCANO LA PRODUZIONE DI IL2: questo tipo di terapia risulta fondamentale per limitare la risposta dei linfociti TH1 per cui la mancanza di tale fattore ne blocca fondamentalmente la proliferazione. Si tratta in ogni caso di farmaci NON SELETTIVI in quanto bloccano QUALSIASI FORMA DI RISPOSTA TH1 DIPENDENTE, incrementano quindi notevolmente il rischio di infezioni virali e di modificazioni neoplastiche, vanno per questo motivo utilizzati con attenzione. Ricordiamo:
 - CICLOSPORINE: sono utilizzatissime anche nella terapia di fenomeni di autoimmunità, si tratta di farmaci costituiti di spore particolari. Questi farmaci presentano come TARGET la CALCINEURINA essenziale per la sequenza di attivazione DELL'NFAT a sua volta fondamentale per la produzione della IL2 e di MOLTI ALTRI FATTORI NECESSARI ALLA ATTIVAZIONE DELLA CELLULA T. Molto pericoloso in quanto NEFROTOSSICO oltre che immunosoppressivo: nel trapianto di rene viene utilizzato in modo controllatissimo.
 - FK506 O TACROLIMUS viene utilizzato in terapia, presenta i medesimi effetti delle ciclosporine ma:
 - è meno nefrotossico.

- è più tollerabile in quanto si somministra a dosi inferiori.
- RAPAMICINA O SIRONIMUS: agisce BLOCCANDO IN MODO SPECIFICO LA SINTESI DI INTERLEUCHINA 2.
- TOTAL LIMPHOID IRRADIATION: si tratta di una terapia basata sulla esposizione a raggi X la cui attività elimina i linfociti presenti in circolo e nei diversi organi linfoidi, tale terapia è diretta in particolare a TIMO, MILZA E LINFONODI. Il paziente viene trapiantato in uno stato di immunodepressione indotta da raggi X e sembra che i linfociti sintetizzati a seguito del trapianto dal midollo osseo presentino una maggiore tolleranza rispetto agli antigeni dell'organo trapiantato.
- TERAPIA CON ANTICORPI MONOCLONALI si tratta di una terapia innovativa in particolare associata a diverse strategie, in particolare:
 - ANTICORPI DIRETTI CONTRO LE CELLULE T IN GENERALE funzionano, ma presentano una azione depressiva rispetto a tutte le reazioni che coinvolgono i linfociti T.
 - ANTICORPI DIRETTI CONTRO LE CELLULE T ATTIVATE generalmente rivolti contro la subunità alfa del recettore per la IL2.
 - ANTICORPI DIRETTI CONTRO MOLECOLE DI ADESIONE in particolare due proteine ad azione simile:
 - ICAM1.
 - LFA2.La necessità di somministrare anticorpi contro entrambe le strutture proteiche potrebbe essere associata alla ridondanza del sistema di adesione molecolare.
 - ANTICORPI DIRETTI CONTRO CITOCHINE in particolare:
 - TNF alfa.
 - INF gamma.
 - IL 2.sembra abbiano un effetto positivo soprattutto in relazione al trapianto di midollo.

Grazie a questi farmaci e alla attività di trapiantologi la percentuale di successo dei trapianti è molto aumentata, inoltre risulta spesso possibile trapiantare un organo con una compatibilità meno stringente proprio grazie a queste terapie. Questo ha molto favorito la ricerca in loco di organi diminuendo molto la spesa necessaria per un trapianto normale. Il problema di questo tipo di terapie è che TALI FARMACI IMMUNODEPRESSIVI DEVONO ESSERE ASSUNTI DURANTE TUTTA LA VITA: non è possibile dismettere le terapie, in caso contrario si va incontro praticamente sistematicamente ad un rigetto cronico; d'altro canto questi pazienti SONO SOGGETTI A IMMUNODEPRESSIONE CONTINUA e sono per questo soggetti a infezioni virali e tumori soprattutto.

LA TOLLERANZA:

la prospettiva migliore dal punto di vista terapeutico sarebbe quella di rendere l'accettore tollerante al trapianto: questo risulta fondamentalmente impossibile, sforzi si sono fatti a riguardo nell'ottica di rendere meno invasiva la terapia immunosoppressiva, ma con scarsi risultati. Alcuni risultati si sono ottenuti con il TRAPIANTO DI FEGATO dove è possibile trapiantare solo parti dell'organo stesso. A prescindere da quanto detto si è osservato che pazienti politrasfusi presentano un migliore livello di accettazione dell'organo, a contribuire a questo tipo di fenomeno SONO MOLTO PROBABILMENTE I LEUCOCITI: si pensa si tratti di CELLULE T REG particolari che, una volta trasfuse presentano una attività regolativa rispetto AD ALTRE CELLULE T PRESENTI nell'organismo del ricevente. La possibilità di utilizzare tali T reg per

incrementare le probabilità di accettazione del trapianto sono in fase di studio.

I DIVERSI TIPI DI TRAPIANTO:

come sottolineato in precedenza diversi organi presentano di fatto un potere antigenico differente e la loro specifica collocazione e anatomia rende i trapianti di ciascuno di essi differente.

IL TRAPIANTO DI RENE:

sicuramente il trapianto di rene è il trapianto d'organo più eseguito a livello clinico, questo è dovuto a diversi motivi:

- il fatto che il rene si colloca in una posizione particolarmente facile da raggiungere.
- Il fatto che è possibile eseguire un trapianto di questo tipo sia da cadavere che da vivente.
- Il fatto che presenta un potere antigenico inferiore rispetto a MIDOLLO e FEGATO che presentano strutturalmente una grande quantità di leucociti.
- È naturalmente necessaria, vista la elevata vascolarizzazione dell'organo, una notevole attenzione agli HLA.

Problemi associati a questo tipo di trapianto sono prevalentemente associati alla presenza di fattori che rendono il trapianto stesso meno accettabile:

- LA DIALIZZAZIONE che se prolungata riduce notevolmente le percentuali di successo.
- PRECEDENTI TRAPIANTI che soprattutto per il rene, vista la presenza di antigeni funzionalmente molto specifici, RISULTANO FORTEMENTE IMMUNIZZANTI. Generalmente non è possibile in nessun caso andare oltre il secondo tentativo di trapianto.

[video di un trapianto di rene da donatore vivente](#)

IL TRAPIANTO DI MIDOLLO:

il trapianto di midollo presenta delle caratteristiche particolari:

- si esegue per soggetti LEUCEMICI con LEUCEMIE ACUTE o per DIFETTI GENETICI.
- si trapianta un tessuto ESTREMAMENTE IMMUNOGENICO.
- è di per se stesso UN ORGANO LINFOIDE capace di montare una risposta immunitaria.

Normalmente un trapianto efficace prevede l'inserzione di 10^9 cellule per chilo di peso corporeo dell'accettore.

A livello clinico normalmente:

- si riduce tramite ANTIBLASTICI LA PROLIFERAZIONE CELLULARE.
- Sono possibili due approcci a questo punto:
 - AUTOTRAPIANTO per cui:
 - si preleva il midollo del soggetto infetto.
 - si tratta il midollo separatamente per UCCIDERE TUTTE LE CELLULE TUMORALI.
 - si ripianta il midollo.la terapia è estremamente aggressiva, il midollo trattato inoltre può presentare cellule tumorali residue e quindi recidivizzare; la terapia viene eseguita tramite cellule antitumorali.
 - ALLOTTRAPIANTO per cui si esegue il trapianto da un donatore, in questo caso si possono avere problemi legati a:
 - RIGETTO DELL'ORGANO, si tratta in ogni caso di un tessuto estraneo.

- IL SISTEMA IMMUNITARIO DEL PAZIENTE PUÒ ESSERE STATO DISTRUTTO DALLA TERAPIA, a questo punto IL MIDOLLO TRAPIANTATO potrebbe MONTARE UNA RISPOSTA IMMUNITARIA CONTRO IL RICEVENTE generando una INFIAMMAZIONE DETTA GRAFT VERSUS HOST o GvH. Il GvH esiste in due forme:
 - ACUTA durante la quale vengono ad essere colpiti TUTTI I TESSUTI IN ATTIVA FASE DI REPLICAZIONE:
 - cute che prolifera continuamente, si manifesta come un RASH CUTANEO maculo papulare, simile ad una patologia esantematica.
 - il fegato che deve essere strettamente monitorato, a seguito di una aggressione attiva aumentano rapidamente le transaminasi, il paziente può manifestare patologie itteriche ed eventualmente andare incontro ad abbassamento dei livelli delle proteine sieriche.
 - intestino che è sempre in attiva replicazione.
 - CRONICA in questo caso si assiste ad una AUTOAGGRESSIONE per cui il paziente va incontro a SCLERODERMIA, una connettivite autoimmune.
- Il GvH colpisce circa il 50-70% dei trapiantati di midollo osseo.

in generale si preferisce un ALLOTRAPIANTO rispetto ad un AUTOTRAPIANTO in quanto:

- il rischio di recidività è molto più elevato nell'autotrapianto.
- se tutto va bene, si instaura una condizione detta GvL GRAFT VERSUS LEUKEMIA per cui fondamentalmente il midollo TRAPIANTATO ELIMINA LA MALATTIA MINIMA RESIDUA in modo molto più efficace rispetto a quanto non avvenga per l'autotrapianto.

IL TRAPIANTO DI CUORE:

il trapianto di cuore presenta delle obiettive difficoltà legate:

- al fatto che durante il trapianto è necessario tenere il paziente in respirazione e circolazione artificiali.
- La disponibilità di organi di questo tipo che può essere unicamente prelevato da un cadavere morto di morte cerebrale, ma con un sistema cardiocircolatorio funzionante; l'organo deve inoltre essere conservato unicamente in condizioni particolari:
 - ghiaccio.
 - Una soluzione salina che consenta di cortocircuitare le contrazioni normalmente presenti che danneggerebbero la struttura del cuore stesso.

Molto spesso per la scarsità di tempo e per la penuria di organi SI È COSTRETTI A NON CONSIDERARE STRETTAMENTE LA COMPATIBILITÀ RELATIVA ALL'HLA: questo spesso genera dei problemi seri legati alla possibile aterosclerosi delle arterie coronarie che consegue ad una reazione immunitaria ai vasi stessi.

[video di una operazione di trapianto del cuore](#)

TRAPIANTO DI POLMONE:

il trapianto di polmone viene normalmente eseguito con un discreto successo per il trattamento di patologie:

- associate a traumi quali assunzione di fumo o simili.
- Associate a patologie genetiche quali FIBROSI CISTICA.

IL TRAPIANTO DI FEGATO:

il trapianto di fegato presentava un tempo delle obiettive difficoltà legate alla complessa vascolarizzazione e organizzazione dell'organo stesso, con il tempo tuttavia si

sono elaborate delle tecniche tali per cui risulta oggi possibile eseguire un trapianto anche solo di una parte del fegato con ottime percentuali di successo. Generalmente si eseguono operazioni di questo tipo per sostituire un fegato danneggiato per:

- assunzione di sostanze tossiche quali alcohol e droghe o farmaci.
- Epatiti virali croniche ma soprattutto epatiti fulminanti per cui è essenziale eseguire un trapianto immediato.
- Deficienze congenite del fegato.

Anche il fegato ospita, come il midollo osseo una grande quantità di leucociti che possono generare una risposta immunitaria considerevole. Il fegato, tuttavia, sembra essere particolarmente adatto a questo tipo di procedure e sembra essere particolarmente poco immunogenico.

IL TRAPIANTO DI PANCREAS:

il trapianto di pancreas è sicuramente la cura più efficace per il diabete mellito di tipo insulino dipendente con una percentuale di successo del 55% circa. È importante sottolineare il fatto che è sufficiente trapiantare le cellule beta del pancreas e non tutto il pancreas per ottenere una risoluzione della patologia.

LA RISPOSTA IMMUNITARIA CONTRO I TUMORI

Sulla base delle teorie ad oggi più avvalorate sappiamo che lo sviluppo dei tumori è strettamente legato ad un fallimento del sistema immunitario che perde la sua capacità di identificare una cellula mutata come not self. È stato ipotizzato, e risulta oggi la teoria più accreditata, che mutazioni geniche che facciano perdere il controllo della capacità proliferativa di una cellula avvengano quotidianamente nel corpo umano e che normalmente cellule mutate vengano eliminate dal sistema immunitario: la proliferazione di un cancro sarebbe quindi da imputarsi ad UN FALLIMENTO DEL NOSTRO SISTEMA IMMUNITARIO che, seppur sporadico, avviene.

Le cellule tumorali possono proliferare in due sensi diversi:

- per mancata inibizione da contatto per esempio.
- Per separazione dal tessuto originario colonizzando altre regioni del nostro organismo.

A seconda del tipo di tumore preso in considerazione, la evoluzione della malattia sarà differente: tumori diversi presentano aggressività e tendenza a metastatizzare differenti.

se si analizza a livello microscopico una massa tumorale, risulta possibile notare un INFILTRATO DI LINFOMONOCITI LA CUI AZIONE È RIVOLTA, chiaramente, CONTRO IL TUMORE STESSO, questo avviene sostanzialmente costantemente, tale reazione può essere elusa tuttavia dal tumore stesso in modo molto efficace. La presenza di un coinvolgimento di natura immunitaria è ormai comprovata dalla tendenza del tumore stesso a crescere in pazienti:

- IMMUNODEPRESSI.
- ANZIANI nei quali si riscontra una compromissione della risposta immunitaria.
- PAZIENTI TRATTATI CRONICAMENTE CON IMMUNOSOPPRESSORI per esempio a seguito di trapianti ma non solo.

la risposta immunitaria contro un tumore sicuramente coinvolge diverse tipologie cellulari, in ogni caso possiamo distinguere due fasi:

1. FASE AFFERENTE nella quale sono coinvolti chiaramente:

1. ANTIGENI che devono essere presenti nel tumore per scatenare una risposta immunitaria.
2. PRESENTAZIONE DEGLI STESSI.

La presenza di questa fase chiaramente rende ipotizzabile un intervento diretto sulla immunizzazione del paziente malato per esempio.

2. FASE EFFERENTE:

1. CITOTOSSICA prevalentemente.

Esistono anche forme di risposta ANTICORPALE ma la cui efficacia è scarsa o comunque poco significativa. L'utilizzo di anticorpi monoclonali si è rivelato in alcuni casi addirittura dannoso.

LA FASE AFFERENTE DELLA RISPOSTA AL TUMORE:

come per qualsiasi altra patologia che richieda la attivazione del sistema immunitario, la fase afferente della risposta immunitaria dipende in modo molto stretto DALLA PRESENZA E DA RICONOSCIMENTO DI ANTIGENI SPECIFICI PRESENTI SULLE CELLULE TUMORALI.

GLI ANTIGENI TUMORALI:

Numerosi studi sono stati svolti a riguardo grazie a modelli animali estremamente simili



all'uomo e facilmente reperibili, in particolare:

- UTILIZZANDO CELLULE TUMORALI ANIMALI che vengono trasferite di topo in topo e che possono essere facilmente create esponendo l'animale a stimoli adatti.
- UTILIZZANDO CELLULE TUMORALI UMANE IN TOPI IMMUNODEPRESSI che presentano un certo costo, ma CHE CONSENTONO DI STUDIARE LO SVILUPPO DELLA PATOLOGIA UMANA IN MODELLO ANIMALE.

L'IMMUNIZZAZIONE ANIMALE AL TUMORE:

è possibile immunizzare un animale contro uno specifico tumore in questo modo:

- si uccidono delle cellule tumorali e si inoculano nel topo.
- si lascia immunizzare il topo.
- si piantano cellule vive del medesimo tumore.
- il tumore non si sviluppa.

La dimostrazione della avvenuta immunizzazione si può avere per il fatto che nel controllo non immunizzato, il tumore si sviluppa; chiaramente per diverse cellule tumorali, la immunizzazione non ha alcuna efficacia

GLI ANTIGENI TUMORALI SONO DIFFERENTI DALL'MHC:

NON SI TRATTA, come si potrebbe pensare ad una prima analisi, DI UN FENOMENO DI RIGETTO ma di una fenomeno di REAZIONE ALLA PRESENZA DI NUOVI ANTIGENI, a dimostrazione di questo fatto ricordiamo che se si impianta un tumore di un topo ad un altro topo esattamente identico, LA REAZIONE IMMUNITARIA AVVIENE COMUNQUE, a dimostrazione del fatto che non si tratta di una risposta di istoincompatibilità. Si parla in questo caso di TUMOR ASSOCIATED ANTIGENS, differenti dall'MHC.

DIVERSI TUMORI PRESENTANO CARATTERISTICHE IMMUNOLOGICHE DIFFERENTI:

i fattori di crescita tumorale sono molto differenti, sicuramente possiamo riconoscere dei fattori stimolanti endogeni ed esogeni, in particolare ricordiamo:

- SOSTANZE CHIMICHE come IDROCARBURI FENOLICI quali IL METILCOLANTRENE. Da esperimenti su animali è stato possibile dimostrare che:
 - il metilcolantrene sviluppa diversi tipi di tumore.
 - ogni tumore presenta una propria specificità variabile in relazione a:
 - tipo di metilcolantrene utilizzato.
 - Ospite.

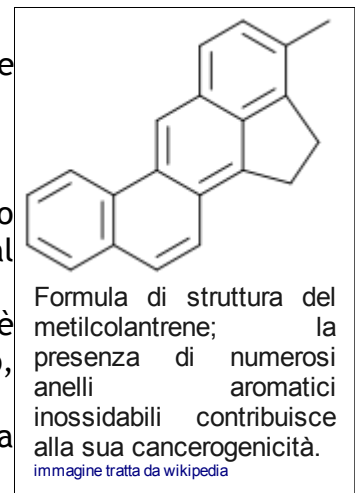
A dimostrazione di questa diversità si osserva il fatto che non è possibile immunizzare un animale rispetto al metilcolantrene.

La spiegazione molecolare di questo tipo di fenomeno è legata alla natura dell'agente che induce il tumore stesso, il metilcolantrene infatti:

- induce e attiva geni che possono essere diversi da cellula a cellula e da quindi problemi differenti.
- non scatena di per se stesso una risposta immunitaria.

singole sostanze chimiche possono essere poi associate a specifici tumori: diverse sostanze attivano diversi protooncogeni.

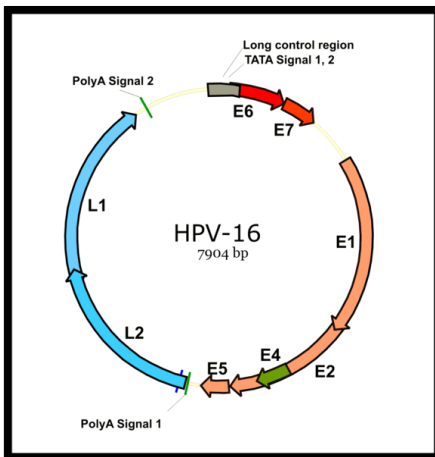
- VIRUS TRASFORMANTI come l'SV40 o simian virus 40: QUESTI TUMORI, ESSENDO ASSOCIATI DA UNO STESSO PATOGENO ATTIVO, GENERANO UNO STATO DI IMMUNIZZAZIONE CHE PRESCINDE DAL TIPO DI TUMORE INDOTTO: la protezione trasmessa per immunizzazione passiva risulta efficace in ogni caso in quanto il tumore indotto dal virus è indotto da uno specifico virus con specifici antigeni che



vengono specificamente individuati dal sistema immunitario.

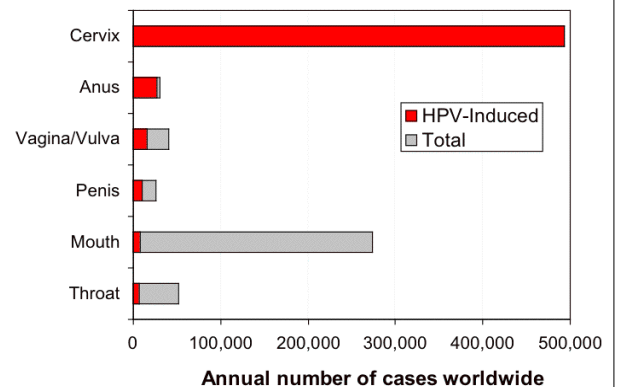
Patologie tumorali associate ad infezioni virali sono molto in aumento ad oggi, sicuramente ricordiamo:

- HBV E HCV che danno infiammazioni croniche epatiche il cui sviluppo a lungo termine è spesso associato a epatocarcinoma.
- HPV che presenta, almeno per alcuni suoi ceppi, una ATTIVITÀ TRASFORMANTE DIRETTA rispetto alle cellule dell'epitelio della cervice uterina.
- EBV strettamente associato all'insorgenza di linfomi quali:
 - linfoma di burkitt.
 - carcinoma nasofaringeo.
- HTLV-I human t leukemia virus, tra i quali l'HIV, che sono capaci di indurre leucemie delle cellule T anche se non sono sempre direttamente trasformati.



Genoma dell'HPV, probabilmente il virus trasformatore più noto: le proteine trasformanti, simboleggiate in rosso, sono E6 ed E7. A destra un diagramma raffigurante la associazione tra diversi tipi di cancro e questo virus.

immagine tratta da wikipedia
immagine tratta da wikipedia



Nella realtà dei fatti agenti chimici o fisici, soprattutto radiazioni, che possano indurre delle mutazioni genetiche delle strutture cellulari sono **FATTORI STIMOLANTI LA TRASFORMAZIONE NEOPLASTICA**.

LA RICERCA DI ANTIGENI TUMORALI:

l'individuazione di markers specifici solubili contro un dato tumore rende possibile la **INDIVIDUAZIONE PRECOCE DEL TUMORE STESSO ED EVENTUALMENTE UNA SPECIFICA TERAPIA DIRETTA CONTRO IL TUMORE STESSO**: una possibilità è quella di utilizzare **ANTICORPI MONOCLONALI**, è sufficiente inoculare l'antigene in un topo e estrarre l'anticorpo specifico per esso per poi elaborarlo in forma chimerica o umanizzata.

Complessivamente possiamo distinguere diverse categorie di antigeni tumorali, fondamentalmente ad oggi conosciamo:

- **ANTIGENI CODIFICATI DA GENI ESPRESSI ESCLUSIVAMENTE DA CELLULE TUMORALI.**
- **ANTIGENI CODIFICATI DA DIVERSE TIPOLOGIE CELLULARI** ma che nella cellula NEOPLASTICA VENGONO ESPRESSI IN FORMA MUTATA.
- **ANTIGENI CHE VENGONO ESPRESSI unicamente IN DATI STADI DI DIFFERENZIAZIONE o ESPRESSI UNICAMENTE DA DATE LINEE CELLULARI IN FASE DI DIFFERENZIAZIONE;** a questa categoria appartengono per esempio gli antigeni ONCOFETALI che:
 - vengono espressi durante lo sviluppo fetale.
 - Con lo sviluppo cellulare si perdono e non vengono prodotti.
 - A seguito della trasformazione neoplastica e delle alterazioni che comporta, la cellula diviene nuovamente capace di esprimere tali antigeni.

Questi antigeni cominciano a crescere in termine di concentrazione ematica molto presto rispetto ad altri antigeni e sono quindi un ottimo indicatore dello

sviluppo tumorale.

- ANTIGENI CHE VENGONO SUPERESPRESSI da dati tipi di tumori.

Antigeni di notevole interesse clinico sono sicuramente:

- ANTIGENE CARCINO-EMBRIONARIO: si tratta di un tipo di antigene ONCOFETALE associato al carcinoma di colon e retto.
 - Viene normalmente espresso dalle cellule epatiche e intestinali tra i 2 e i 6 mesi di sviluppo fetale.
 - Viene espresso:
 - nel 90% dei pazienti con carcinoma del colon-retto avanzato.
 - Nel 50% dei pazienti con carcinoma del colon-retto in stato iniziale.
 - Si può trovare a livelli di nanogrammi anche in pazienti sani, di conseguenza non ha potere diagnostico, risulta tuttavia UN OTTIMO INDICE DELLO SVILUPPO DEL CARCINOMA STESSO.
- ANTIGENE DELL'EPATOCARCINOMA o ALFA FETOPROTEIN: antigene oncofetale tipicamente espresso in pazienti malati di epatocarcinoma.
- PSA antigene associato alla prostata, clinicamente molto utilizzato.
- ANTIGENE DEL CARCINOMA OVARICO.
- ANTIGENE CALLA (ANTIGENE COMUNE DELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA) utilizzato per la individuazione precoce di linfomi.
- GRUPPO LEWIS PRIMORDIALE viene spesso individuato nei tumori polmonari.

INDIVIDUAZIONE DI METASTASI:

Nota l'esistenza di questi antigeni, è possibile IDENTIFICARE LA PRESENZA DI ANTIGENI TUMORALI IN ALTRI TESSUTI MARCANDO ANTICORPI SPECIFICI CONTRO IL TUMORE stesso: si utilizza l'antigene carcino-ambrionario nello studio di metastasi polmonari del carcinoma del colon-retto, tramite tecniche apposite rende possibile individuare metastasi polmonari altrimenti invisibili.

STUDIO DELLO SVILUPPO TUMORALE:

è possibile MONITORARE LO SVILUPPO per esempio DI UN TUMORE ALLA PROSTATA VALUTANDO NEL TEMPO I LIVELLI DELLA PSA; a seguito di un intervento di prostatectomia per esempio:

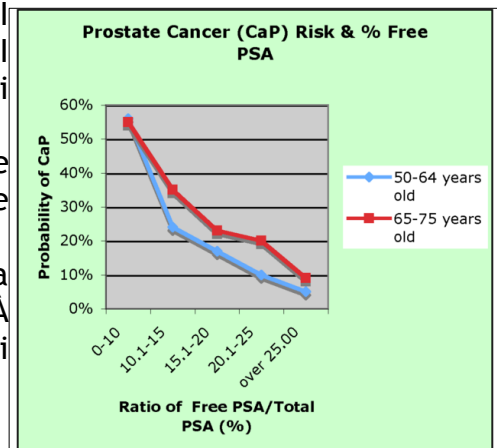
- se l'intervento è stato fatto in modo RADICALE e CON SUCCESSO, allora il livello di PSA deve essere nullo.
- se anche a distanza di giorni il PSA si presenta ancora in circolo, allora il TUMORE SARÀ ANCORA PRESENTE e sarà necessario operare di nuovo.

VALUTAZIONE DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA:

È POSSIBILE VALUTARE ANCHE LA TOLLERANZA DEI LINFOCITI in RELAZIONE AGLI ANTIGENI TUMORALE, se viene messo a contatto un linfocita con una cellula TUMORALE, è possibile che avvenga o non avvenga una reazione:

- se il linfocita non blastizza, allora gli antigeni non vengono riconosciuti.
- Se, al contrario, blastizza, allora viene riconosciuto.

È possibile eseguire analisi di questo tipo in momenti differenti dello sviluppo della malattia sia per valutare la risposta nel tempo al tumore, sia per valutare se il tumore



Questo grafico dimostra l'importanza diagnostica del PSA rispetto al cancro alla prostata.

immagine tratta da wikipedia

stesso, come accade spesso, ha cominciato ad esprimere antigeni differenti.

LA FASE EFFERENTE DELLA RISPOSTA AL TUMORE:

Come già sottolineato in precedenza, gran parte della risposta alla presenza di un tumore presenta natura cellulo mediata, la risposta anticorpale presenta infatti un ruolo decisamente poco significativo. La risposta è chiaramente T DIPENDENTE e si estrinseca tramite:

- LA ATTIVITÀ DELLE CELLULE NK.
- LA ATTIVITÀ DELLE CTL.
- LA ATTIVITÀ INFIAMMATORIA indotta principalmente dalle CELLULE T helper.

LE CELLULE NK:

sono FONDAMENTALI NELLA ELIMINAZIONE DEL TUMORE NEI SUOI PRIMI STADI: molte patologie immunodepressive associate alle cellule NK sono strettamente associate all'insorgenza di tumori.

GLI ANTICORPI:

abbiamo detto sono poco presenti, inoltre sono spesso di bassa affinità; fondamentalmente possiamo dire che:

- possono stimolare fenomeni di citotossicità da parte delle NK tramite ADCC.
- possono ATTIVARE IL COMPLEMENTO che può:
 - generare una lisi cellulare, ma si tratta di una situazione relativamente rara seppur possibile.
 - Stimolare una risposta citotossica da parte delle cellule NK.

Nella maggior parte dei casi tali sistemi sono efficaci ed eradicano senza problemi il tumore.

I MECCANISMI DI EVASIONE:

molti tumori elaborano dei sistemi di evasione tumorali:

- vengono creati dei cluster di cellule tumorali capaci di proteggere di fatto le cellule poste in profondità dalla risposta citotossica.
- EVOLUZIONE DI FENOTIPI A BASSA ANTIGENICITÀ: l'antigene esposto dalle cellule tumorali può:
 - essere prodotto in maniera minima.
 - essere espresso a bassa antigenicità.

Per esempio a seguito di un attacco di natura anticorpale, le cellule tumorali assumono la capacità di endocitare il complesso immune formatosi sulla membrana bloccando la espressione dell'antigene stesso. Questo spiegherebbe il peggioramento della prognosi di topi trattati con immunoglobuline di altri topi sensibilizzati al tumore, d'altro canto consente di veicolare direttamente all'interno della cellula tumorale agenti chemioterapici la cui azione diviene quindi estremamente specifica e minimamente invasiva.

- BASSA ESPRESSIONE DI MHC DI CLASSE I per cui LE CELLULE TUMORALI NON VENGONO RICONOSCIUTE DAL SISTEMA IMMUNITARIO, fattori chemochinici quali interferoni e interleuchine possono stimolare la espressione di tali fattori.
- IL TUMORE STESSO PUÒ BLOCCARE IL SISTEMA IMMUNITARIO:
 - per esempio un antigene solubile SECRETO blocca IL RECETTORE DELLE CTL CHE DOVREBBERO ATTACCARLO BLOCCANDO LA LORO AZIONE CITOTOSSICA.
 - Un tumore inoltre diviene spesso capace di espellere dei fattori che FANNO RECLUTARE DELLE CELLULE REGOLATRICI e non effettrici: l'infiltrato monocitario risulta spesso composto anche di macrofagi che presentano FUNZIONE REGOLATRICE DETTI M2; tali macrofagi M2 INIBISCONO LA RISPOSTA

IMMUNITARIA producendo:

- TGF beta.
- ALTRE INTERLEUCINE INIBITORIE.

fondamentalmente proteggono il tumore stesso.

- IL TUMORE SI PUÒ PROTEGGERE CONTRO L'ATTACCO DA PARTE DEL COMPLEMENTO: le cellule tumorali possono produrre in enorme quantità dei REGOLATORI DI MEMBRANA come il CD55 e CD46 e CD49 la cui azione diviene spesso fondamentale.
- IL TUMORE È CAPACE DI PRODURRE DIRETTAMENTE FATTORI DI CRESCITA:
 - che stimolano la proliferazione tumorale.
 - che stimolano l'angiogenesi.Spesso in maniera autocrina.

LA TERAPIA:

L'OBIETTIVO TERAPEUTICO è in ogni caso quello di RIDURRE LA MASSA TUMORALE AL MINIMO DANDO AL SISTEMA IMMUNITARIO LA CAPACITÀ DI ELIMINARE LA MALATTIA RESIDUA MINIMA¹. Dal punto di vista pratico esistono diversi approcci terapeutici, in particolare:

- NON SPECIFICI per cui si cerca di incrementare la risposta al tumore stimolando le difese naturali, in particolare si possono utilizzare:
 - INTERFERON GAMMA che stimola la risposta citotossica.
 - INTERLEUCHINA 2 che stimola la risposta naturale, si tratta di una terapia pericolosa che può essere amministrata:
 - per effusione: la terapia divenne a lungo termine tossica in quanto provocava un aumento di permeabilità polmonare con notevole incremento del rischio di edema.
 - Per endovena: l'azione deve essere il più topica possibile in quanto la tossicità del farmaco è estremamente elevata.Non tutti i tumori sono, in ogni caso, sensibili a questo tipo di terapia; sicuramente viene utilizzata per:
 - MELANOMA.
 - TUMORI DELL'APPARATO URINARIO.
 - FATTORI CHE INDUCONO LA PRODUZIONE DI IL2.
- SPECIFICI che stimolano invece una risposta immunitaria indirizzata all'agente eziologico del tumore o alle cellule tumorali stesse, in particolare:
 - VACCINI CONTRO ONCOVIRUS: si tratta di una terapia di sicuro successo per esempio contro l'HPV.
 - SOMMINISTRAZIONE DI ANTICORPI MONOCLONALI che possono eliminare il tumore in fase di formazione, se la massa è abbastanza ridotta, possono essere estremamente utili. Si tratta di terapie di natura sperimentale, tuttavia:
 - gli anticorpi murini non si possono utilizzare se non a brevissimo termine (una o due somministrazioni) in quanto stimolano una risposta immunitaria diretta contro allotipi murini. Sono molto utilizzati per la pulizia in vitro del midollo osseo per esempio.
 - si possono utilizzare ANTICORPI CHIMERICI che presentano, come noto, unicamente le parti non Fc di appartenenza murina, tuttavia anche in questo caso anticorpi diretti contro la regione cornice si sviluppano abbastanza rapidamente nel paziente.

¹ si tratta del medesimo meccanismo utilizzato per debellare le infezioni virali.



- si possono ad oggi produrre **ANTICORPI COMPLETAMENTE UMANIZZATI** tollerati senza alcun problema e ad oggi utilizzati in clinica.

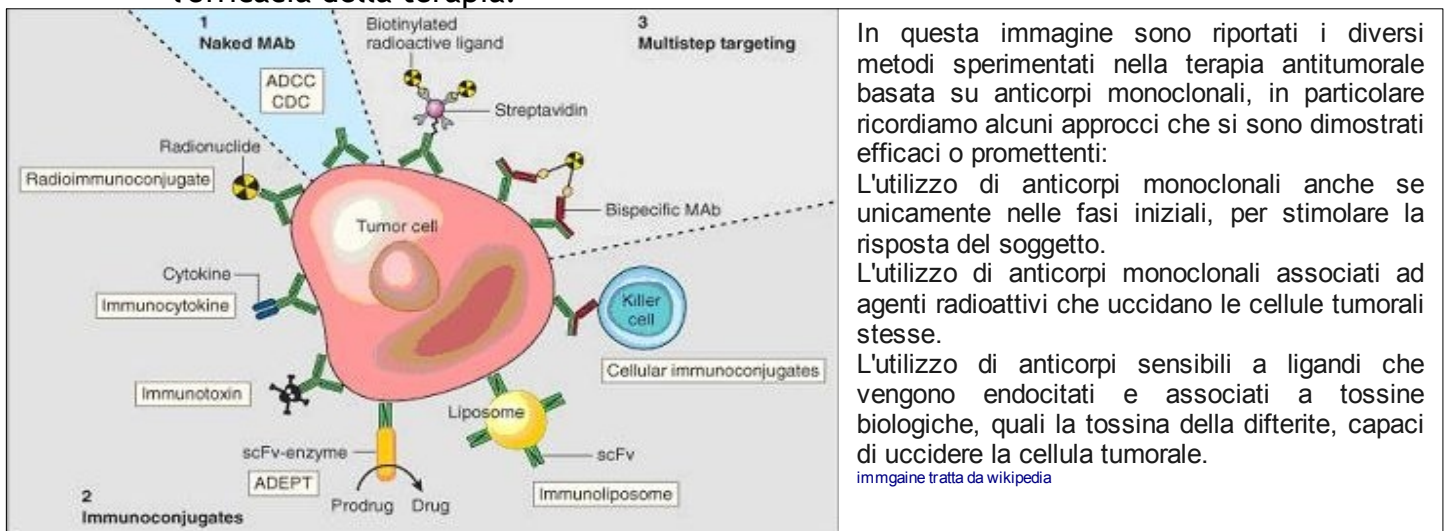
oggi anticorpi **MONOCLONALI** vengono utilizzati senza problemi soprattutto **PER LA TERAPIA DI LINFOMI**, è possibile, infatti, utilizzare un anticorpo anti **CD20**:

- **MARKER TIPICO DEI LINFOCITI B** che viene **ESPRESSO IN MODO MOLTO MAGGIORE NEI LINFOCITI TUMORALI**.
- **CD 20 è STABILE**, non viene internalizzato a seguito del legame con l'anticorpo.

Questa terapia funziona molto bene in quanto stimola per esempio:

- **FISSAZIONE DEL COMPLEMENTO** che può risultare inefficace per la presenza di enormi quantità di molecole bloccanti il complemento².
- **ATTIVAZIONE DELLE NK TRAMITE ADCC**.

La terapia con anticorpi monoclonali per patologie tumorali differenti risulta non utilizzabile in quanto **NECESSITA DI UNA PRECISIONE ESTREMA** e richiederebbe per ciascun tumore la individuazione di antigeni specifici e stabili nonché la produzione di anticorpi specifici in grande quantità diretti contro le cellule tumorali per un costo decisamente elevato rispetto a quella che potrebbe essere l'efficacia della terapia.



In questa immagine sono riportati i diversi metodi sperimentati nella terapia antitumorale basata su anticorpi monoclonali, in particolare ricordiamo alcuni approcci che si sono dimostrati efficaci o promettenti:

L'utilizzo di anticorpi monoclonali anche se unicamente nelle fasi iniziali, per stimolare la risposta del soggetto.

L'utilizzo di anticorpi monoclonali associati ad agenti radioattivi che uccidano le cellule tumorali stesse.

L'utilizzo di anticorpi sensibili a ligandi che vengono endocitati e associati a tossine biologiche, quali la tossina della difterite, capaci di uccidere la cellula tumorale.

immagine tratta da wikipedia

2 è possibile somministrare contemporaneamente **ANTICORPI ANTI CD20** e **ANTICORPI ANTI BLOCCANTI IL COMPLEMENTO**.

LE CITOCHINE:

le citochine sono peptidi prodotti dal nostro sistema immunitario in risposta ad una stimolazione antigenica, la loro funzione è quella di regolare la risposta immunitaria e la reazione infiammatoria.

- La secrezione di citochine avviene:
 - generalmente a seguito di produzione diretta della citochina stessa, non viene prodotta e accumulata al contrario di quanto succede in altri casi.
 - Generalmente l'RNA stesso codificante per la citochina è instabile e a seguito della sintesi viene degradato.

La azione delle citochine prodotte a seguito di una stimolazione diretta, infatti, è limitata.

- Spesso citochine diverse svolgono un medesimo ruolo e una sola citochina presenta ruoli differenti: si tratta di un sistema proteico ridondante. Una tale organizzazione consente, in caso di mancanza di una delle citochine, di supplire alla sua assenza grazie alla polivalenza delle altre¹.
- Spesso le citochine interferiscono tra loro, in particolare:
 - una citochina può stimolare la produzione di altre citochine.
 - Due citochine possono essere tra loro:
 - antagoniste e generare effetti differenti.
 - Agoniste o sinergiche e generare una attivazione molto consistente.
 - Possono inoltre se combinate avere effetti supplementari differenti.
- La azione di una citochina può essere:
 - autocrina come avviene molto spesso, un tipico esempio è la produzione autocrina di IL2 del linfocita Th attivato.
 - Paracrina come avviene tipicamente nella attivazione della cellula B da parte della cellula T.
 - sistemica o endocrina: si tratta di una modalità di azione rara, sono necessarie infatti dosi molto alte per ottenere un effetto di questo tipo e per la natura stessa dei meccanismi di produzione citochinici questo non è generalmente possibile. Fa eccezione il TNF.
- Le citochine agiscono su specifici recettori che presentano generalmente una elevata sensibilità: normalmente le costanti di dissociazione sono estremamente basse, valutabili nell'ordine di 10^{-10} o 10^{-12} : per questo motivo normalmente i recettori per le citochine sono espressi a concentrazioni nell'ordine di 100-1000 per cellula. Molto spesso la presenza di fattori antigenici incrementa la sensibilità di specifiche cellule a date citochine: molto spesso la funzione della citochina è quella in stimolare la produzione di dati geni utili alla risposta immunitaria e di incrementare la attività e la proliferazione cellulare.
- Anche il sistema delle citochine presenta, chiaramente, un meccanismo a feedback negativo che consenta di inibire il sistema quando questo non sia più utile.

Le citochine possono essere classificate in tre grandi classi:

¹ Dal punto di vista terapeutico l'uso di una citochina può dare, oltre all'effetto desiderato, una lunga serie di effetti collaterali.

1. CITOCHINE COINVOLTE NELLA IMMUNITÀ NATURALE prodotte principalmente da monociti macrofagi a seguito della stimolazione, anche se non esclusivamente, di TLR; queste citochine:
 1. sono coinvolte nei meccanismi di chemiotassi e agiscono su:
 1. cellule vicine.
 2. Strutture endoteliali.
 2. Incrementano la risposta cellulare naturale.
 3. Possono essere indotte anche dalla attività di macrofagi stimolati da cellule T attivate.Anche le cellule NK producono fattori specifici utili alla risposta cellulare mediata naturale.
2. CITOCHINE COINVOLTE NELLA IMMUNITÀ SPECIFICA prodotte fondamentalmente da linfociti Th attivati, agiscono in due sensi:
 1. stimolano la proliferazione di cellule coinvolte nella immunità specifica come le cellule B o le cellule CTL.
 2. Stimolano una risposta naturale attivando per esempio macrofagi e altre cellule.
3. CITOCHINE STIMOLATRICI DELLA ATTIVITÀ EMOPOIETICA prodotte da diversi leucociti sono essenziali a garantire la proliferazione delle linee mieloidi.

La distinzione non è in ogni caso così netta.

CITOCHINE COINVOLTE NELLA IMMUNITÀ NATURALE:

TNF α :

Si tratta di una citochina essenziale nella risposta ai batteri, soprattutto di tipo gram negativo, media inoltre gran parte delle reazioni sistemiche alla infiammazione. Si distingue dal TNFB o linfotossina, in quanto quest'ultimo presenta attività citotossica.

- Viene prodotto da cellule T, cellule NK e mastocellule ma la fonte SICURAMENTE PIÙ SIGNIFICATIVA SONO I MACROFAGI ATTIVATI tramite TLR per contatto con una cellula batterica.
- La sua produzione viene innescata dal contatto con la cellula batterica o con sue componenti, ricordiamo che:
 - il principale attivatore è sicuramente L'LPS BATTERICO.
 - INF gamma presenta azione stimolante la produzione di TNF alfa.
- I recettori per il TNF sono due, entrambi ad altissima sensibilità:
 - TNF-RI.
 - TNFRII.

Associandosi ad alcuni di questi recettori il TNF ha la capacità di innescare una risposta stimolatoria che porta alla attivazione di fattori di trascrizione e quindi alla produzione di proteine; associandosi ad alcuni recettori della classe TNF-RI scatena invece una risposta di tipo apoptotico associata alla attivazione di DD intracellulari.

Le funzioni del TNF sono numerose:

- sicuramente la funzione principale è quella di richiamare in sede leucociti e di incrementare la risposta naturale nel tentativo di eradicare l'antigene, in particolare:
 - stimola l'endotelio a esporre molecole adesive per monociti, granulociti e infine anche linfociti.
 - Stimola la produzione di altre chemochine fondamentali.

- Stimola la produzione di IL-1 che di fatto presenta la medesima attività del TNF.

- Stimola la attività microbicidica di macrofagi e neutrofili.

Si tratta di una citochina chiave nella risposta infiammatoria locale, in sua assenza fundamentalmente l'organismo non risponde alla infiammazione locale. Si possono utilizzare anticorpi neutralizzanti il TNF per LIMITARE I PROBLEMI RELATIVI ALLA RISPOSTA AUTOIMMUNE LOCALE, questo soprattutto per pazienti affetti da artriti reumatoidi e patologie infiammatorie dell'intestino come il morbo di Khron.

Nel caso in cui sia prodotto ad elevate concentrazioni può assumere una importante funzione sistemica:

- incremento della temperatura corporea, azione comune a TNF e IL-1, tramite azione diretta di incremento della attività delle COX delle cellule ipotalamiche.
- Incrementa la produzione di proteine della fase acuta.
- Da una sensazione di sazietà che alla lunga si traduce anche in cachessia.
- Se la produzione di TNF porta al raggiungimento di concentrazioni ematiche di $10^{-7}M$ si assiste ad un calo generalizzato della contrattilità delle fibre muscolari, comprese quelle cardiache, questo porta ad un calo della pressione ematica ed eventualmente a shock.
- In quanto forte stimolatore infiammatorio, induce una attivazione endoteliale notevole e porta ad un incremento della coagulazione intravascolare fino eventualmente ad una CID.

Lo shock conseguente all'incremento delle concentrazioni di LPS legato ad infezioni da batteri gram negativi è mediato proprio dalla attivazione di TNF e di altre citochine quali IL-1 e 12 e INFgamma: si tratta di una delle poche situazioni in cui i livelli di citochine circolanti possono essere indicativi di una prognosi negativa.

IL-1:

analogamente al TNF anche la interleuchina 1 gioca un ruolo fondamentale nella induzione della risposta immunitaria. Le fonti di IL-1 sono:

- neutrofili.
- Cellule epiteliali.
- Cellule endoteliali.
- Ma soprattutto, analogamente al TNF, da macrofagi attivati.

Esiste in due forme, IL1 α e IL1 β decisamente differenti una dall'altra ma che si associano ad un medesimo recettore. L'effetto biologico è fundamentalmente identico a quello del TNF.

CHEMOCHINE

le chemochine sono una famiglia di citochine molto simili la cui funzione è quella di stimolare il flusso di leucociti verso il luogo dell'infezione: si tratta di un complesso di più di 50 peptidi caratterizzate da un peso molecolare variabile da 8 a 12kD caratterizzati da due ponti disolfuro interni. La classificazione di queste molecole si basa sulla disposizione delle CISTEINE PRESENTI NELLA LORO STRUTTURA, distinguiamo:

- CC con due cisteine contigue.
- CXC caratterizzate dalla presenza di un amminoacido tra le due cisteine.
- CX₃C caratterizzate dalla presenza di tre amminoacidi tra le due cisteine.



Fondamentalmente queste molecole sono prodotte:

- cellule endoteliali e giocano un ruolo fondamentale nella stimolazione alla esposizione delle integrine utili nella fase di spreading.
- Fibroblasti.
- Leucociti.

Generalmente la stimolazione alla produzione di citochine può essere direttamente indotta dall'agente esogeno, mediante generalmente TLR, o mediante la stimolazione di citochine infiammatorie quali TNF e IL-1. Alcune di queste molecole sono prodotte costitutivamente a livello delle linfoghiandole e di altri organi linfoidi per garantire il corretto insediamento e ricircolo dei linfociti T. I recettori per questo tipo di molecole sono recettori a sette segmenti transmembrana associati a G proteins. Le funzioni biologiche di queste molecole sono numerose, non solo relative alla chemiotassi:

- stimolano il richiamo di cellule leucocitarie nella sede della infiammazione ovviamente.
- Controllano il traffico di cellule linfocitarie nell'organismo.
- Promuovono angiogenesi e recupero delle ferite, questo soprattutto per quanto riguarda le chemochine di classe CXC che agiscono in combinazione a fattori prodotti dai fibroblasti nella riparazione delle ferite. Chemochine antiangiogeniche vengono poi prodotte a seguito della riparazione della ferita per fermare il processo.
- Sembra, sulla base di esperimenti su topo knockout, che tali chemochine abbiano un ruolo importante nella evoluzione di organi quali cervelletto e cuore.

INTERLEUCHINA 12:

induce una immediata risposta contro patogeni intracellulari e stimola la risposta citotossica cellulo mediata. La principale fonte di produzione di questa interleuchina sono cellule dendritiche attivate e i macrofagi. Le azioni biologiche svolte da questa citochina sono:

- stimolazione della produzione di INTERFERON GAMMA da parte di cellule NK e cellule T: si tratta di un meccanismo di interazione cellula cellula fondamentale per cui la cellula dendritica o la cellula macrofagica stimola la produzione di interferon gamma nelle cellule NK e nelle cellule T che, oltre a stimolare la attivazione citotossica delle cellule stesse, stimola la attivazione dei macrofagi. Molto importante contro patogeni intracellulari.
- Stimola la proliferazione e differenziazione delle cellule Th in Th1 produttrici di INF gamma.
- La IL12 stimola inoltre direttamente la attività di cellule citotossiche, sia le NK che le CTL.

GLI INTERFERONI:

si tratta di un complesso gruppo di citochine che media la risposta immunitaria a infezioni di natura virale. Sono tutti codificati sul cromosoma 9 e alla classe degli interferoni naturali appartengono gli interferoni α , β , ϵ , κ e ω sono prodotti:

- da cellule infette da virus.
- Da cellule dendritiche plasmocitoidi.
- Macrofagi.

La attivazione della produzione è vincolato alla percezione di molecole di DNA o RNA virali all'interno della cellula infetta. L'azione biologica di queste molecole comprende:

- inibizione della attività di replicazione virale, in particolare tramite la attivazione

di:

- PKR16 che inibisce la trascrizione del materiale virale e la produzione di proteine.
- oligoadenilato sintasi e RNAasi che promuovono la degradazione attiva delle molecole di DNA o RNA virali.

Fondamentalmente la produzione ad azione PARACRINA di questi fattori stimola il passaggio ad uno stato di attivazione antivirale delle cellule vicine a quella infetta. Agiscono anche in senso autocrino inibendo la proliferazione del materiale virale nella cellula infetta.

- Stimola la esposizione di MHC di tipo I e stimola quindi la attività citotossica.
- Stimola la proliferazione delle cellule T in forma di cellule Th1.
- Promuove il sequestro delle cellule T a livello delle strutture linfonodali.
- L'azione inibente la proliferazione cellulare si estrinseca anche su altre cellule in fase di attiva replicazione.

L'interferone alfa è spesso utilizzato nella terapia della epatite B, inoltre l'interferone beta sembra abbia un effetto benefico sulla sclerosi multipla, ma non è noto quale sia il meccanismo di attivazione.

INTERLEUCHINA 10:

si tratta di una interleuchina ad attività inibente la attività macrofagica e la attività delle cellule dendritiche, inibisce la risposta naturale e la risposta cellulo-mediata; fondamentalmente inibisce la maggior parte della attività macrofagica attivata. Le azioni biologiche di questo tipo di composto sono:

- inibizione della attivazione di cellule macrofagiche e dendritiche, di conseguenza inibisce la produzione di IL-12 e spegne, di conseguenza, la attivazione alla produzione di interferone gamma; complessivamente downregola la risposta cellulo mediata.
- Inibisce la attivazione delle cellule T inibendo la esposizione di MHC di classe II e di COSTIMOLATORI della attivazione delle cellule T.

la mancanza di IL-10 provoca una iperattività del sistema immunitario, soprattutto a livello intestinale. Sembra inoltre che la attività immunosoppressiva del virus di epstein barr sia strettamente legata al fatto che il genoma di tale virus codifica per una forma virale di IL-10 fondamentalmente identica, funzionalmente, alla IL-10 umana.

ALTRE CITOCHINE DELLA IMMUNITÀ NATURALE:

- IL-6: prodotta da numerose cellule, tra cui cellule macrofagiche endoteliali e altre, fondamentalmente:
 - stimola la proliferazione di linee mieloidi a livello midollare.
 - Stimola la produzione epatica di proteine della fase acuta.
 - Stimola la differenziazione di cellule B a PLASMACELLE.

Molto aumentata in mielomi.

- IL-15: prodotta da cellule fagocitiche mononucleate e da altre cellule attivate da infezioni virali, ha la capacità di stimolare la ATTIVAZIONE E LA PROLIFERAZIONE DELLE CELLULE NK.
- IL-18: la sua funzione è di stimolare la risposta cellulo mediata, fondamentalmente incrementa la attività delle cellule NK e incrementa la produzione di INF gamma.

CITOCHINE COINVOLTE NELLA IMMUNITÀ ADATTATIVA:



si tratta di citochine che attivano il riconoscimento dell'antigene e la sua presentazione o citochine che stimolano la attivazione delle cellule della immunità adattativa.

INTERLEUCHINA 2:

fattore di crescita, sopravvivenza e differenziazione fondamentale per le cellule T, agendo sulle cellule Treg, presenta una fortissima attività regolativa. Tale fattore viene prodotto localmente soprattutto dalle cellule T CD4 a seguito di una stimolazione da parte di APC e presenta azione prevalentemente autocrina. La produzione di IL2 raggiunge il suo picco in un periodo da 8 a 12 ore dall'inizio della attivazione. La esposizione del recettore per IL-2 è strettamente associato allo stato di attivazione della cellula T e viene sostanzialmente sempre espresso da cellule T a funzione regolatrice che sono costantemente stimulate. Il recettore per il IL-2 è costituito di tre catene peptidiche differenti:

- IL-2R(CD25) specifico per il IL-2 e che si lega in modo estremamente forte ad essa.
- IL2/15RB che contribuisce al legame con la IL2 e si associa anche alla IL-15.
- γc che partecipa alla costituzione del recettore per IL-4, 7 e 15.

combinazioni differenti di queste componenti danno vita a recettori ad alta (tutte e tre le componenti), media e bassa affinità (solo due componenti). Il ruolo biologico di questa citochina comprende:

- è fondamentale per la attivazione della inibizione della risposta immunitaria, le cellule che presentano questa funzione espongono costitutivamente CD25.
- Stimola la attivazione di cellule T attivate dall'antigene inviando stimoli anti apoptotici e direttamente proliferativi. Stimola inoltre in queste cellule la produzione di altri fattori citochinici quali INF gamma, IL-4 e altre.
- Promuove la proliferazione delle cellule NK.
- Stimola, soprattutto in vitro, la proliferazione delle cellule B e la produzione di anticorpi.

INTERLEUCHINA 4:

la IL-4 gioca un ruolo fondamentale nella attivazione delle cellule T naive a cellule Th2 e il class switch verso le IgE e viene prodotta principalmente da Th2 attivate. L'azione biologica di questa molecola è fondamentale:

- stimola il class switch verso le IgE e verso le IgG4.
- Stimola la evoluzione delle cellule T naive a Th2 e funziona anche come un fattore autocrino di attivazione delle cellule Th2 stesse.
- IL-4 e IL-13 stimolano la attivazione macrofagica in modo differente dall'INFgamma incrementando la capacità di fagocitosi di queste cellule.

INTERLEUCHINA 5:

ponte di comunicazione tra le cellule T e la attivazione degli eosinofili, in particolare stimola la degranolazione; viene prodotta fundamentalmente da cellule Th2 e da MASTOCELLULE. L'azione biologica di questo tipo di molecola è:

- incrementare la attivazione degli eosinofili.
- Incrementare la proliferazione della linea mieloide, in particolare relativamente agli eosinofili, a livello del midollo spinale.

Si occupa fundamentalmente di stimolare la risposta contro i parassiti.

INTERLEUCHINA 13:

strutturalmente simile alla IL-4 gioca un ruolo fondamentale nella difesa contro i parassiti e contribuisce alle reazioni allergiche. Viene prodotta da:



- linfociti T di tipo Th2 principalmente.
- Linfociti CTL e cellule NK nelle prime fasi della infezione.
- Basofili ed eosinofili.

Gli effetti biologici di questo tipo di molecola sono:

- promuove la produzione di collagene da parte dei macrofagi e attiva i fibroblasti, promuove insomma la cicatrizzazione del tessuto colpito; questa funzione è unica della IL-13 e non della IL-4.
- Stimola la produzione di muco a livello delle vie respiratorie, altra azione specifica di questa interleuchina.
- Induce, analogamente alla IL-4 il class switch verso la IgE.
- Promuove la risposta infiammatoria in particolare stimolando la esposizione di molecole come le VCAM che promuovono lo stravasamento di granulociti e monociti.

INTERFERON GAMMA:

si tratta di un interferone di tipo autoimmune, prodotto dalle cellule linfocitarie presenta una elevata attività stimolante la attivazione MACROFAGICA, probabilmente si tratta dell'attivatore macrofagico più potente, e la attivazione della risposta cellulare mediata contro PARASSITI INTRACELLULARI. Viene prodotto:

- da cellule NK in particolare a seguito di stimolazione da parte di IL12 o da parte di molecole poste sulle superfici cellulari.
- Da cellule T in particolare a seguito del riconoscimento dell'antigene o a seguito di una stimolazione da parte di IL-12 e IL-18.

Le azioni biologiche stimulate da questo tipo di composto sono:

- attiva le cellule macrofagiche ad uccidere i microbi endocitate, si tratta dell'unico stimolo, oltre a CD40 delle cellule T, a rendere possibile l'attivazione da parte degli effettori della risposta citotossica, delle cellule macrofagiche.
- Stimola la proliferazione delle cellule T naive a cellule Th1 e di conseguenza stimola la risposta citotossica.
- Stimola il class switch verso le IgG e inibisce lo switch verso classi Th2 dipendenti come le IgE.
- Stimola l'esposizione a livello delle APC di MHC di classe I e II e di costimolatori ad essi associati.

Non presenta attività antivirale rispetto alle strutture cellulari, o comunque non marcata quanto gli interferoni naturali: fondamentalmente stimola la formazione di infiltrati infiammatori di tipo macrofagico piuttosto che di tipo granulocitico.

TRANSFORMING GROWTH FACTOR beta:

si tratta di una interleuchina a funzione prevalentemente immunosoppressiva, tuttavia la sua azione può essere anche stimolatoria e dipende da luogo e tempo della sua comparsa fondamentalmente. Questo composto viene prodotto da cellule quali:

- cellule T stimulate da antigeni.
- Macrofagi attivati.
- Molti altri tipi di cellule.

Produttori di TGFbeta sono sicuramente le cellule regolatrici produttrici di IL-10.

L'azione biologica di questo tipo di fattori è fondamentale:

- inibisce la attivazione delle cellule macrofagiche e blocca la proliferazione e la attività delle cellule T; tuttavia se prodotto prima della attivazione delle cellule T e in combinazione con altre citochine di natura stimolante la infiammazione, è

capace di stimolare la attivazione delle cellule T.

- stimola il class switch verso la produzione di IgA.
- Stimola la cicatrizzazione tissutale.

ALTRE CITOCINE COINVOLTE:

- LINFOTOSSINA o TNFbeta: si tratta di una citochina fondamentale, molto simile alla TNF alfa dal punto di vista strutturale, si lega ai medesimi recettori, tuttavia media due azioni differenti:
 - presenta una importantissima funzione citotossica attivando a livello intracellulare una serie di DD (death domain) la cui azione è quella di attivare procaspasi a caspasi che uccidono la cellula bersaglio.
 - Presenta una funzione proinfiammatoria, tuttavia per quantità e localizzazione non presenta una grande efficacia.

EVOLUZIONE DELLE LINEE CELLULARI LINFOIDI E CITOCINE:

il ruolo delle citochine nella evoluzione delle linee linfoidi è fondamentale: diverse citochine giocano un ruolo fondamentale nella attivazione della risposta anticorpale o citotossica e all'interno della risposta anticorpale sono molto importanti nel determinare quale classe di immunoglobuline verrà specificamente prodotta.

CITOCINE PRODOTTE DAI LINFOCITI T HELPER:

possiamo dire che fundamentalmente esistono tre tipi di cellule T helper e ciascuna di esse è capace di produrre differenti tipologie di citochine:

- Th1 stimolanti la risposta citotossica producono fundamentalmente tre tipologie di citochine:
 - IL-2.
 - INFgamma.
 - TNFalfa.
- Th2 stimolanti la risposta anticorpale producono fundamentalmente:
 - IL-3.
 - IL-4.
 - IL-5.
 - IL-10.
 - IL-13.
- Th17 scoperte recentemente, sono capaci di produrre:
 - IL-17 a e b.
 - IL-21.
 - IL-22.

Sembra siano coinvolte nella regressione di alcune masse tumorali soprattutto in stadio avanzato.

Le citochine coinvolte in questo tipo di processi presentano spesso funzione correlata sia in senso positivo che in senso negativo:

- citochine che presentano la medesima azione sono:
 - IL-2 e IL-15.
 - IL-4 e IL-13.
- Citochine che interferiscono con la produzione di altre citochine sono:
 - INFgamma che inibisce la produzione di tutte le citochine della linea Th2.
 - IL-10 che inibisce la produzione di tutte le citochine della linea Th1.

CITOCINE CAPACI DI INFLUIRE SUL CLASS SWITCH DEI LINFOCITI B:



le citochine capaci di influire sullo switch isotipico dei linfociti B sono numerose e diverse:

- la produzione di IgM risulta stimolata da:
 - IL-2.
 - IL-4.
 - IL-5.
- la produzione di IgG risulta stimolata da:
 - IL-2.
 - IL-4.
 - IL-6.
 - INF gamma.
- La produzione di IgE risulta stimolata da:
 - IL-4.
 - IL-13.

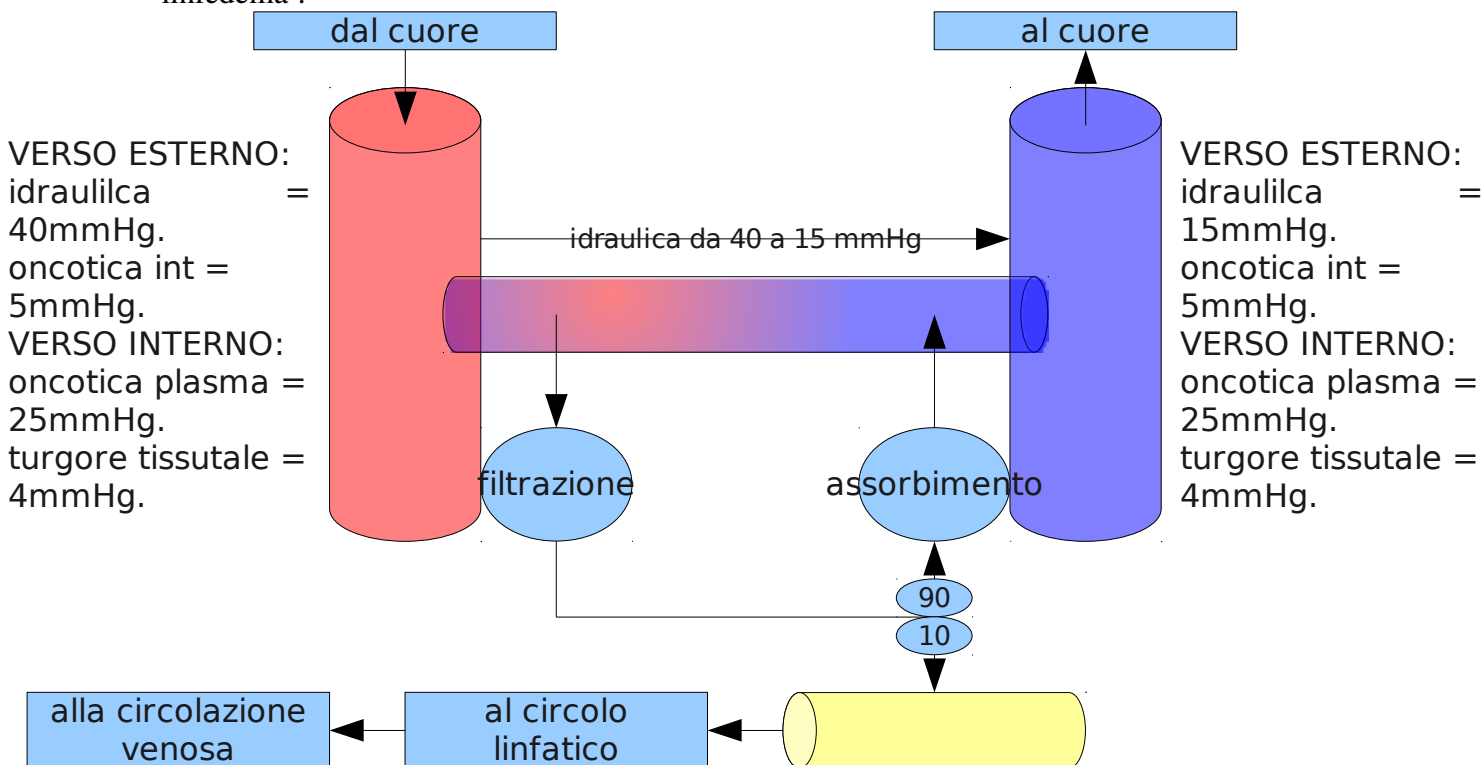
Dipende quindi unicamente dalla classe di linfociti Th2.

- La produzione di IgA risulta stimolata da:
 - IL-5.
 - TGFbeta prodotto unicamente dalle cellule Th3.

IL SISTEMA LINFATICO

Il sistema linfatico è un complesso sistema di vasi, sostanzialmente ubiquitario¹ rispetto alle diverse parti del nostro corpo, dalle molteplici funzioni; in particolare ricordiamo che tale sistema:

1. svolge un ruolo fondamentale nel trasporto delle componenti particolate, soprattutto proteiche, dall'interstizio verso il plasma: il 10% di quanto viene escreto dal capillare sanguifero a livello del microcircolo non viene riassorbito direttamente nel sangue ma giunge ad esso tramite la circolazione linfatica. Tale fenomeno di riassorbimento è fondamentale per quanto riguarda il controllo della osmolarità dell'interstizio stesso: se le proteine escrete nell'interstizio stesso non fossero riassorbite dal circolo linfatico, si assisterebbe ad un incremento notevole della spinta osmotica verso l'esterno del vaso e di conseguenza non verrebbero riassorbiti correttamente i fluidi portando alla formazione di EDEMI molto pericolosi. Quando si verifica una situazione di questo tipo si parla di linfedema².



2. Altra funzione fondamentale è sicuramente quella di trasportare cellule immunocompetenti da e verso tutti i distretti del corpo e di coordinare l'attività di tali cellule con centri linfoidi quali i LINFONODI, piccoli organi interconnessi in tutto il corpo al sistema dei vasi

1 Nella realtà dei fatti non contengono vasi sanguiferi e linfatici: cristallino, cornea, epidermide, cartilagine e tonaca intima delle grandi arterie. Inoltre vasi linfatici non si riscontrano: nel sistema nervoso centrale, nelle ossa, nella parte materna della placenta e nell'endomysio dei muscoli; tuttavia anche queste zone presentano condotti prelinfatici capaci di drenare ai vasi linfatici zonali.

2 La funzionalità dei capillari linfatici è fondamentale a livello polmonare dove la loro capacità di riassorbire i liquidi interstiziali è elevatissima. Un ulteriore caso da prendere in considerazione è sicuramente relativo ai vasi linfatici renali: tali vasi presentano infatti una notevole capacità di LAVAGGIO rispetto alla midollare rendo quindi possibile una ulteriore regolazione dei meccanismi di riassorbimento.

linfatici.

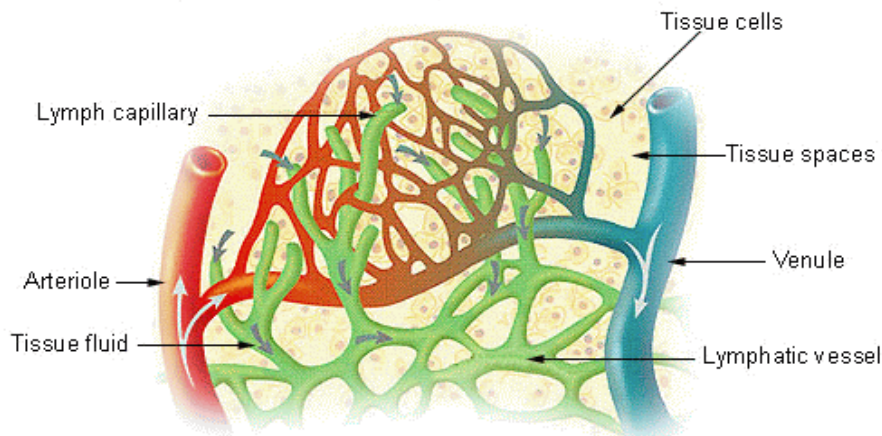
3. Il sistema linfatico si occupa inoltre del riassorbimento e della gestione di molecole LIPOPROTEICHE dette chilomicroni, prodotte a livello intestinale nei meccanismi di digestione e riassorbimento dei lipidi: tali molecole sono troppo grandi per penetrare attraverso i vasi sanguiferi e sono inoltre fortemente idrofobe³, aspetto che le rende ancor più difficilmente trasportabili attraverso il sangue. Tale fenomeno si verifica per la presenza a livello dei villi intestinali di un particolare tipo di vaso linfatico detto VASO CHILIFERO.

LA FORMAZIONE DELLA LINFA quindi è un processo che interessa fundamentalmente l'attività del microcircolo, in particolare possiamo dire che:

- vista la elevatissima permeabilità del capillare linfatico, la composizione della LINFA a livello periferico è sostanzialmente IDENTICA A QUELLA DEL LIQUIDO INTERSTIZIALE.
- Passando attraverso le cellule dell'interstizio il liquido espulso dai vasi sanguiferi si arricchisce di prodotti cellulari:
 - principalmente CATABOLITI CELLULARI.
 - Elementi ORMONALI o ad AZIONE PARACRINA secreti dalle cellule dell'interstizio.
- A livello intestinale, come sottolineato in precedenza, sono presenti anche CHILOMICRONI.
- Nel corso del suo passaggio attraverso i vasi linfatici la LINFA ACCOGLIE NUMEROSE CELLULE IMMUNOCOMPETENTI che si aggiungono al corredo particellare della stessa.

Nel complesso possiamo dire che nelle 24 ore si formano circa 2-4 litri di linfa.

Lymph Capillaries in the Tissue Spaces



ANATOMIA DEL SISTEMA LINFATICO:

Il sistema dei vasi linfatici permette di distinguere fundamentalmente due tipologie di vasi:

- vasi LINFATICI PERIFERICI ad elevata capacità assorbente.
- Vasi LINFATICI DI CONDUZIONE funzionali invece a condurre la linfa verso il sistema venoso.

VASI LINFATICI PERIFERICI o CAPILLARI LINFATICI: i capillari linfatici rimuovono attivamente dall'interstizio i fluidi in eccesso, sono sostanzialmente dei piccoli vasi tubulari a fondo

³ Si tratta di complessi di acidi grassi esterificati, possiamo dire, approssimativamente, che acidi grassi a catena corta (sotto i 12 atomi di carbonio) possono penetrare direttamente nel sangue, mentre acidi grassi a catena lunga possono essere immessi in circolo unicamente in questo modo.

cieco immersi nell'interstizio stesso a formare una rete linfatica funzionale estremamente efficace. Complessivamente possiamo dire che questi vasi sono composti di:

- UN ENDOTELIO CONTINUO.
- UNA MEMBRANA BASALE ASSENTE O PARZIALE.

Questi vasi sono completamente PRIVI DI FIBROCELLULE MUSCOLARI LISCE e presentano un diametro di circa 10-60micron.

LA LINFA VIENE ATTIVAMENTE ASSORBITA DALL'INTERSTIZIO GRAZIE AD UNA AZIONE DI POMPA ASPIRANTE LEGATA AL CAPILLARE LINFATICO STESSO: il capillare linfatico svolge una azione di risucchio attivo grazie alla presenza di filamenti di ancoraggio di 6-10nm che connettono radialmente il versante esterno del vaso alle strutture circostanti; questi consentono l'allargamento del vaso linfatico e quindi il risucchio del materiale dall'interstizio.

VASI LINFATICI DI CONDUZIONE: si tratta di diversi tipi di vasi a calibro crescente, possiamo dire si identificano, rispetto ai capillari linfatici, delle differenze significative:

- la membrana basale assume carattere continuo.
- Si possono identificare delle fibrocellule muscolari essenziali nell'esercitare la loro funzione propulsiva.
- Nei vasi di dimensioni maggiori, inoltre, si possono individuare tre strati:
 - un endotelio che poggia sulla membrana basale.
 - Uno strato di muscolatura liscia mista a fibre collagene ed elastiche.
 - Uno strato avventiziale di fibre connettivali.

sostanzialmente distinguiamo a partire dalla periferia seguendo il percorso della linfa:

- **PRECOLLETTORI:** sono piccoli vasi che consentono la comunicazione tra il distretto periferico, dove si forma la linfa vera e propria, e il distretto di vasi collettori dove la linfa viene invece unicamente trasportata. Sono dotati di poche valvole spesso non efficaci.
- **COLLETTORI:** si tratta di vasi di dimensioni maggiori estremamente diffusi nel nostro corpo, in particolare si distinguono a seconda della loro posizione:
 - collettori **SUPERFICIALI** che si collocano nei tegumenti e in particolare nel sottocute. Sono generalmente a decorso indipendente.
 - Collettori **PROFONDI** che si collocano in profondità nei distretti viscerali. Sono generalmente satelliti di vasi sanguiferi.

A livello funzionale distinguiamo inoltre **COLLETTORI PRE E POST LINFONODALI** a seconda che questi precedano o succedano alla stazione linfonodale di riferimento.

Strutturalmente possiamo ricordare che:

- difficilmente presentano una stratificazione ben delineata a livello della parete.
 - Presentano numerose valvole che danno al vaso una forma festonata caratterizzata cioè da dilatazioni e restringimenti continui.
 - La struttura muscolare, molto presente, si organizza, generalmente, in due strati elicoidali che scompaiono a livello delle strutture valvolari.
 - Questi vasi sono fortemente ancorati alle strutture interstiziali e permangono per questo motivo costantemente pervi.
 - L'avventizia dei collettori continua con o si continua dal connettivo capsulare del linfonodo.
- **TRONCHI LINFATICI:** si tratta di grossi vasi linfatici che possono fare capo a uno dei due

grossi tronchi linfatici o direttamente a vasi venosi della regione toracica, in particolare distinguiamo:

- TRONCHI LOMBARI destro e sinistro che ricevono la linfa dei gruppi linfonodali aortico laterale e dei linfonodi lomboaortici; complessivamente ricevono quindi la linfa drenata dalle regioni:
 - vascolarizzate dai rami splancnici pari della aorta.
 - Parete addominale sottoombelicale.
 - Parete pelvica e perineale.
 - Arto inferiore.

Generalmente si gettano nella cisterna del Chilo, origine del dotto toracico, in ogni caso non fanno capo in nessun caso al dotto linfatico destro.

- TRONCO INTESTINALE che riceve la linfa dei linfonodi celiaci e preaortici; raccoglie quindi la linfa prodotta:
 - nei territori vascolarizzati dai rami impari della aorta splancnici.
 - Porzione sottodiaframmatica dell'apparato digerente e quanto ad esso annesso fino alla metà del retto.

Come il precedente si getta nella cisterna nel CHILO.

- TRONCHI BRONCOMEDIASTINICI DESTRO E SINISTRO che accolgono la linfa dei gruppi linfonodali BRACHIOCEFALICO e TRACHEOBRONCHIALE. Possiamo dire che drenano rispettivamente la parte destra e la parte sinistra dei visceri profondi del torace, dai polmoni al cuore.

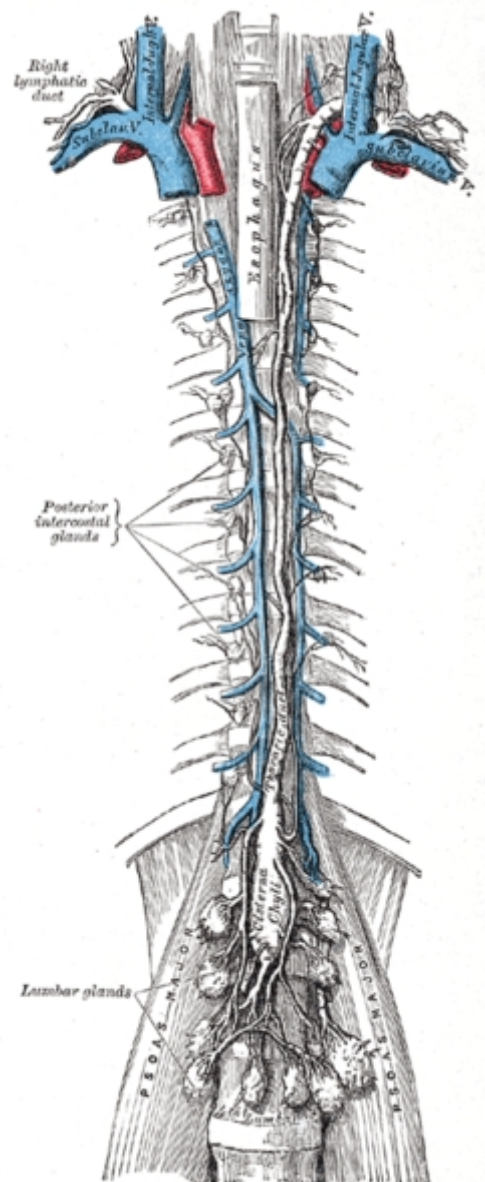
Generalmente sfociano in modo indipendente nelle strutture venose del torace, alla giunzione giugulosucclavia di destra e sinistra rispettivamente.

- TRONCHI SUCCLAVI DESTRO E SINISTRO: accolgono la linfa che fa capo al gruppo dei linfonodi ascellari e quindi dei territori:
 - degli arti superiori.
 - Della parete toracica superficiale.
 - Della parete addominale superiore, cioè sopraombelicale.
 - Della MAMMELLA.

Possono confluire direttamente a livello delle strutture venose del torace o a livello dei dotti linfatici di riferimento (dotto linfatico destro e dotto toracico rispettivamente).

- TRONCHI GIUGULARI DESTRO E SINISTRO che convogliano la linfa dal sistema linfatico giugulare, in particolare quindi dalle rispettive metà della testa e del collo.

Possono confluire direttamente a livello delle strutture venose del torace o a livello dei dotti linfatici di riferimento (dotto linfatico destro e dotto toracico



rispettivamente).

- DOTTI LINFATICI: si tratta di due grandi vasi linfatici che connettono, almeno in parte, i tronchi linfatici sopra descritti con la circolazione venosa, in particolare distinguiamo:
- DOTTO TORACICO: origina dalla confluenza dei sistemi di drenaggio linfatico della parte inferiore del corpo:
 - tronchi lombari destro e sinistro.
 - Tronco intestinale.

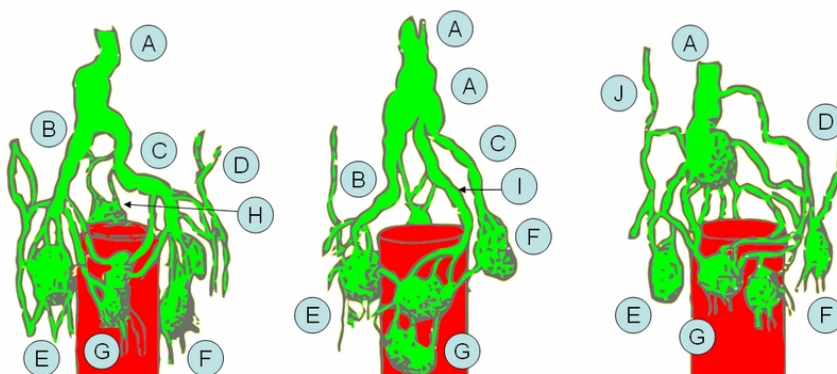
A livello della seconda vertebra lombare; presenta quindi:

- lunghezza variabile da 38 a 45cm.
- Calibro da 4 a 8mm in relazione alle diverse sezioni prese in considerazione.

A livello di decorso possiamo dire che:

- origina spesso, ma non sempre, con la CISTERNA DEL CHILO o DI PAQUET, a livello di L2.
- Si sviluppa nell'addome tra le vertebre, lombari e toraciche, e l'aorta addominale.
- Nella regione toracica:
 - in un primo momento si colloca tra aorta e vena azygos, posteriormente all'esofago.
 - Si porta quindi in contatto con il polmone sinistro e la pleura sinistra, decorrendo posteriormente alla aorta.
 - Assume quindi un andamento ad arco per passare al di sopra della cupola polmonare sinistra e gettarsi a livello della giunzione giugulosucclavia di sinistra.
 - Nel suo sviluppo può accogliere o meno tronchi linfatici derivanti dalla parte superiore del corpo.
- DOTTO LINFATICO DESTRO, incostante, può originare dalla giunzione dei tronchi linfatici destri giugolare e succlavio.

Diversi modelli di origine del dotto toracico:



LA PROPULSIONE DELLA LINFA si ottiene nei vasi sopra descritti per la combinazione di tre fattori fondamentalemente:

1. VIS A LATERE:

1. compressione esterna dei vasi linfatici legata alla compressione muscolare.
2. Compressione esterna dei vasi linfatici legata alla azione muscolare delle strutture

arteriose pulsanti: tale fenomeno si verifica in particolare a livello delle strutture muscolari e incrementa quindi con la attività fisica.

3. Attività contrattile spontanea dei VASI LINFATICI: si tratta di una attività peristaltica con velocità di propagazione a 400-500 micron al secondo.
2. VIS A TERGO legata alla pressione interstiziale che influisce sulla formazione della linfa, anche se tale forza è minima.
3. VIS A FRONTE legata alla attività respiratoria e alla pressione intratoracica negativa.

I LINFONODI:

Il linfonodo è un organo LINFOIDE secondario così definito in quanto non produce direttamente cellule bianche ma ne ospita semplicemente, la sua funzione è quella fondamentale di FAVORIRE AL MASSIMO L'INCONTRO TRA ANTIGENI E CELLULE DEL SISTEMA IMMUNITARIO; nel suo complesso ospita:

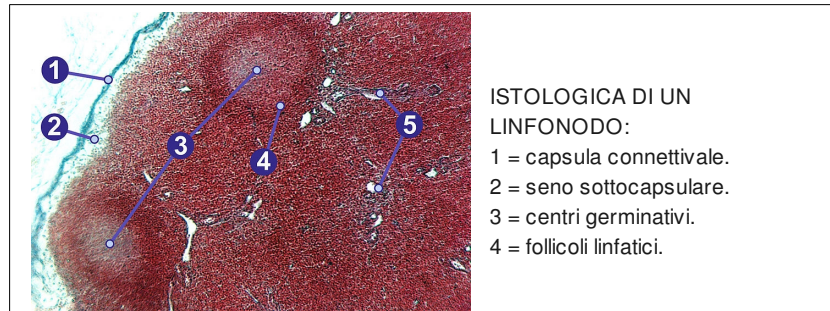
- linfociti di tipo B e T.
- cellule della memoria che si sviluppano a partire dalla attivazione dei suddetti linfociti.
- Numerose CELLULE PRESENTANTI L'ANTIGENE di varie e diverse categorie.

STRUTTURA:

un linfonodo è formato da fondamentalmente da un rivestimento esterno connettivale, uno stroma interno reticolare connettivale, tipico di organo linfoide, un parenchima composto di numerose cellule linfoide e altri citotipi; risulta, per la sua stessa funzione, particolarmente innervato e vascolarizzato.

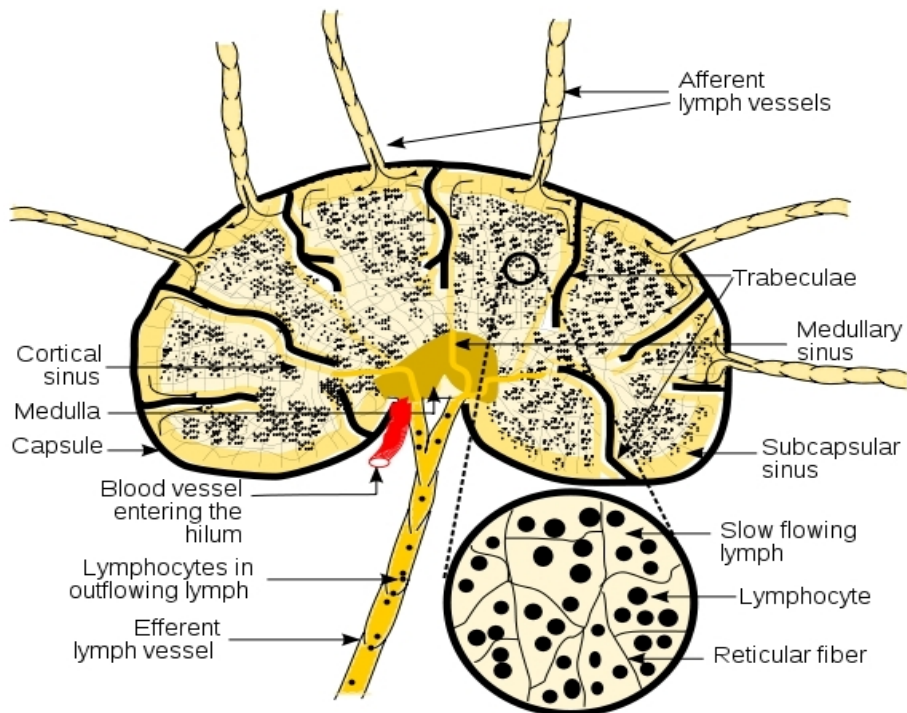
- LA CAPSULA CONNETTIVALE è costituita di TESSUTO CONNETTIVO DENSO che continua nella avventizia dei vasi linfatici vicini; tale capsula presenta funzioni di sostegno e di protezione.
 - LO STROMA CONNETTIVALE è costituito di collagene di tipo terzo le cui fibre sono interconnesse alle cellule reticolari del linfonodo.
 - IL PARENCHIMA risulta in linea generale organizzato secondo tre regioni distinguibili in sezione:
 - CORTICALE → sono in questa regione presenti numerosi linfociti di tipo B associati a cellule presentanti l'antigene; tali complessi sono organizzati in particolare in follicoli:
 - PRIMARI composti di piccoli linfociti fortemente addensati, sono piccole e scuri, INATTIVI.
 - SECONDARI provvisti di veri e propri centri germinativi di colore chiaro attivi circondati da una zona mantellare composta di linfociti attivamente circolanti e di colore maggiormente scuro.
 - PARACORTICALE: si tratta di una regione composta prevalentemente di LINFOCITI di tipo T, si colloca profondamente alla corticale e presenta struttura UNIFORME in quanto è ricca di linfociti T e cellule presentanti l'antigene, in particolare:
 - cellule INTERDIGITATE della classe dei monociti macrofagi.
 - Cellule A VELO: si tratta di cellule DI LANGHERNAS migrate dal sistema linfatico associato alla cute fino al linfonodo dove assumono il nome di cellule a velo per l'appunto.
- In questa sede si collocano inoltre numerose VENE ad ENDOTELIO ALTO: si tratta di vene che presentano caratteristicamente una elevata permeabilità a linfociti.
- MIDOLLARE: tale regione risulta organizzata in CORDONI di LINFOCITI, in

particolare costituiti di numerose plasmacellule, macrofagi e linfociti di piccole dimensioni, i cordoni sono tra loro separati da **CORDONI LINFATICI**.



[immagine tratta da wikipedia](#)

- **SISTEMI DI VASCOLARIZZAZIONE:** la vascolarizzazione linfatica è chiaramente estremamente elevata, molto importante risulta anche la vascolarizzazione sanguifera.
 - La **VASCOLARIZZAZIONE LINFATICA** risulta organizzata in tre livelli coincidenti con le tre regioni sopra descritte:
 - i collettori prelinfonodali si gettano nel linfonodo e formano **IL SENO MARGINALE** molto ampio e sviluppato.
 - Il seno marginale si **APPROFONDA** nel **LINFONODO** formando un discreto numero di seni che si sviluppano verso l'ilo dell'organo.
 - A livello del centro del linfonodo troviamo il **SENO TERMINALE** che accoglie una grande quantità di linfa e che risulta inframezzato ai cordoni linfatici della midollare.
 - Dal seno terminale emerge, generalmente, un unico vaso efferente precollettore postlinfonodale.Tutti i seni del linfonodo sono circondati da cellule linfatiche dette del seno e che si attivano in contatto con la linfa.
 - **LA VASCOLARIZZAZIONE SANGUIFERA** viene invece ad essere organizzata in un sistema a rete capillare che si sviluppa a partire da un vaso arterioso che penetra tramite l'ilo del linfonodo e che fa capo ad una struttura venosa efferente. Le strutture venose presenti in questa sede presentano una organizzazione particolare, si parla di **HEV high endothelial venules**: si tratta delle uniche vene dell'organismo umano in cui è consentito il passaggio fisiologico dei linfociti dal circolo all'intestizio, fondamentale per garantire il controllo dell'intero sistema da parte delle cellule T. La relazione tra cellule **LINFOCITARIE** e **STRUTTURE ENDOTELIALI** è garantita dalla presenza di molecole apposite dette:
 - **L SELECTINA** per il linfocita.
 - **PNAd** espressa in modo specifico dall'endotelio.



DISTRIBUZIONE DEI LINFONODI NEL CORPO UMANO:

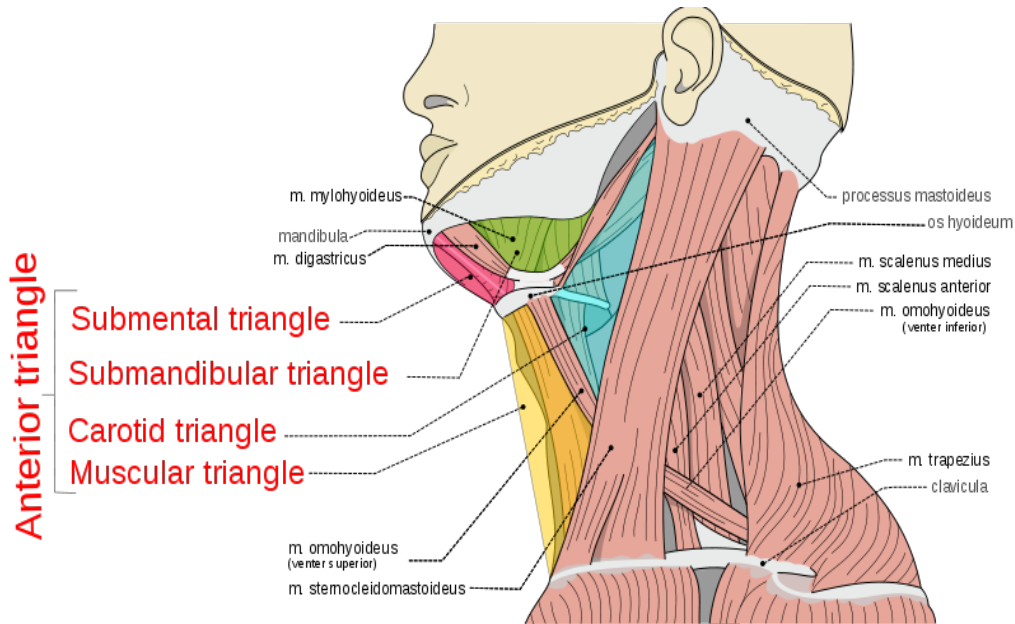
il corpo umano è dotato di un elevatissimo numero di linfonodi, circa 800, distribuiti nelle diverse parti del corpo e in quantità diversa, in particolare possiamo distinguere diverse regioni facenti capo a diversi centri linfonodali.

IL DRENAGGIO LINFATICO DELLA TESTA E DEL COLLO:

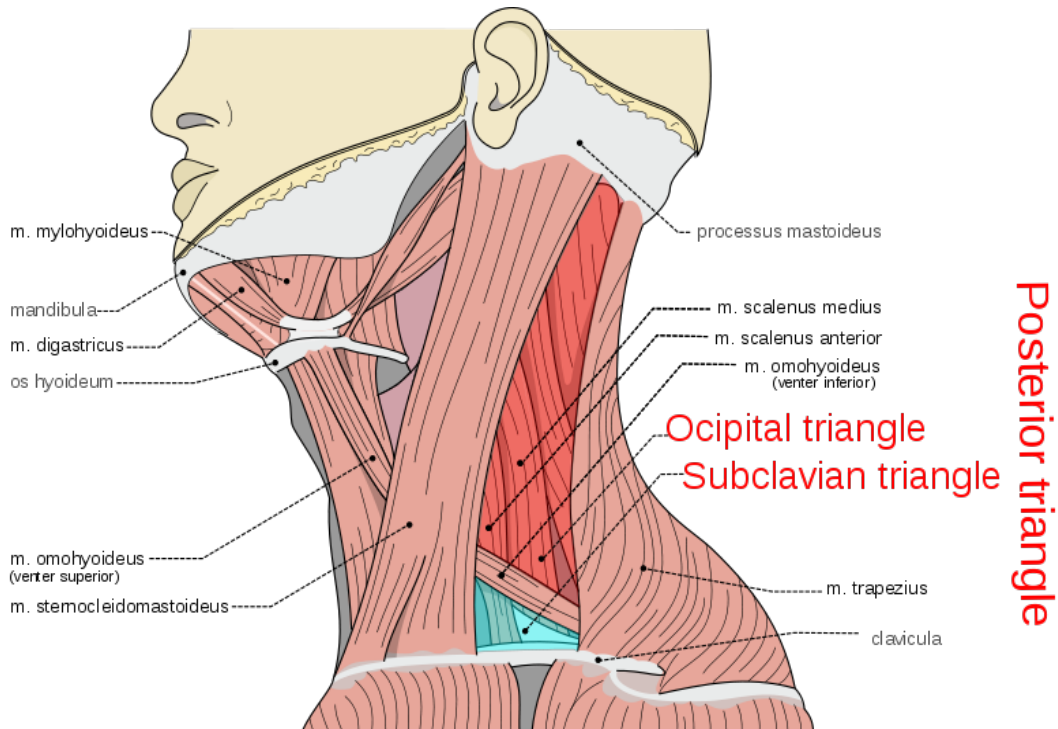
l'area della testa e del collo è in assoluto quella più ricca in linfonodi del nostro organismo, ospita infatti circa 300 linfonodi, questi risultano distribuiti in modo piuttosto complesso e vengono generalmente classificati in quelle che definiamo CATENE ciascuna delle quali risulta a sua volta composta di diversi gruppi linfonodali.

Ricordiamo anzitutto che dal punto di vista topografico la regione del collo risulta classificabile, sulla base delle strutture muscolari presenti, in due grandi triangoli, uno anteriore e uno posteriore, a loro volta divisibili in diverse regioni di forma triangolare.

TRIANGOLI ANTERIORI DEL COLLO:

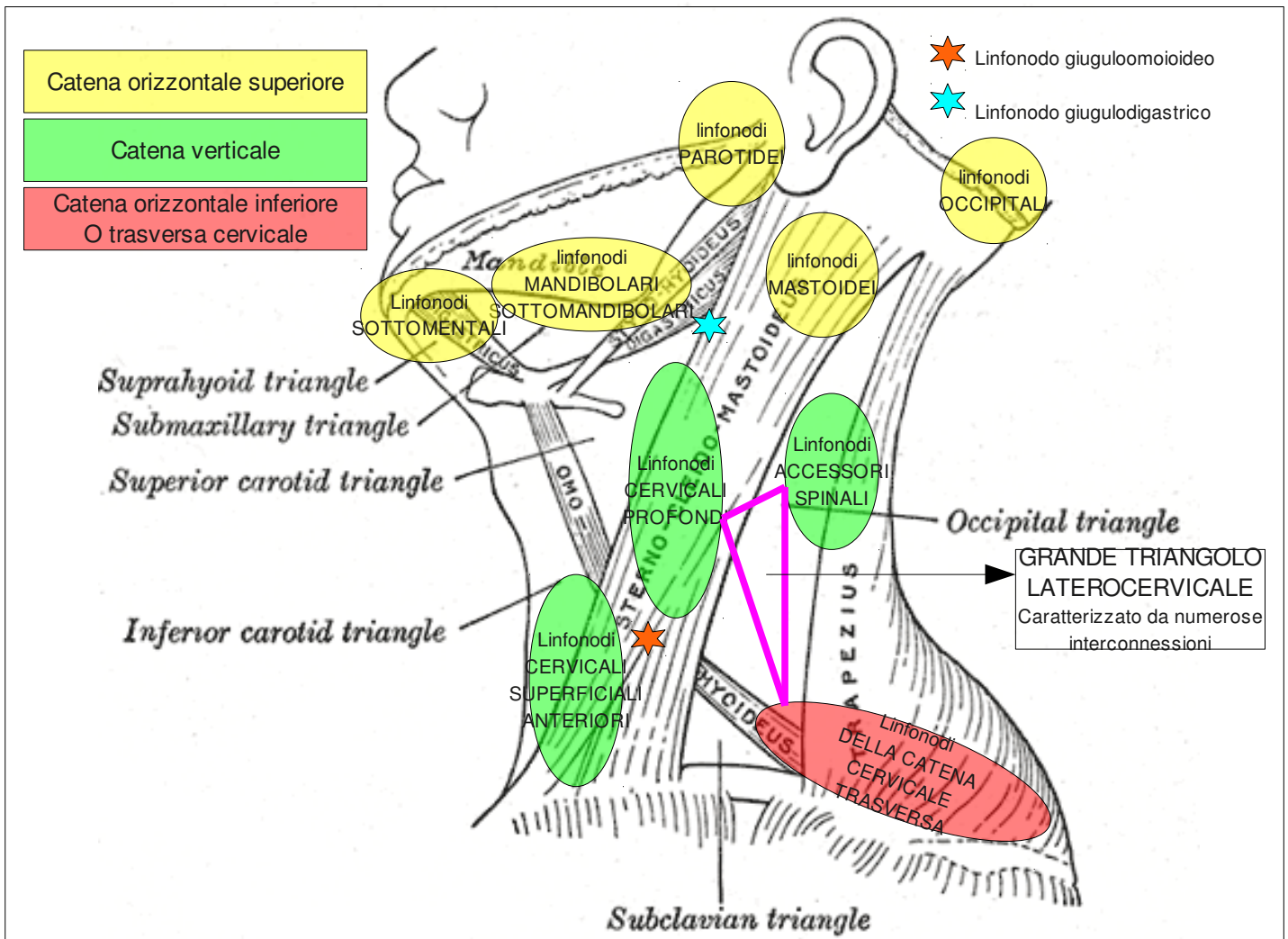


TRIANGOLI POSTERIORI DEL COLLO:



i due complessi anteriore e posteriore risultano tra loro separati dalla massa del muscolo sternocleidomastoideo, anteriormente ad esso si collocano i triangoli anteriori, posteriormente quelli posteriori; posteriormente al complesso dei triangoli posteriori si colloca il muscolo trapezio mentre anteriormente e lateralmente i triangoli anteriori si continuano nei controlaterali.

La maggior parte dei gruppi linfonodali si colloca proprio in queste regioni:



le catene da prendere in considerazione sono quindi tre fondamentalmente:

catena	Gruppi che compongono la catena	Territorio di competenza
ORIZZONTALE SUPERIORE	Sottomentoniero (superficiale) sottomandibolare (superficiale) parotideo (superficiale e profonda) mastoideo (superficiale) occipitale (superficiale)	Quasi tutte le regioni della faccia: labbra, mento, lingua, denti, ghiandole, meato acustico, cuoio capelluto, padiglione auricolare.
VERTICALE	Cervicali superficiali anteriori (superficiali) cervicali superficiali (superficiali) cervicali profondi (profondi) accessori spinali (profondi)	Visceri del collo, parte posteriore delle cavità nasali, regioni sottomentale, mandibolare e linguale.
ORIZZONTALE INFERIORE	Linfonodi della catena cervicale trasversa (o della arteria cervicale trasversa) (profondi)	Regioni posteroinferiori cervicali sopra e sotto la clavicola e la regione ascellare alta.

ALTRI GRUPPI DI INTERESSE a livello di questa regione sono sicuramente:

- linfonodi viscerali anteriori → prelaringei, pretracheali e paratracheali, questi:
 - drenano la linfa dei visceri della parte alta del torace e della parte inferiore del collo, in particolare trachea, laringe ed esofago.
 - Tributari dei linfonodi cervicali profondi.
- Linfonodi retrofaringei → si collocano posteriormente alla faringe, tra la sua parete posteriore e la fascia cervicale profonda, questi:
 - ricevono la linfa dalle regioni della faringe o dalle regioni ad essa attigue come la parte posteriore delle cavità nasali, la parte posteriore del cavo orale e parte dell'orecchio interno.
 - Tributari dei linfonodi cervicali profondi o della catena cervicale trasversa.
- Linfonodi linguali → non sempre presenti, si collocano lungo le arterie linguali.
- Linfonodi antetragici → anteriormente al trago, in prossimità del bulbo oculare.
- Facciali superficiali → malari, buccinatori e sopramandibolari, drenano le regioni della guancia.

È importante inoltre sottolineare la presenza nella catena DEI LINFONODI CERVICALI PROFONDI di due linfonodi di particolare interesse:

1. LINFONODO GIUGULODIGASTRICO molto grande, presenta un diametro di 12-15mm, si colloca tra il muscolo digastrico e la vena giugulare interna, drena la linfa dalla TONSILLA PALATINA, DAL TRIANGOLO RETROMOLARE e DALLA LINGUA.
2. LINFONODO GIUGULOMOIOIDEO si colloca a livello del tendine intermedio del muscolo omoioideo, drena linfa dalla lingua.

Nella pratica clinica si utilizza spesso una classificazione in sette livelli, molto utile dal punto di vista della palpazione dei linfonodi di questa regione, in particolare distinguiamo:

- I LIVELLO → sottomentonieri e sottomandibolari.
- II LIVELLO → parte alta della catena giugulare interna (dalla base cranica all'osso ioide).
- III LIVELLO → parte media della catena giugulare interna (dall'osso ioide alla cartilagine cricoide)
- IV LIVELLO → parte inferiore della catena giugulare interna (sotto la cartilagine cricoide).
- V LIVELLO → linfonodi accessori spinali e catena cervicale trasversa.
- VI LIVELLO → linfonodi tiroidei, prelaringei, pretracheali (linfonodi dei visceri superiori, dallo ioide al manubrio sternale).
- VII LIVELLO → linfonodi della doccia tracheoesofagea e del mediastino superiore.

Si tratta di una classificazione che va ad interessare anche le regioni mediastiniche.

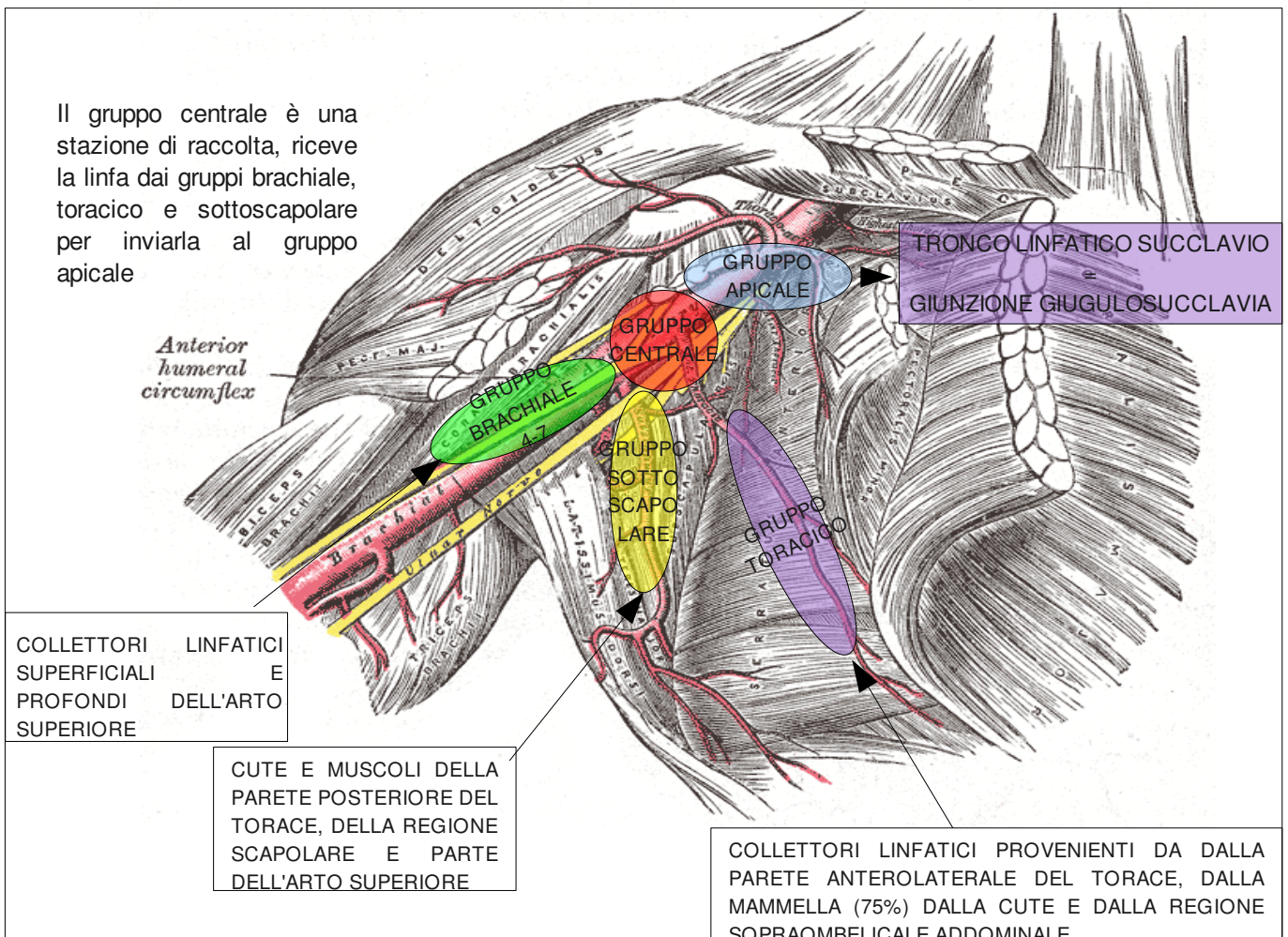
DRENAGGIO LINFATICO DELL'ARTO SUPERIORE E DELLA PARETE TORACICA: I LINFONODI ASCELLARI:

il drenaggio linfatico dell'arto superiore e di parte del torace fa capo ai LINFONODI ASCELLARI ai quali compete anche il drenaggio della parte più superficiale del torace e di parte dell'addome. Il cavo ascellare presenta una forma a piramide quadrangolare dove:

- l'apice coincide con il limite della prima costa.
- La parete anteriore è costituita dai muscoli grande e piccolo pettorale.
- La parete posteriore è costituita dai muscoli grande dorsale, grande rotondo e sottoscapolare.
- La parete mediale è data dal muscolo dentato anteriore e dalla parete toracica stessa.
- La parete laterale corrisponde al solco bicipitale dell'omero e quindi al bicipite brachiale.

All'interno di questo cavo si possono individuare cinque raggruppamenti linfonodali convergenti

verso l'apice della piramide; il gruppo APICALE rappresenta il gruppo TERMINALE e da origine ai tronchi linfatici succlavi.



LINFONDI E VASI LINFATICI DELL'ARTO SUPERIORE:

i linfonodi fanno tutti capo al linfocentro ascellare e si distinguono in:

- superficiali associati alla palma della mano ed epitrocleari.
- Profondi appartenenti ai gruppi radiali, interossei anteriore e posteriore, cubitali e brachiali.

I collettori decorrono fondamentalmente in due piani: superficiale, sottocutaneo, e profondo, associato ai grandi vasi del braccio e dell'avanbraccio. In ogni caso finiscono per fare capo al sistema del gruppo linfonodale ascellare brachiale.

LINFONODI E VASI LINFATICI DEL TORACE:

come per l'arto superiore e per l'addome il drenaggio linfatico del torace si divide in due grandi parti:

- superficiale tributario dei linfonodi ascellari tramite il gruppo toracico e sottoscapolare.
- profondo che è tributario di tre gruppi linfonodali:
 - LINFONODI STERNALI o TORACICI INTERNI che riceve i collettori linfonodali della cute e dei muscoli della parete anteriore del torace nonché di parte della mammella; ad esso fanno capo anche i linfonodi diaframmatici anteriori.

- LINFONODI INTERCOSTALI che ricevono i collettori linfatici intercostali in modo sostanzialmente metamerico.
- LINFONODI DIAFRAMMATICI ricevono collettori linfatici provenienti dal muscolo diaframma e dal fegato, satelliti delle vene epatiche.

DRENAGGIO LINFATICO DELLA MAMMELLA:

estremamente significativo dal punto di vista diagnostico per il carcinoma mammario, in particolare possiamo dire che:

- il 75% della linfa proveniente dalla mammella si raccoglie a livello dei linfonodi ascellari, in particolare nei linfonodi superiori del gruppo toracico.
- Il restante 25%, o poco meno, drena invece a livello dei linfonodi satelliti della arteria toracica interna o mammaria a livello soprattutto sternale; nel decorso attraverso gli spazi intercostali anastomizzano con i gruppi linfatici epatici e diaframmatici⁴.
- È possibile una via di drenaggio retrosternale che porta ai linfonodi sternali controlaterali.

DRENAGGIO LINFATICO DELL'ARTO INFERIORE:

Il complesso della linfa dell'arto inferiore fa capo, in ultima istanza, attraverso diverse stazioni linfonodali, alle catene linfonodali ILIACHE ESTERNE E COMUNI e AORTICHE LATERALI; tra le stazioni intermedie ricordiamo:

- linfonodi associati ai vasi profondi della di coscia e gamba.
- Linfonodi del CAVO POPLITEO.
- Linfonodi INGUINALI.

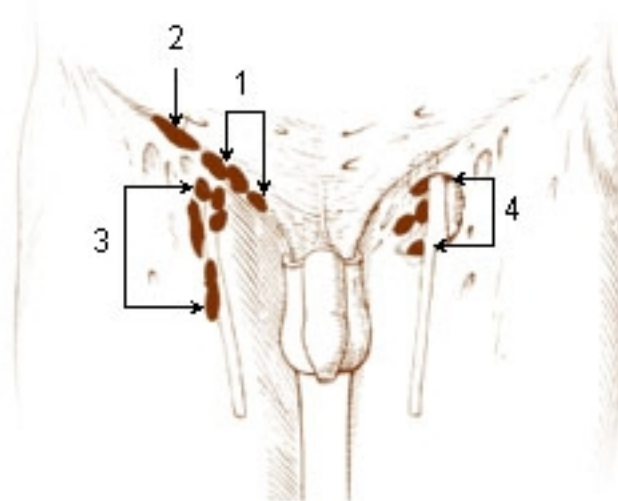
Per quanto concerne la GAMBA possiamo dire che in linea generale il vasi linfatici, associati a scarsi linfonodi della gamba, prevalentemente tibiali, si portano al complesso dei linfonodi POPLITEI, in numero variabile da 4 a 6, che a loro volta fanno capo al complesso linfonodale INGUINALE.

Per quanto concerne la COSCIA il drenaggio linfatico fa capo alla REGIONE INGUINALE: i linfonodi inguinali sono in numero di circa 15-20 e si situano nel sottocute del triangolo femorale di Scarpa. Anche i linfonodi della regione inguinale sono classificabili in una componente SUPERFICIALE ed una PROFONDA, in particolare:

- i LINFONODI SUPERFICIALI sono classificabili in tre grandi gruppi:
 - SUPEROMEDIALE che si colloca sotto al legamento inguinale, ad esso fanno capo i LINFATICI CHE DRENANO TUTTE LE AREE PERINEALI SUPERFICIALI a partire dai genitali esterni fino al canale anale e le parti limitrofe della parete addominale.
 - SUPEROLATERALE che si colloca lateralmente sotto il legamento inguinale; questo gruppo riceve complessivamente la linfa dalle regioni glutee e della parete addominale inferiore.
 - INFEROMEDIALE E INFEROLATERALE che si situano intorno alla parte terminale della vena grande safena, essi ricevono nel complesso tutti i linfatici superficiali dell'arto inferiore eccetto quelli provenienti dalle facce posteriore e laterale.
- PROFONDI classificabili in un unico grande gruppo che si colloca nel triangolo di scarpa in prossimità della vena femorale, questo gruppo riceve collettori satelliti dei vasi profondi della gamba nonché collettori provenienti da alcune regioni superficiali e parte della linfa

4 In caso di blocco del drenaggio linfatico è possibile che venga a formarsi una via di drenaggio superficiale alla mammella controlaterale e quindi alla ascella controlaterale; è possibile inoltre, in alcuni casi, che il drenaggio linfatico si porti a livello dei vasi epatici.

proveniente dal glande del pene o dal clitoride.



Nel complesso tutti questi gruppi **INGUINALI** drenano a livello dei linfonodi **ILIACI ESTERNI** e da essi si portano verso l'alto ai linfonodi **ILIACI COMUNI** per giungere a livello **AORTICO**.

DRENAGGIO LINFATICO DEI VISCERI TORACICI:

la linfa che viene drenata dai visceri profondi del torace fa capo a diverse stazioni linfodali ma si getta in definitiva nei due grandi dotti linfatici destro o toracico: in particolare tali linfonodi formano i due tronchi **TRACHEOBRONCHIALE** E **BRACHIOCEFALICO**, associati ai linfonodi parasternali, formano i **DUE TRONCHI BRONCOMEDIASTINICI** di destra e sinistra che si gettano generalmente nella congiungente giugulosucclavia omolaterale.

Per quanto riguarda i singoli visceri ricordiamo che:

- **IL CUORE:** tre collettori linfatici, provenienti dalla parte sinistra, il principale, dalla parte destra e dalla faccia diaframmatica, si riuniscono a formare un unico grande tronco che passa al di sotto della auricola sinistra per raggiungere i linfonodi tracheobronchiali.
- **TRACHEA E BRONCHI:** il drenaggio linfatico si organizza in un piano superficiale, associato alla mucosa, e un piano profondo, sottomucoso; nel complesso questo tipo di sistema fa capo ai linfonodi dell'area **TRACHEALE**.
- **POLMONI E PLEURE:** per il **POLMONE** possiamo distinguere un drenaggio linfatico **PROFONDO**, associato ai setti interlobari e che drena ai linfonodi **ILARI**, e un drenaggio linfatico **SUPERFICIALE**, associato al connettivo sottopleurico, che drena ai linfonodi broncopulmonari. Per quanto riguarda le pleure distinguiamo un drenaggio differente per la pleura **VISCERALE** e la pleura **PARIETALE**:
 - la **PLEURA VISCERALE** drena ai linfonodi sottopleurici del polmone.
 - La **PLEURA PARIETALE** drena a regioni diverse a seconda della diversa parte presa in considerazione:
 - LA **PLEURA COSTALE** drena ai linfonodi **STERNALI**.
 - LA **PLEURA DIAFRAMMATICA** drena ai linfonodi **DIAFRAMMATICI**.
 - LA **PLEURA MEDIASTINICA** drena ai linfonodi **MEDIASTINICI POSTERIORI**.

- **ESOFAGO:** quest'organo si sviluppa in diverse regioni del nostro corpo e in base alla diversa porzione presa in considerazione abbiamo delle stazioni linfatiche di riferimento differenti:
 - la parte **CERVICALE** drena ai linfonodi cervicali profondi.
 - La parte **TORACICA** drena ai linfonodi mediastinici posteriori.
 - La parte **ADDOMINALE** fa capo ai linfondi **GASTRICI DI SINISTRA**.
- **TIMO:** il drenaggio del timo è diretto ai linfonodi mediastinici anterosuperiori.

DRENAGGIO LINFATICO DELL'ADDOME E DELLA PELVI:

LA PARETE ADDOMINALE:

come per gli arti e per il torace anche in questa sede distinguiamo un piano superficiale e uno profondo, in particolare:

- **LA PARTE SUPERFICIALE DELL'ADDOME** è a sua volta suddivisibile in tre regioni distinte:
 - parete anteriore inferiore dell'addome che drena ai linfonodi **INGUINALI SUPERFICIALI**.
 - Parete anteriore superiore dell'addome che drena ai linfonodi **ASCELLARI**.
 - Parete posteriore dell'addome fa capo a linfonodi inguinali superficiali grazie alla presenza di collettori che decorrono al di sopra della cresta iliaca.
- **LA PARTE PROFONDA** della parete addominale converge ancora verso i linfonodi iliaci esterni.

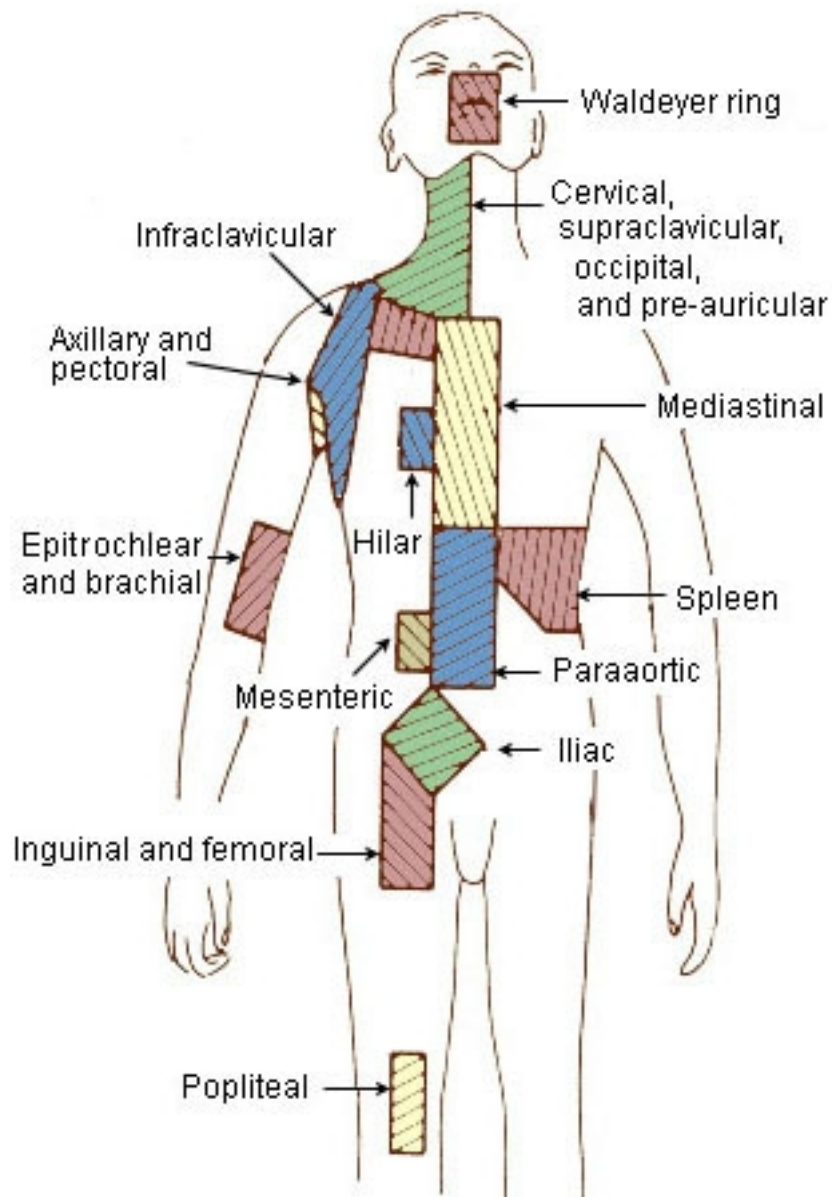
DRENAGGIO LINFATICO DEI VISCERI ADDOMINOPELVICI:

il drenaggio di tali visceri è piuttosto complesso, in linea generale possiamo ricordare che il gruppo di linfonodi **ILIACI INTERNI** con il gruppo di linfonodi **ILIACI ESTERNI** fa capo al **GRUPPO LINFONDALE ILIACO COMUNE** che a sua volta fa capo al sistema **LOMBOAORTICO** dal quale originano i due tronchi linfatici **LOMBARI**. Il complesso del drenaggio addominopelvico fa capo ai linfonodi associati alla aorta addominale, in particolare questi sono suddivisibili in tre gruppi:

- **PREAORTICI:** associati ai rami principali ventrali della aorta, in particolare distinguiamo:
 - **LINFONODI CELIACI** che rappresentano il gruppo terminale.
 - **LINFONODI MESENTERICI SUPERIORI**.
 - **LINFONODI MESENTERICI INFERIORI**.

Questi linfonodi ricevono la linfa dai rami impari anteriori della aorta addominale ovviamente spancnici, quindi del tubo digerente fino a metà del retto.

- **AORTICI LATERALI:** essi ricevono la linfa drenata dagli organi irrorati dai rami laterali, pari e splancnici, della aorta, quindi da **RENI, SURRENI, URETERI, TESTICOLI, OVAIO** e **VISCERI PELVICI** e dalla **PARTE SOTTOMBELICALE** della **REGIONE ADDOMINALE, PELVICA E PERINEALE**. A questo gruppo fa capo in definitiva anche **L'ARTO INFERIORE**.
- **RETROAORTICI** raccolgono la linfa della parete addominale posteriore.



ALTRI ORGANI LINFOIDI:

Oltre ai linfodi, precedentemente descritti, tra gli organi linfoidi ricordiamo:

- TIMO.
- MIDOLLO OSSEO.
- MILZA.
- MALT tessuto linfoide associato alle mucose.

Tali organi possono essere classificati in:

1. **ORGANI LINFOIDI PRIMARI** o **CENTRALI** che presentano una attività produttiva diretta rispetto a linfociti, essi sono **MIDOLLO OSSEO** e **TIMO**. Questi organi rappresentano il microambiente ideale per la maturazione dei precursori dei linfociti B e T, in particolare:
 1. **LINFOCITI B** maturano nel midollo osseo.
 2. **LINFOCITI T** iniziano la loro maturazione nel midollo, migrano poi nel **TIMO**

giungono a maturazione definitiva tramite la esposizione a molecole self e not self e due processi di selezione:

1. SELEZIONE POSITIVA che favorisce i timociti capaci di riconoscere i marcatori self.
 2. SELEZIONE NEGATIVA che elimina i timociti che reagiscono a marcatori self in modo non adeguato.
2. ORGANI LINFOIDI SECONDARI O PERIFERICI che ospitano semplicemente cellule bianche e svolgono funzione effettrice rispetto alla immunità acquisita; essi sono MILZA, LINFONDI E MALT. Nella realtà dei fatti ORGANI LINFOIDI PERIFERICI e MALT rappresentano due linee di difesa funzionalmente distinte

IL TIMO:

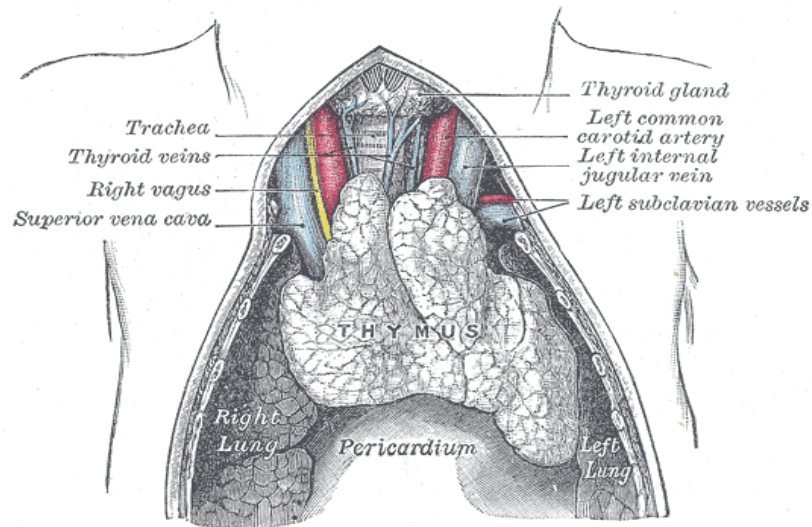
organo linfoepiteliale localizzato nel mediastino anteriore e nella regione del collo, esso si presenta particolarmente sviluppato nel feto e perde funzionalità e dimensioni nell'adulto. Come accennato in precedenza possiamo dire che il sistema di maturazione dei linfociti T procede dalla corticale verso la midollare dell'organo e porta, tramite i processi sopra descritti, alla eliminazione del 95% dei timociti complessivamente prodotti dal midollo osseo.

A livello embriologico ricordiamo che il timo deriva dalla unione della terza tasca faringea con la fessura branchiale corrispondente; presenta una derivazione sia MESO che ECTO dermica.

Complessivamente possiamo dire che il timo è un organo IMPARI E MEDIANO costituito di DUE LOBI TIMICI che si sviluppano verso la regione del collo nei due CORNI TIMICI; possiamo dire che tale organo:

- presenta un peso medio di circa 12g ma nel suo periodo di massimo sviluppo raggiunge i 30g.
- FACCIA ANTERIORE:
 - nel COLLO si colloca posteriormente ai muscoli sottoiodei dietro alla fascia cervicale media.
 - Nel MEDIASTINO prende rapporto con manubrio e parte superiore del corpo dello sterno, con i vasi toracici interni e con le estremità sternali degli spazi intercostali più alti.
- FACCIA POSTERIORE:
 - nel COLLO entra in rapporto con la faccia anteriore della trachea e con le arterie carotidi comuni.
 - Nel MEDIASTINO posteriormente al timo si collocano le parti iniziali dei grandi vasi.
- I MARGINI LATERALI:
 - nel COLLO si collocano medialmente alle vene giugulari interne.
 - Nel MEDIASTINO si collocano medialmente alla pleura mediastinica e ai polmoni.
- Superiormente i corni possono arrivare a livello della ghiandola tiroide.

- Non presenta mezzi di fissità consistenti.



Lo sviluppo del timo nel tempo risulta monitorabile tramite la OMBRA TIMICA: si tratta dell'immagine radiologica retrosternale dell'organo stesso, normalmente intorno a 10-12 anni tale ombra si riduce in modo molto consistente.

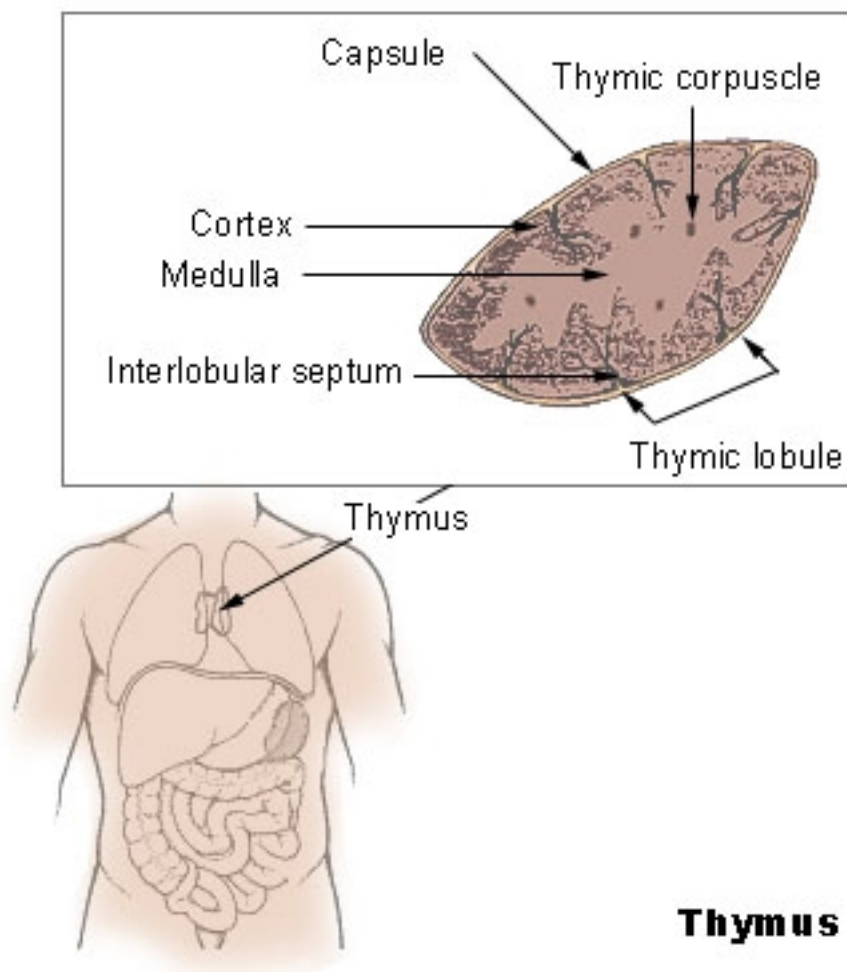
VASCOLARIZZAZIONE E INNERVAZIONE:

- ARTERIOSA data dalle arterie TIMICHE fa capo alla arteria TORACICA INTERNA o MAMMARIA.
- VENOSA fa capo variabilmente a diverse vene del torace, in particolare una grossa vena timiaca si getta nel tronco brachiocefalico di sinistra.
- LINFATICA fa capo ai linfonodi mediastinici anteriori e tracheobronchiali.
- L'INNERVAZIONE è funzionale alla regolazione vascolare e derivano dai plessi perivascolari vicini, eventualmente il timo può ricevere innervazione del nervo frenico.

STRUTTURA:

strutturalmente possiamo dire che il timo risulta organizzato in questo modo:

- i due lobi timici sono formati da
- numerosi LOBULINI tra loro separati da
- CAPSULE CONNETTIVALI che penetrano nella struttura del lobo.
- Ciascuno LOBULINO è a sua volta suddivisibile in due regioni:
 - MIDOLLARE.
 - CORTICALE.
- I lobulini sono tra loro adesi grazie alla presenza di un CORDONE PARENCHIMALE CENTRALE DI SOSTANZA MIDOLLARE.



Il timo ospita diversi citotipi con funzioni diverse, in particolare:

1. **CELLULE EPITALIALI TIMICHE:** si tratta di cellule a funzione strutturale e stimolante la maturazione, in particolare possiamo dire che si organizzano in una struttura reticolare diffusa a tutto il lobulo, tuttavia possiamo ricordare che:
 1. perifericamente assumono il nome di **CELLULE NUTRICI** in quanto ospitano in invaginazioni della membrana una grande quantità di timociti in via di maturazione.
 2. Nella midollare aggregati epiteliali assumono una forma a guscio di cipolla organizzato concentricamente a formare i **CORPUSCOLI DI HASSAL:** tali complessi presentano perifericamente cellule vive mentre medialmente troviamo aggregati di cellule cheratinizzate o morte.
 3. Cellule epiteliali stratificano attorno ai vasi sanguiferi della zona corticale del timo soprattutto formando la **BARRIERA EMATOTIMICA**, essenziale ad isolare i timociti in maturazione dal contatto con elementi del sangue.
2. **TIMOCITI:** si collocano principalmente nella parte periferica, con la maturazione si portano verso la midollare per essere poi riversati nel sangue.
3. **CELLULE DI ORIGINE EMATOPOIETICA,** queste sono:
 1. **MACROFAGI:** sono abbondanti in prossimità dei vasi sanguiferi, la loro funzione è soprattutto quella di eliminare I **TIMOCITI NON ADATTI AD ESSERE RIVERSATI**

IN CIRCOLO.

2. **CELLULE INTERDIGITATE:** si trovano nella **ZONA MIDOLLARE** e sono cellule presentanti l'antigene.

Il timo è un organo secernente, produce infatti dei fattori quali:

- timulina.
- Timopoietina.
- Timosina.
- Fattore timico umorale.

La cui funzione è di stimolare la attività proliferativa e di maturazione dei linfociti T. Sono spesso dosati successivamente ad un trapianto di midollo: a seguito del trapianto il timo si deve riattivare per ricreare la popolazione di linfociti T.

LA MILZA:

organo riccamente vascolarizzato grazie alla presenza della **ARTERIA LIENALE**, ramo del tripode celiaco; tale organo presenta fondamentalmente due funzioni:

- **EMOCATERETICA** elimina infatti eritrociti circolanti vecchi.
- **LINFOIDE** in quanto ospita un gran numero di linfociti B e T.

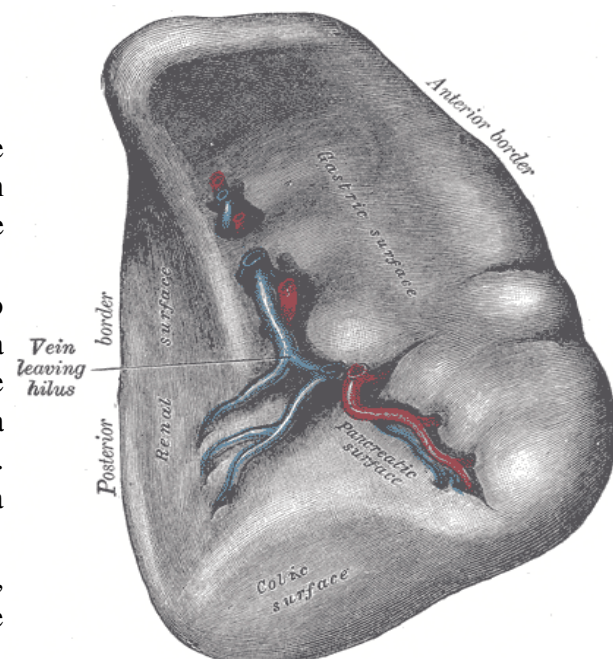
la milza è strutturalmente divisibile in due grandi parti: una **POLPA BIANCA** e una **POLPA ROSSA** dove la prima presenta funzione linfoide e la seconda emocateretica.

A livello anatomico ricordiamo che:

- presenta la forma di un **OVOIDE APPIATTITO**, si sviluppa con asse parallelo alla decima costa.
- Presenta:
 - lunghezza di circa 13cm.
 - Larghezza di circa 8cm.
 - Spessore di circa 3cm.
 - Peso da 180 a 250g.

Tali parametri sono variabili, entro limiti fisiologici, in base alla quantità di sangue contenuta nella milza.

- Il colore è tipicamente rosso scuro.
- Presenta consistenza molle.
- Possiamo considerare due facce:
 - **DIAFRAMMATICA** corrispondente alla superficie delle coste da 9 a 11, mette in rapporto la milza con il diaframma e tramite esso con le strutture polmonari soprastanti.
 - **VISCERALE** suddivisa in due parti da un rilievo evidente: anteriormente a tale rilievo la milza prende rapporto con lo stomaco, posteriormente con il rene. In prossimità di tale rilievo, sulla faccia gastrica, si colloca l'**ILO DELL'ORGANO**. Inferiormente la milza si rapporta anche con la flessura colica di sinistra.
 - La milza presenta inoltre tre margini, anteriore, posteriore e interno, e due poli, superiore e

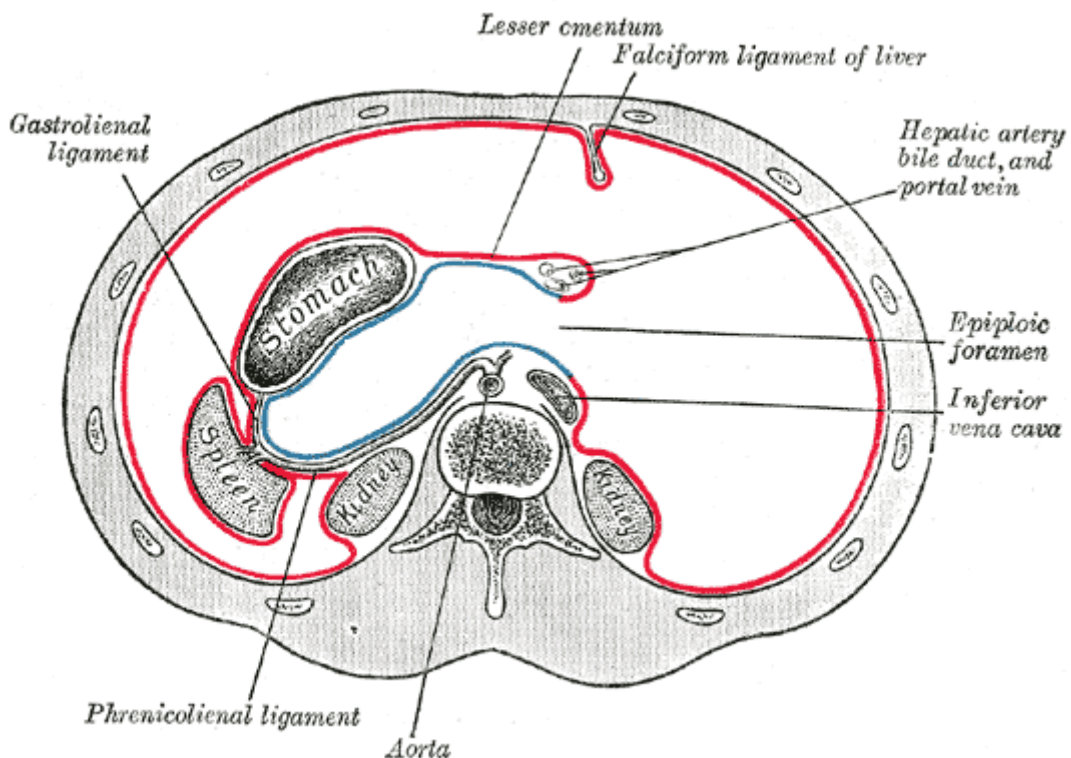


inferiore.

- La loggia LIENALE si colloca a livello dell'IPOCONDRIO DI SINISTRA.
- I MEZZI DI FISSITÀ relativi a questo organo sono:
 - legamento gastrolienale che congiunge la milza allo stomaco.
 - Legamento pancreaticolienale che congiunge la milza con la parete addominale posteriore dove si colloca il rivestimento sieroso anteriore al pancreas. Contiene il peduncolo vascolonervoso della milza.
 - Legamento frenicolienale, dipendenza del legamento pancreaticolienale, congiunge la milza con il diaframma.

Il legamento frenocolico partecipa alla delimitazione della loggia lienale e offre un minimo sostegno alla milza.

Nel complesso la milza è, in ogni caso, un organo abbastanza mobile.



VASCOLARIZZAZIONE E INNERVAZIONE:

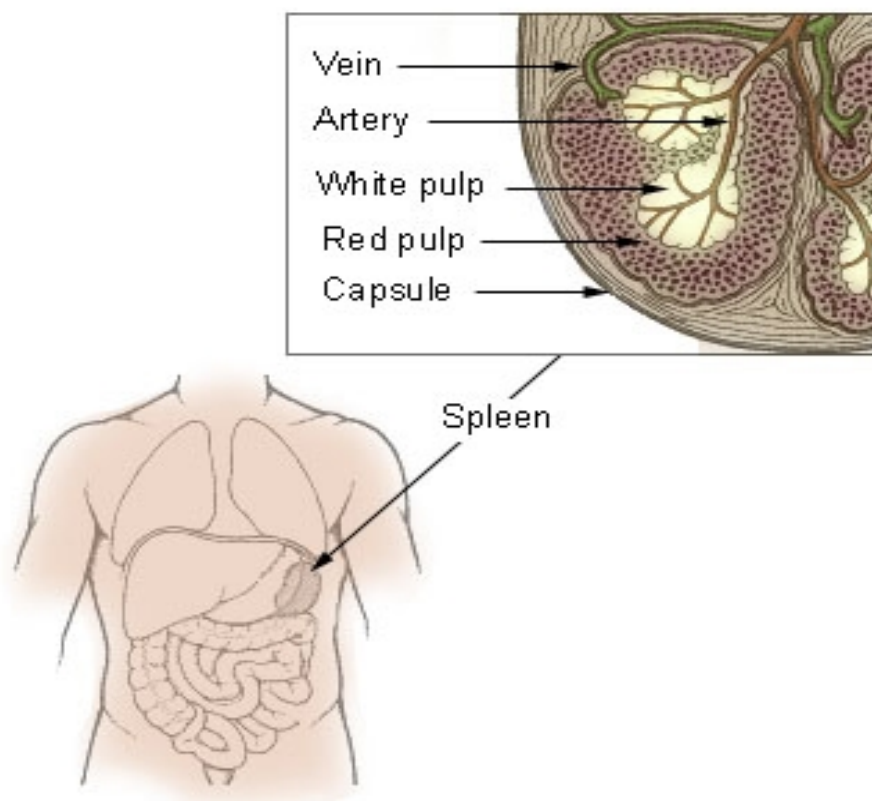
- VASCOLARIZZAZIONE ARTERIOSA dipende dal tripode celiaco in particolare dalla arteria lienale.
- VASCOLARIZZAZIONE VENOSA è data dalla vena lienale che, originata dalla confluenza di diversi rami venosi, si porta parallelamente alla arteria lienale fino al circolo portale.
- VASCOLARIZZAZIONE LINFATICA fa invece capo ai linfonodi pancreaticolienali; la circolazione linfatica si divide in profonda e superficiale a seconda che decorra sotto la capsula esterna o con i vasi venosi della milza.
- INNERVAZIONE deriva invece dal plesso celiaco.

STRUTTURA:

La milza è organizzata complessivamente in questo modo:

- una **CAPSULA CONNETTIVALE ESTERNA** che:
 - presenta un esiguo corredo muscolare liscio funzionale a diminuire, in caso di necessità, la quantità di sangue stagnante all'interno della milza stessa.
 - Non penetra all'interno della struttura che **NON RISULTA DIVISA IN LOBI E LOBULI**.
- Una **POLPA SPLENICA** sostenuta da una struttura connettivale reticolare e classificabile in due categorie:
 - polpa **BIANCA**.
 - Polpa **ROSSA**.Tra loro delimitate da una zona marginale.

Spleen



Complessivamente le strutture vascolari della milza sono organizzate in questo modo:

- rami della arteria **LINEALE** si immergono nella polpa splenica in particolare nella polpa **BIANCA** dove sono circondati da **GUAINE LINFOIDI PERIARTERIORI**, queste sono costituite da due parti:
 - una più prossimale alla struttura arteriosa composta principalmente di linfociti T.
 - una più distale alla struttura arteriosa, periferica, costituita i **CENTRI GERMINATIVI** simili a quelli presenti nei linfonodi, principalmente B dipendenti quindi.
- Tali rami attraversano quindi la **ZONA MARGINALE**.
- Attraversata tale zona marginale i rami arteriosi:
 - si dividono a formare le cosiddette **ARTERIE PENICILLARI**.

- Le arterie penicillari proseguono nei CAPILLARI CON GUSCIO circondati da cellule tondeggianti allungate con capacità fagocitaria notevole.
 - Giunti nella polpa rossa vera e propria il sangue contenuto nei capillari può seguire due destini diversi:
 - CIRCOLO APERTO cioè gettandosi nei cordoni della polpa rossa.
 - CIRCOLO CHIUSO cioè nei seni venosi della polpa rossa.
- Complessivamente in questa sede il sangue rallenta considerevolmente rendendo possibili i fenomeni di filtrazione e di EMOCATERESI.

Ricordiamo infine che possono esistere degli organi milza-simili, detti MILZE SUCCENTURIATE, che si trovano fondamentalmente in una posizione prossima alla milza vera e propria e che ne possono condividere le funzioni.

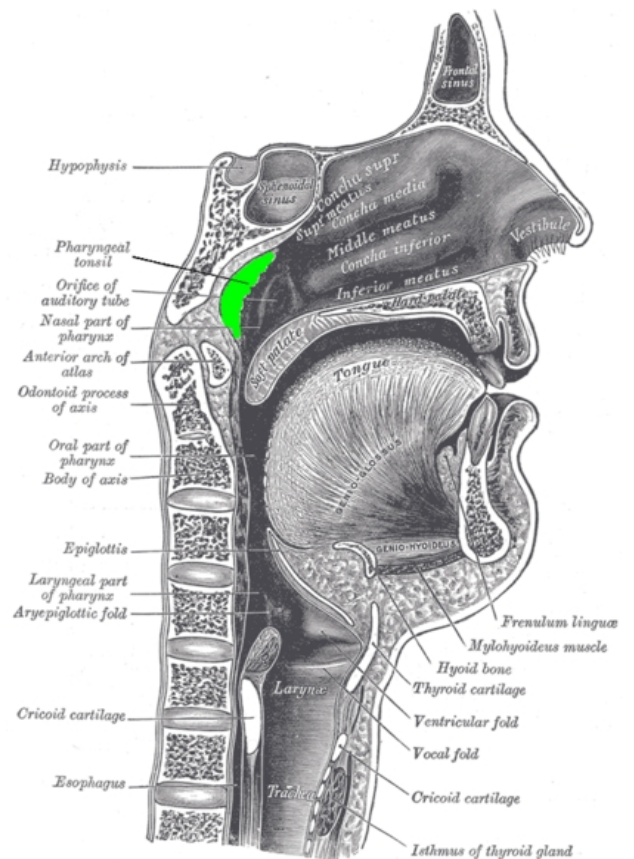
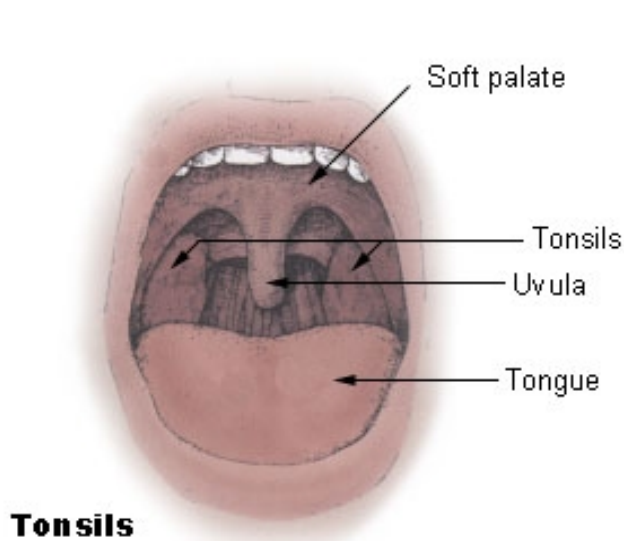
IL MALT:

il MALT o tessuto linfoide associato alle mucose è un sistema variamente distribuito di aggregati linfoidi costituito da diversi gradi di ORGANIZZAZIONE; tale tessuto si colloca nelle lamine PROPRIE DELLE TONACHE MUCOSE di organi degli apparati RESPIRATORIO, DIGERENTE E URINARIO. In linea generale possiamo dire che:

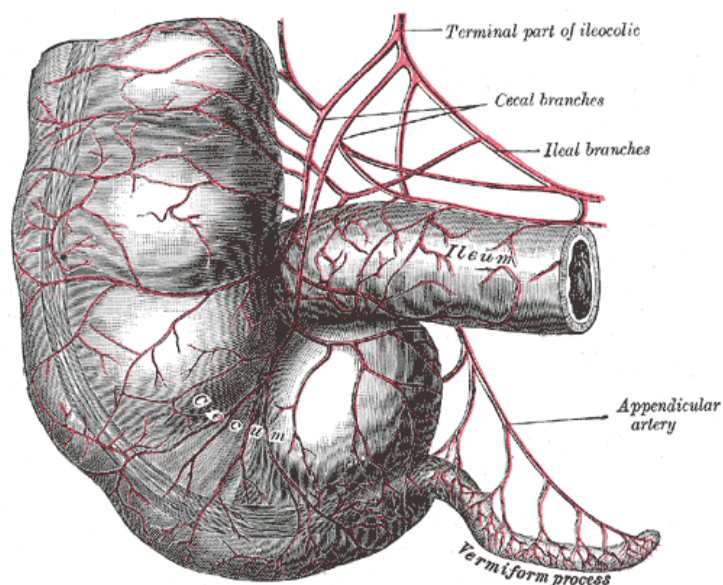
- anche in questo sistema si distinguono zone B e T dipendenti.
- Le cellule epiteliali associate a questo tipo di tessuto presentano anche un ruolo funzionale, in particolare:
 - possono ATTIVAMENTE TRASPORTARE ANTIGENI DAL LUME ALLA LAMINA PROPRIA.
 - Possono ATTIVAMENTE TRASPORTARE SOSTANZA PRODOTTE DAI LINFOCITI verso IL LUME DELL'ORGANO.
- Caratteristici di questo tipo di sistema sono i LINFOCITI INTRAEPITELIALI, si tratta di cellule T responsabili dei fenomeni di difesa dell'epitelio della mucosa.
- I linfociti messi in circolo si insediano selettivamente o in organi linfoidi secondari o nel MALT in modo univoco.

Possiamo distinguere nell'ambito del MALT:

- GALT: tessuto linfoide associato all'apparato digerente.
- BALT: tessuto linfoide associato all'apparato respiratorio.
- AGGREGATI LINFATICI DI INTERESSE sono per esempio:
 - L'ANELLO DEL VALDEYER costituito da:
 - tonsille palatine.
 - Tonsilla linguale.
 - Tonsille faringee o adenoidi.



- PLACCHE DI PAYER aggregati linfoidi associati all'ileo principalmente, si tratta di zone ricche di linfociti B capaci di produrre una enorme quantità di IgA a funzione protettiva rispetto alla mucosa stessa.
- APPENDICE VERMIFORME particolarmente ricca di tessuto linfoide.
- Quella che viene definita spesso TONSILLA LARINGEA in prossimità del ventricolo laringeo.



Il materiale pubblicato è posto sotto [licenza creative commons](#)



[Leggi le note legali.](#)

Trovi una raccolta dei miei appunti e molto altro su www.sonofgreatmatrix.altervista.org

nella sezione "I MIEI APPUNTI".

Tutte le immagini non prodotte da me (e di conseguenza poste sotto la medesima licenza sopra descritta) sono tratte:

- DA WIKIPEDIA e sono quindi poste sotto licenza, nello specifico le licenze possono essere:
 - [Creative Commons Attribution-ShareAlike 3.0 Unported License.](#)
 - [GNU Free Documentation License.](#)

Ogni immagine riporta uno specifico link alla pagina di riferimento su wikipedia dove sono indicate le specifiche licenze.

- DA UNA VECCHIA EDIZIONE DEL GRAY'S ANATOMY del 1918 che ha perso il diritto d'autore, tali immagini sono completamente opensource e le [trovate qui.](#)

Nonostante le mie attenzioni e le attenzioni delle persone che mi aiutano (e che ringrazio) sicuramente possono essere presenti degli errori o delle imprecisioni che vi invito, se possibile, a segnalarmi. Per qualsiasi problema, errori, consigli, informazioni mandami una mail a:

figliodibuonamatrix@gmail.com



Giordano Perin

I miei appunti li trovi anche su:
www.sonofgreatmatrix.altervista.org
Per qualsiasi problema mandami una mail a:
pperin@alice.it
figliodibuonamatrix@gmail.com