

**IMMUNOLOGIA E
IMMUNOTERAPIA CLINICA
2019/2020**

Concetto di autoimmunità: Nei pazienti con malattie autoimmunitarie se si controlla il quadro proteico (elettroforesi delle proteine), nell'ultima frazione (frazione gamma) si trovano gli anticorpi, immunoglobuline sieriche. In questi pazienti questa frazione non sarà intorno a 10% ma può arrivare anche al 30%, questo significa che le cellule che producono gli anticorpi sono iperattive, producono molti più anticorpi di quelli necessari andando a danneggiare l'organismo. Questi anticorpi non vengono smaltiti, formano complessi con l'antigene e precipitano, depositandosi ad esempio nel rene (causando danni al livello dei glomeruli, si troveranno proteine nelle urine), nelle articolazioni (causando artrite), a livello della cute (causando necrosi a livello della parete del vaso, provocando chiazze violacee sulla pelle). Anche nelle allergie, il sistema immunitario non funziona bene, si tratta da malattie autoimmuni da ipersensibilità. Nelle allergie vi è una specifica classe di immunoglobuline (IgE), nelle malattie autoimmuni vi sono le IgG. L'evoluzione filogenetica delle IgE è ben diversa, si tratta di anticorpi che nascevano per difenderci da parassiti, elminti, vermi, con il ridursi di queste infezioni si sono evolute e le ritroviamo nelle allergie. Le IgA si trovano nelle mucose (nel cavo orale, nel tratto respiratorio e gastrointestinale) situazione di deficit di IgA è del tutto o parzialmente asintomatica. Le IgM le troviamo per prime in caso di infezione e le IgD sono della risposta secondaria.

Sistema immunitario: Quando si parla di immunologia, si parla di un vero e proprio apparato costituito da cellule, da mediatori, da organi linfoidi. Le patologie autoimmuni non sempre sono confinate in un organo, ma si tratta di malattie sistemiche, compaiono con dei sintomi che possono coinvolgere l'intero organismo. (ad es. l'artrite non coinvolge solo le articolazione ma può coinvolgere polmoni, rene, cuore, sistema nervoso). Il termine *immunitas* venne coniato per identificare quelle persone che erano esenti dal ricevere giudizio, quindi la funzione fisiologica è quella di proteggere il nostro organismo da qualsiasi agente nocivo, che sia la radiazione solare, un trauma (anche il trauma è un meccanismo che mette in azione il sistema immunitario; in caso di ferita, si crea una lesione che necessita di un processo di riparazione, quindi è necessario che giungano in zona mediatori contro un potenziale agente infettivo ma anche fattori di neoangiogenesi, cellule come fibroblasti, cheratinociti ecc.)

I segni dell'infiammazione sono 5: TUMOR, RUBOR, CALOR, DOLOR E FUNCTIO LESA. In caso di frattura di un osso, la zona fratturata non si muove più, questa perdita di funzione non è un danno che l'organismo subisce ma un vantaggio per permettere, grazie all'immobilizzazione, di riparare il danno subito.

Ovviamente non solo le macromolecole strane, i microbi sono il bersaglio del nostro sistema immunitario ma può succedere che, per motivi genetici o ambientali, cominci a non funzionare più nella maniera corretta e cominci a determinare una serie di risposte che però il nostro organismo non capisce bene, quindi non sa il danno che può procurare questa risposta.

Noi abbiamo una serie di barriere che ci proteggono dall'esterno che sono precostituite, la più ampia è la cute. Sul nostro corpo abbiamo una serie di batteri che rappresentano meccanismi di difesa, si tratta di colonie di batteri non patogeni, dei saprofiti che solo in condizioni traumatiche o lesive diventano patogeni, come nel caso della candida.

Il vantaggio che si è creato negli ultimi cento anni è stato quello di riuscire a manipolare il sistema immunitario, in particolare di isolare le cellule in modo tale da capire le differenze tra le varie cellule, inoltre è stato scoperto che su queste cellule si trovano dei recettori, alcuni di questi sono fondamentali per le reazioni che noi studiamo, si tratta di target che possiamo utilizzare per bloccare degli eventi. Ad esempio gli antistaminici vanno su dei recettori (H1, H2, H3, H4) questi recettori vengono bloccati (internalizzati) evitando il rilascio di istamina, bloccando il prurito e tutti i sintomi legati a questa amina vasoattiva (causa vasodilatazione, broncocostrizione).

Il fondatore della immunologia può essere considerato Eduard Jenner il quale diede alla sua procedura il nome di vaccinazione. Le mungitrici guarite dal vaiolo bovino non contraevano la forma assai più grave del vaiolo umano. Partendo da tale osservazione iniettò il materiale di una pustola di vaiolo bovino nel braccio di un ragazzo di 8 anni. Il contatto successivo con il vaiolo umano non indusse nel ragazzo la comparsa della patologia. Il trattato di Jenner fu pubblicato nel 1798.

Il sistema immunitario reagisce in due tempi, abbiamo il primo momento dell'infezione in cui si sviluppa la prima risposta e al successivo contatto rispondiamo in maniera più rapida perché il nostro sistema immunitario conserva la memoria di quel contatto, motivo per cui una volta presa la rosolia non la si prende una seconda volta. I vaccini funzionano nello stesso modo, vengono inoculati degli antigeni del virus (non patogeno per l'uomo) per mimare l'azione dell'infezione primaria, sviluppando così gli anticorpi. Per sapere se il vaccino fatto è efficace basta dosare le IgG (immunoglobuline della memoria) che ci dicono se siamo protetti, esiste un valore al di sotto del quale il sistema immunitario se incontra l'antigene non è in grado di rispondere, quindi un determinato titolo anticorpale deve essere sufficiente in modo tale che ad un successivo contatto dell'individuo con l'antigene, sia in grado di rispondere, nel caso in cui non avviene bisogna inoculare una seconda dose di vaccino, fare il cosiddetto richiamo.

Il sistema immunitario è un sistema molto complesso, è in grado (quando funziona bene) di combattere, senza accorgersene, tante infezioni; è in grado, inoltre, di non far rigettare il feto nelle donne in gravidanza, quindi riconosce quelle situazioni para-fisiologiche in cui, pur avendo un organismo non compatibile al 100% con il corredo cromosomico materno, riesce ad essere trattenuto e non rigettato.

L'immunità si distingue in **immunità innata** e **immunità specifica** (o adattativa). Questa classificazione non significa che viaggiano separatamente, ma sono molto legate tra di loro, perché i meccanismi dell'una sono anche parte dell'altra e lavorano insieme per consentire una risposta corretta.

- L'immunità innata è tutto quello che noi mettiamo in atto nel momento in cui ci troviamo di fronte alla prima infezione, il primo danno o trauma ed è costituita da una serie di barriere (barriera epiteliale, barriera dell'apparato gastrointestinale, respiratorio); da una serie di cellule tra cui: fagociti, che fagocitano l'agente eziologico, cellule dendritiche, in grado di interiorizzare l'agente e presentarlo alle cellule dell'immunità adattativa in modo che possano riconoscerlo e mettere in atto una risposta immunitaria specifica; da una serie di mediatori, come le proteine del complemento che consentono di far riconoscere l'agente patogeno alle cellule competenti, cellule natural killer (NK) e cellule citotossiche. L'immunità innata è in grado di risolvere l'infezione in un tempo contenuto, si parla di alcune ore.
- La risposta adattativa ha un tempo più lungo perché bisogna ampliare tutto il corredo di cellule che abbiamo a disposizione. Nel momento in cui si attiva la risposta immunitaria bisogna che il midollo si attivi, produca più linfociti, i quali devono entrare in circolo, devono espandersi ed eliminare l'agente patogeno (linfociti T) o produrre anticorpi (linfociti B). A sua volta l'immunità adattativa si distingue in immunità naturale ed immunità artificiale. Quella naturale viene messa in atto da sola, nel senso che nel momento in cui si contrae l'infezione e si sviluppano automaticamente gli anticorpi e può essere trasferita quando un neonato viene allattato al seno e si ha il passaggio delle immunoglobuline materne in modo tale che nei primi mesi di vita si risulta protetti; quella artificiale ottenuta mediante il trasferimento della risposta immunitaria. Questo è possibile in due modi: immunizzazione attiva o passiva. Attiva quando viene somministrato l'antigene e di conseguenza vengono prodotti gli anticorpi; passiva quando vengono trasferiti dall'esterno gli anticorpi diretti contro un determinato patogeno, come in caso di un'infezione in atto in cui non si ha il tempo di immunizzare il paziente, quindi vengono forniti direttamente gli anticorpi contro l'antigene. Sia nel caso dell'immunità attiva che passiva vi è una specificità nei confronti dell'antigene verso cui è diretta la risposta, la differenza è che se trasferisco gli anticorpi dall'esterno, il paziente non manterrà la memoria di quell'infezione perché la risposta è stata fornita dall'esterno se invece la risposta viene messa in atto da sola, si avrà quella che viene definita memoria immunologica.

Il sistema immunitario come già detto è costituito da **diversi tipi di cellule** e **molecole solubili** secrete da queste cellule.

I **linfociti B**, sono le cellule che producono gli anticorpi, i **linfociti T** producono invece citochine e altri mediatori. Linfociti T e B lavorano insieme, i primi aiutano i secondi ad attivarsi. C'è bisogno di due segnali, uno solo non basta, perché possono esserci degli errori che porterebbero ad attivazioni sbagliate se servisse un solo segnale, invece nella realtà il clone di cellule che produce questa attivazione sbagliata va in anergia, viene eliminato, perché autoreattivo.

I **leucociti** (globuli bianchi) sono costituiti da **linfociti**, **neutrofili**, **monociti**, **basofili** ed **eosinofili**. Nel caso di neutrofili alti si tratta di infezione batterica, linfociti alti di infezione virale, eosinofili alti si può supporre che si tratti di un soggetto allergico. Abbiamo in oltre le piastrine, che non servono solo per la coagulazione ma

possono produrre citochine pro-infiammatorie. Citochine, anticorpi e proteine del complemento sono tutte manipolabili dal sistema immunitario. I vari mediatori svolgono ruoli in diverse patologie, ad esempio il TNF si trova sia nell'artrite che nel lupus, e se bloccandolo nell'artrite si blocca la patologia, nel caso del lupus anche se il TNF viene bloccato la patologia va avanti lo stesso.

I linfociti T sono prodotti dal midollo osseo, passano quindi nel timo dove diventano maturi e acquisiscono la capacità di riconoscere gli antigeni; non producono anticorpi e costituiscono l'immunità cellulo-mediata. Si dividono in due popolazioni distinte: **Helper CD4** e **Citotossici CD8**. Esistono inoltre i **linfociti T Reg**, di cui prima se ne ignorava l'esistenza, i quali funzionano come semaforo, accendono e spengono le reazioni immunologiche, la mancanza di linfociti T Reg è alla base di molte malattie autoimmuni.

I **fagociti** riconoscono dei microbi e li fagocitano, presentano dei recettori grossolani, non identificano degli antigeni specifici ma riconoscono grossi marcatori di batteri come l'LPS, o grossi aminoacidi, rispondono quindi in maniera random ai diversi patogeni.

Le **cellule NK** possono riconoscere attraverso i recettori dell'immunità innata dei patogeni che hanno infettato una determinata cellula determinando la lisi della cellula infettata; questo tipo di processo viene messo in atto anche nei confronti di una cellula potenzialmente tumorale, quindi nel momento in cui ci troviamo di fronte ad un sistema immunitario che non funziona più siamo più esposti a situazioni di tumori. Il complemento è in grado di legarsi agli agenti microbici e poi si può avere la lisi, si possono reclutare cellule dell'infiammazione (es. neutrofili, che posseggono i recettori del complemento).

Abbiamo poi le **citochine** (prodotte dalle cellule del sistema immunitario) che permettono di indirizzare la risposta, si tratta di proteine che in maniera selettiva sono in grado di reclutare determinate cellule; (es. l'IL-4, IL-5 e IL-13 in grado di reclutare gli eosinofili, basofili e mastociti, tutti responsabili delle risposte allergiche; IL-2 recluta, invece, i linfociti, prodotta maggiormente nei processi infiammatori).

All'interno dell'organismo sono presenti una serie di punti di sorveglianza, ci sono gli organi linfoidi primari e secondari, punti strategici in cui sono collocate tutte le cellule del sistema immunitario, (es. i macrofagi alveolari a livello del polmone, diverse cellule posizionate a livello dei bronchi perché respirando siamo esposti ad una serie di patogeni); in circolo sono presenti i polimorfo nucleati, le cellule non rimangono fisse nel torrente circolatorio ma attraverso il processo di DIAPÉDESI, extravasano, vanno nei tessuti, quindi circolano continuamente per cercare il potenziale luogo in cui agire. In caso di allergia al polline di graminacea, il polline viene visto come un antigene a cui rispondere, viene prodotta IL-5 e gli eosinofili passano attraverso l'epitelio, giungono in zona e rilasciano dai granuli diversi mediatori che servono a rispondere all'infiammazione, ad es. l'istamina, da cui deriva il prurito. Talvolta i mediatori sono citotossici per eliminare l'agente che ci sta attaccando. Motivo per cui le cellule non sono solo circolanti ma si trovano anche a livello delle sinovie, cioè capsule che rivestono le articolazioni; le membrane sinoviali sono costituite proprio da cellule del sistema immunitario che possono proliferare in caso di infiammazione.

Vi sono tutta una serie di mediatori e meccanismi precostituiti che servono per attivare le risposte immunitarie, parliamo ad esempio dei Toll-like Receptor, o recettori transmembrana a sette eliche (recettori per i peptidi formilati, quando questi peptidi legano i recettori questi attivano reazioni a cascata che portano alla formazione di intermedi reattivi dell'ossigeno, provocando l'uccisione dei batteri, questo accade ad esempio con l'*Helicobacter pylori* che si trova nello stomaco, il quale lega proprio peptidi formilati), abbiamo poi i recettori per le immunoglobuline (costituite da un frammento cristallizzabile e dalle braccia; il primo è quello che si lega ai recettori; le braccia riconoscono i diversi antigeni). Nell'immunità innata abbiamo già questi tipi di recettori che riconoscono le immunoglobuline, le quali appartengono all'immunità specifica, modo in cui comunicano tra loro.

I linfociti T provocano la risposta cellulo-mediata, i linfociti B provocano invece la risposta umorale. I linfociti T si attivano quando legano antigeni presenti sulla superficie di altre cellule associate a proteine del sistema MCH (complesso maggiore di istocompatibilità), complesso che consente di riconoscere un determinato antigene presentato da una cellula detta cellula presentante l'antigene (APC), ad es. un macrofago, un fagocita ma anche gli eosinofili possono essere APC. Queste cellule collaborano e presentano solo un piccolo frammento alle cellule competenti. I linfociti B sono quelli che si espandono attraverso la produzione di immunoglobuline. Più volte un anticorpo incontra un determinato antigene più diventa affine, quindi ai successivi contatti la risposta risulta più rapida e semplice.

Tutte le cellule che incontreremo derivano da una cellula staminale ematopoietica, una cellula progenitrice staminale che ha la capacità di differenziarsi in qualsiasi tipo di cellula, questa differenziazione avviene attraverso una maturazione in diversi organi o nel circolo periferico ed è mediata da fattori di crescita o citochine che si distinguono proprio per la loro capacità di indirizzare la cellula staminale verso un determinato tipo di cellula. Dalla cellula staminale ematopoietica abbiamo un progenitore multipotente, il quale si divide in due braccia, cellule mieloidi e cellule linfoidi. Dalle cellule mieloidi abbiamo tutti i precursori che incontriamo nel circolo periferico, eritroblasti (che costituiscono gli eritrociti), megacarioblasti (che costituiscono le piastrine) e una serie di precursori specifici che in base alle diverse citochine si trasformeranno in mastociti, eosinofili, basofili, cellule dendritiche, monociti e neutrofilo; mentre invece dal progenitore linfoide avremo le cellule che diventeranno i linfociti NK, i linfociti T maturi, i linfociti B maturi, partendo da cellule pro-T per arrivare a cellule pre-T e analogamente partendo da cellule pro-B per arrivare a cellule pre-B. E' molto importante il processo che porta da un precursore alla cellula matura, sulla superficie della cellula sono espressi dei marcatori, i quali si acquisiscono e si perdono (alcuni di questi) con il processo di maturazione, questo è molto importante perché esistono dei farmaci che hanno come bersaglio proprio questi marcatori. Ad esempio il precursore del linfocita B durante il suo processo di maturazione acquisisce marcatori (il CD20 e CD22) che sono poi bersaglio di farmaci specifici, i quali andando a mettere un target su questo ligando espresso dalle cellule va a determinare l'apoptosi della cellula matura. **Qual è lo scopo di bloccare il linfocita B?** Il linfocita B sappiamo essere la cellula che poi si trasforma in plasmacellula, la quale produce anticorpi, di conseguenza la possibilità di andare a bloccare il linfocita durante il suo percorso maturativo, non all'inizio o alla fine, ma solo in un determinato momento del suo sviluppo diventa fondamentale, perché se andassi a bloccare all'origine e non facessi più produrre linfociti, avrei una deplezione di una classe di cellule importante per il popolamento degli organi linfoidi, se invece andassi a bloccare il linfocita maturo andrei a rendere un paziente privo di capacità di produrre anticorpi, motivo per cui diventa fondamentale sapere che durante questo percorso maturativo si possono bloccare solo determinate fasi. Tra le diverse popolazioni, attraverso le tecniche di citofluorimetria, utilizzando degli anticorpi secondari che vanno a marcare alcune di queste molecole di cluster che caratterizzano i linfociti, è possibile distinguere diverse sottopopolazioni di linfociti presenti nel sangue periferico; questo è interessante perché attraverso l'identificazione delle diverse sottopopolazioni è possibile sapere quale classe di linfociti risulta essere in deficit in un determinato soggetto.

Tra le cellule circolanti abbiamo i globuli bianchi, distinte nei diversi polimorfonucleati, i neutrofilo sono quelli più abbondanti (40-60% dei leucociti totali), poi abbiamo i linfociti e infine piccole percentuali di monociti, eosinofili e basofili. Gli eosinofili si mantengono intorno ad una quota di 200 cellule per mm^3 , in diverse patologie ci può essere un'ipereosinofilia (aumento degli eosinofili).

Sono presenti inoltre tutte le cellule dell'immunità innata, nascono tutte dal midollo osseo e poi possono proseguire la maturazione a livello del sangue o dei tessuti dove subiscono delle differenziazioni, es. il macrofago origina da un monocita circolante e poi si trasforma in macrofago a livello tissutale, la cellula macrofagica può differenziarsi all'interno dei tessuti assumendo delle caratteristiche differenti, ad es. diventano cellule di Kupffer nel fegato, macrofagi alveolari nel polmone o macrofagi sinusoidali nella milza. Le cellule più importanti nelle reazioni allergiche sono **eosinofili, mastociti e basofili**, sono importanti per la presenza di un recettore. Mastociti e basofili hanno un recettore ad alta affinità per le IgE, mentre gli eosinofili a bassa affinità. Basofili ed eosinofili sono cellule circolanti ma possono migrare all'interno dei tessuti grazie alle citochine che funzionano come fattori chemotattici, quindi le cellule si trovano in circolo e all'improvviso sentono una concentrazione di citochine (in sede di infiammazione), chiamate chemochine, consentendo il processo di migrazione dal circolo ad un tessuto. Si tratta di cellule deputate alla difesa, contro gli elminti, in corso di parassitosi, inoltre sono le cellule espressione dell'ipersensibilità immediata, cioè delle reazioni allergiche. Immediata perché si tratta di reazioni rapide, vanno dai 2 ai 30 minuti, rappresentano un'emergenza (l'anafilassi è la reazione allergica più grave ed è quella che mette in pericolo di vita il soggetto;