

## **Programma**

### **Modulo Immunopatologia -3CFU Prof. Paola Del Porto**

#### **Reazioni di ipersensibilità**

Reazioni di tipo I: le reazioni allergiche, allergeni, IgE, regolazione della risposta IgE, fattori implicati nello sviluppo dell'allergia. Reazioni di tipo II: molecole e meccanismi che mediano il danno indotto da anticorpi diretti verso antigeni cellulari e della matrice. Reazioni trasfusionali. La malattia emolitica del neonato. Reazioni di tipo III: reazioni da immunocomplessi formati da Ig e da antigeni solubili. Patologie risultanti dalla formazione di immunocomplessi. Reazioni di tipo IV: meccanismo di azione e mediatori. Esempi di ipersensibilità ritardata: ipersensibilità di tipo tubercolinico, ipersensibilità da contatto.

#### **Immunologia dei trapianti.**

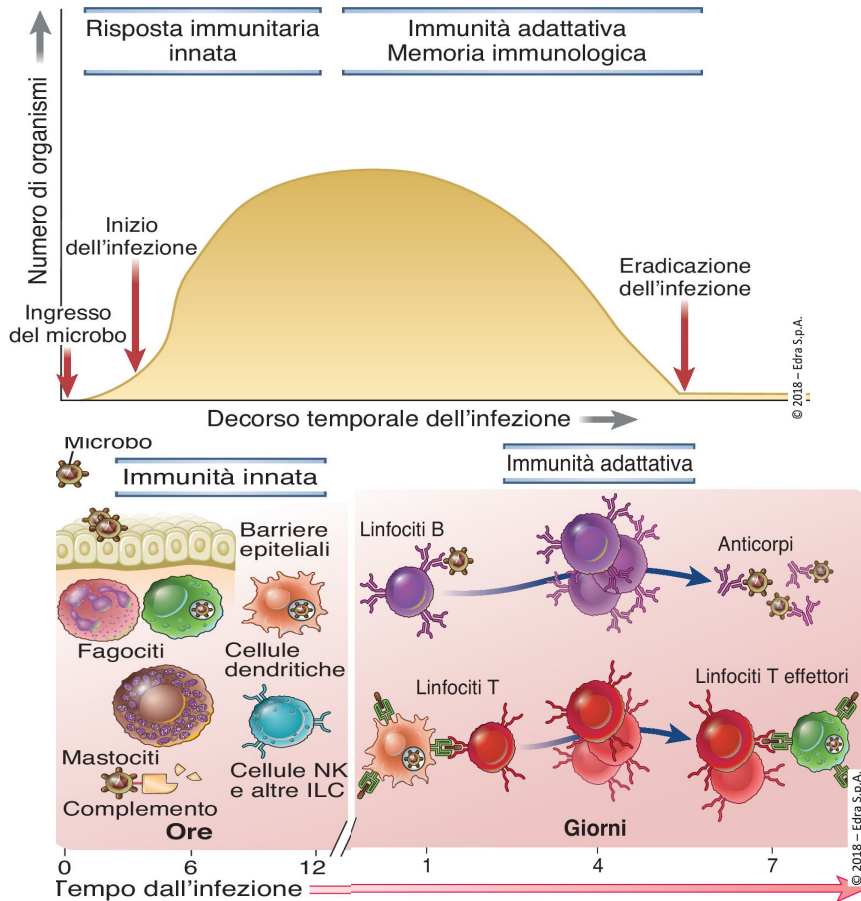
#### **Immunodeficienze congenite e acquisite:**

Immunodeficienze primarie: immunodeficienza grave combinata (SCID). Deficit di attivazione dei linfociti T e B: difetti di espressione o di trasduzione del segnale del complesso TCR, sindrome da iperIgM. Deficit dell'attività microbica dei fagociti. Sindrome da immunodeficienza acquisita.

# Caratteristiche generali della risposta immunitaria

- La risposta immunitaria è la risposta coordinata delle cellule dell'immunità verso le sostanze estranee.
- La funzione fisiologica del sistema immunitario è la difesa dagli agenti infettivi.

## Cinetica della risposta immunitaria



**L'immunità innata** consiste di meccanismi di difesa pronti a reagire con rapidità. Questi meccanismi rispondono in modo identico ad infezioni ripetute.

**L'immunità acquisita** si sviluppa e si adatta in risposta all'infezione stessa. E' specifica per antigeni diversi.

Possiede memoria che riflette la capacità di rispondere in modo più potente e efficace ad una successiva esposizione all'antigene. I componenti dell'immunità acquisita sono:  
I linfociti T  
I linfociti B

# Ipersensibilità immunitaria

La risposta immunitaria fornisce al corpo umano un importante sistema di difesa nei confronti degli agenti infettivi. Normalmente le risposte immunitarie eliminano l'agente infettante senza causare gravi lesioni ai tessuti dell'ospite. In alcuni casi le risposte immunitarie possono causare danno tissutale e malattia. Le manifestazioni morbose causate dalle risposte immunitarie sono definite *malattie da ipersensibilità*.

# Cause delle malattie da ipersensibilità

Le risposte immunitarie che causano malattie da ipersensibilità possono derivare dal riconoscimento di antigeni di diversa natura.

- **risposte immunitarie verso antigeni ambientali non microbici.** Quasi il 20% della popolazione reagisce ad antigeni ambientali, che generalmente non sono dannosi, con conseguente sviluppo di allergie. Es. allergie ai pollini, alla polvere etc.
- **risposte contro i microrganismi.** Le risposte contro gli antigeni microbici possono causare malattia quando sono eccessive o nel caso in cui il microrganismo persiste nell'organismo a lungo. La persistenza del microrganismo può causare una reazione infiammatoria conseguente alla azione dei linfociti T o degli anticorpi. Es. granuloma tubercolare.
- **risposte contro antigeni autologhi o self.** Il mancato funzionamento dei meccanismi di tolleranza alle proteine autologhe provoca una reazione dei linfociti T e B contro le proprie cellule o tessuti definita autoimmunità. Le malattie causate da una risposta autoimmune sono definite malattie autoimmuni.

# Meccanismi molecolari e classificazione delle reazioni di ipersensibilità

Le malattie da ipersensibilità sono classificate in 4 tipi in base ai meccanismi immunitari che le determinano: Ipersensibilità di tipo I, II, III, IV.

Queste reazioni sono state descritte già all'inizio del '900 e sono state classificate da Gell e Coombs nel 1963.

## Gell and Coombs classification of hypersensitivity

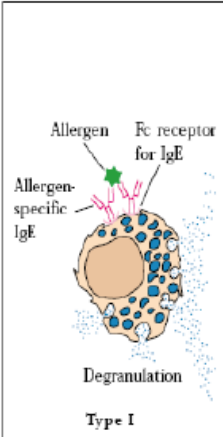
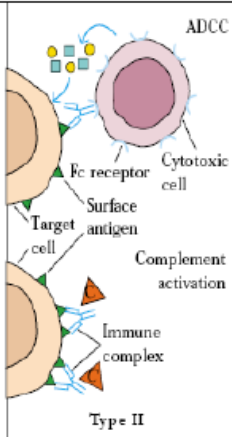
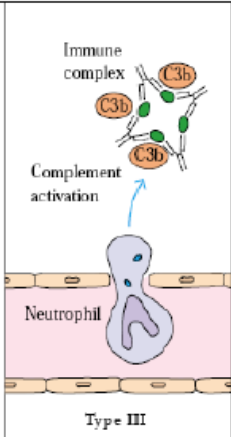
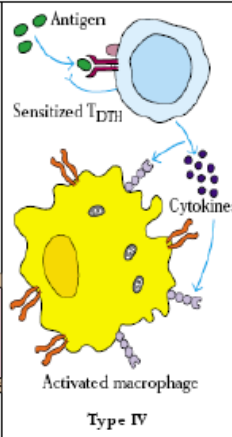
Type	Mechanism	Examples
I	IgE	Anaphylaxis, asthma, hay fever, eczema, food allergies
II	Cytotoxic Ab	HTR by ABO incompatibility, HDN by Rh incompatibility
III	Immune complexes	Arthus phenomenon, serum sickness, rheumatoid arthritis
IV	Cell-mediated	Koch's phenomenon, contact dermatitis

HTR=immediate hemolytic transfusion reaction

HDN= hemolytic disease of the newborn

# Meccanismi molecolari e classificazione delle reazioni di ipersensibilità

Rispetto al periodo in cui Gell e Coombs hanno classificato le reazioni di ipersensibilità, le conoscenze sul sistema immunitario e sul suo funzionamento sono notevolmente aumentate. Anche se la classificazione di Gell e Coombs non è esaustiva questa risulta ancora utile nella comprensione delle reazioni di ipersensibilità che sono classificate in 4 tipi in base ai meccanismi effettori: Ipersensibilità di tipo I, II, III, IV.

 <p><b>Type I</b></p>	 <p><b>Type II</b></p>	 <p><b>Type III</b></p>	 <p><b>Type IV</b></p>
IgE-Mediated Hypersensitivity	IgG-Mediated Cytotoxic Hypersensitivity	Immune Complex-Mediated Hypersensitivity	Cell-Mediated Hypersensitivity
Ag induces crosslinking of IgE bound to mast cells and basophils with release of vasoactive mediators	Ab directed against cell surface antigens mediates cell destruction via complement activation or ADCC	Ag-Ab complexes deposited in various tissues induce complement activation and an ensuing inflammatory response mediated by massive infiltration of neutrophils	Sensitized T <sub>H</sub> 1 cells release cytokines that activate macrophages or T <sub>C</sub> cells which mediate direct cellular damage
Typical manifestations include systemic anaphylaxis and localized anaphylaxis such as hay fever, asthma, hives, food allergies, and eczema	Typical manifestations include blood transfusion reactions, erythroblastosis fetalis, and autoimmune hemolytic anemia	Typical manifestations include localized Arthus reaction and generalized reactions such as serum sickness, necrotizing vasculitis, glomerulonephritis, rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus	Typical manifestations include contact dermatitis, tubercular lesions and graft rejection

## Ipersensibilità

**di tipo I:** causata da IgE specifiche per antigeni ambientali e dai mastociti.

**tipo II:** causata da IgM o IgG specifiche per antigeni della superficie cellulare che ne causano la distruzione.

**tipo III:** causata da immunocomplessi (Ag-Ab) che attivano il complemento inducendo infiammazione.

**tipo IV:** causata da linfociti T che stimolano il processo infiammatorio o uccidono direttamente le cellule.

**TABELLA 18-1 Classificazione delle malattie immunologiche**

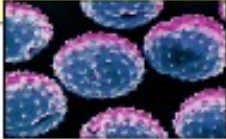





<b>Tipo di ipersensibilità</b>	<b>Meccanismi patologici</b>	<b>Meccanismi di danno tissutale e malattia</b>
Tipo I: immediata	Anticorpi IgE	Mastociti e i loro mediatori (amine vasoattive, mediatori lipidici, citochine)
Tipo II: mediata da anticorpi	Anticorpi IgM e IgG rivolti contro antigeni di superficie o della matrice extracellulare	Opsonizzazione e fagocitosi delle cellule Reclutamento e attivazione dei leucociti a opera del complemento e del recettore per Fc (neutrofilo, macrofago) Anomalie funzionali, per es. trasmissione del segnale dei recettori ormonali
Tipo III: mediata da immunocomplessi	Immunocomplessi formati da antigeni circolanti e da anticorpi IgM o IgG	Reclutamento e attivazione dei leucociti a opera del complemento e del recettore per Fc
Tipo IV: mediata dai linfociti T	Linfociti T CD4 <sup>+</sup> (infiammazione mediata dalle citochine) CTL CD8 <sup>+</sup> (citotossicità mediata dai linfociti T)	Reclutamento e attivazione dei leucociti Uccisione diretta delle cellule bersaglio, infiammazione mediata dalle citochine

Le risposte patologiche del sistema immunitario causano diversi tipi di danno tissutale. I diversi meccanismi immunitari causano disturbi con caratteristiche clinico-patologiche diverse. Nella realtà clinica le malattie a base immunitaria si manifestano in modo complesso a causa dei molteplici meccanismi effettori che possono agire contemporaneamente.

# Ipersensibilità di tipo I

La reazione di ipersensibilità di tipo I è comunemente nota come allergia. Le reazioni allergiche si sviluppano in individui che producono anticorpi di tipo IgE contro antigeni normalmente innocui presenti nell'ambiente definiti *allergeni*.

Gli allergeni sono generalmente proteine solubili presenti in sostanze quali pollini, alimenti, insetti. La maggior parte degli individui che incontra questi antigeni produce anticorpi di classe IgG1 o IgG4 che rimuovono l'antigene senza provocare sintomi. Gli individui che producono IgE sviluppano una reazione allergica con effetti variabili che vanno dall'orticaria, alle difficoltà respiratorie e in alcuni casi a morte.

Sorgenti comuni di allergeni		
<b>Materie inalati</b> Pollini delle piante. Prodotti rilasciati da animali domestici. Spore fungine. Escrementi di animali molto piccoli, es. acari della polvere della abitazioni		
	Polline	Acaro della polvere di casa
<b>Materie iniettati</b> Veleni di insetti. Vaccini. Farmaci. Proteine terapeutiche		
	Vespe	Farmaci
<b>Materie ingeriti</b> Alimenti. Farmaci somministrati per os		
	Arachidi	Crostacei

**Tabella 18.2 Esempi di allergeni comuni**

Nome dell'allergene*	Nome scientifico della fonte	Nome comune della fonte
Amb a 2	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	Ambrosia
Api m 1	<i>Apis mellifera</i>	Veleno d'api
Ara h 2	<i>Arachis hypogea</i>	Arachide
Bet v 1	<i>Betula verrucosa</i>	Polline di betulla
Can f 1	<i>Canis familiaris</i>	Peli di cane
Der p 1	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	Acaro della polvere
Pen a 1	<i>Penaeus aztecus</i>	Gamberetto
Phl p 5	<i>Phleum pratense</i>	Erba codolina

Molti degli allergeni sono proteasi (es Derp1) che si pensa possano ridurre le funzioni della barriera epiteliale.



• Allergies can be caused by lots of different things

• These are known as allergens

• The following are a list of common allergens



• Peanuts



• Tree nuts



• Sesame

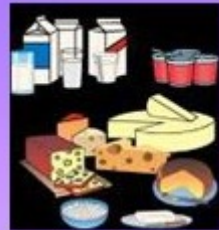
• Fish



• Shellfish



• Dairy Products



• Eggs



• Soya



• Fruit



• Latex



• Penicillin & other drugs



• Bee stings



## **Natura degli allergeni**

Gli antigeni che provocano ipersensibilità immediata sono comuni proteine ambientali e sostanze chimiche:

Allergeni di origine vegetale: proteine dei pollini di varie specie

Allergeni di origine animale: Insetti, Acari, Peli, etc.

Allergeni di origine alimentare: Crostacei, Frutta Secca, Latte, Uova, etc.

Allergeni di origine farmacologica: Antibiotici (penicillina).

## Malattie allergiche nell'uomo

**Le forme più comuni di malattie allergiche sono:**

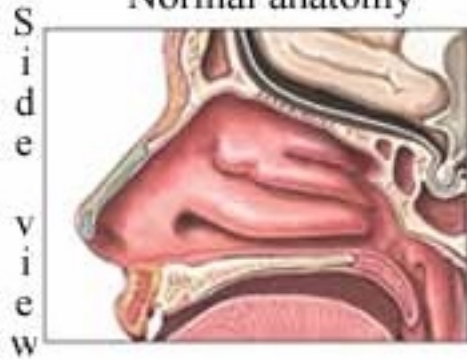
- Rinite allergica (raffreddore da fieno)
- Asma bronchiale allergico
- Dermatite atopica (eczema)
- Allergia alimentare
- Anafilassi (reazione allergica sistemica)

**Il sito dove si verifica il contatto con l'allergene determina quali organi e tessuti vengono coinvolti.**

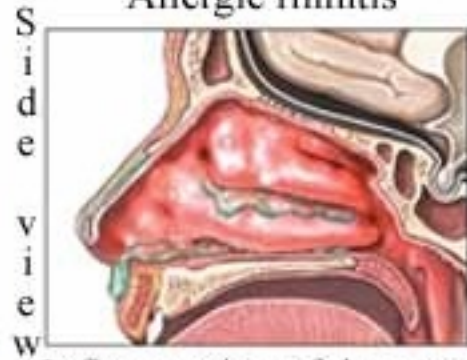
- Allergeni inalati → rinite e asma
- Allergeni ingeriti → vomito e diarrea
- Allergeni iniettati → effetto sistemico

# Principali tipi di malattie allergiche

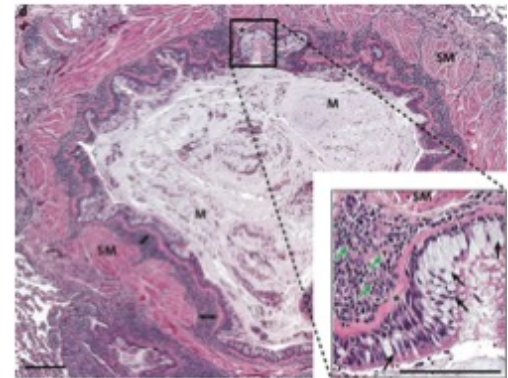
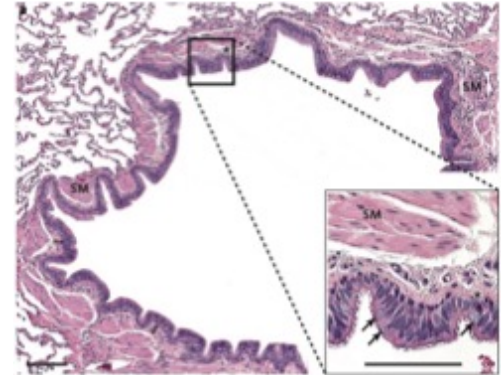
Normal anatomy



Allergic rhinitis



Inflammation of the nasal mucus layer with exudate in the airway.



Asma allergico

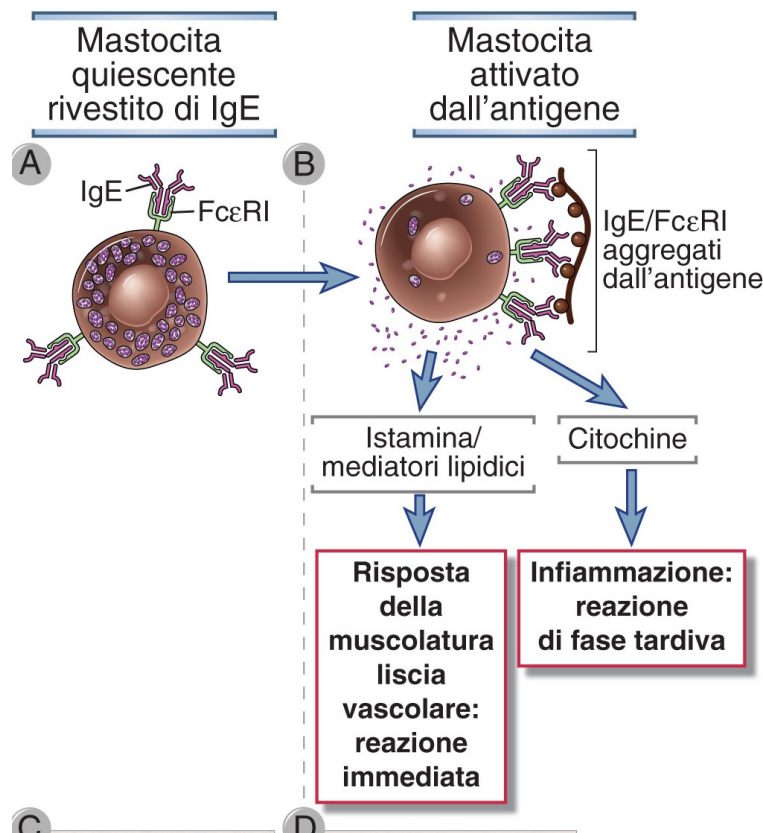


Reazione ponfo-eritematosa

# Diffusione delle malattie allergiche

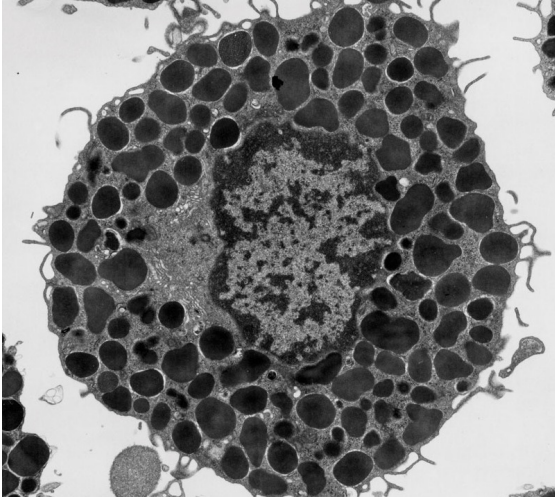
- L'asma e le malattie allergiche sono aumentate negli ultimi 50 anni fino a diventare le maggiori cause di malattia cronica dei bambini nei paesi sviluppati.
- Si stima che circa 300 milioni di persone nel mondo siano affette da asma
- La prevalenza di asma nei bambini è raddoppiata fra il 1980 e il 1990 (raddoppio dei bambini affetti da rinite, eczema o asma in Svezia). L'aumento di malattie allergiche in un breve periodo di tempo implica che i fattori ambientali sono determinanti nello sviluppo della malattia.
- La propensione a sviluppare allergie dipende anche da fattori genetici.

# Le malattie allergiche sono causate dal rilascio di mediatori da parte dei mastociti attivati



Nelle reazioni di ipersensibilità di tipo I il legame fra allergene e IgE legate alla superficie dei mastociti e dei basofili determina l'attivazione dei mastociti. I mastociti attivati rilasciano i mediatori responsabili dell'aumento della permeabilità vasale, vasodilatazione, contrazione della muscolatura liscia bronchiale e viscerale e infiammazione locale.

# Caratteristiche dei mastociti



I mastociti sono cellule ampiamente presenti nell'organismo e si localizzano nel tessuto connettivo e nelle mucose in prossimità dei vasi sanguigni e dei vasi linfatici.

I mastociti sono numerosi nella pelle, nel tratto respiratorio e nel tratto gastrointestinale.

I mastociti sono caratterizzati dalla presenza di granuli citoplasmatici contenenti: istamina, proteasi e citochine.

I mastociti sono cellule di origine midollare e la loro maturazione è influenzata dal fattore delle cellule staminali (stem cell factor, SCF) e altre citochine quali l'IL-3, IL-4, IL-9, IL-10.

# L'attivazione dei mastociti determina il rilascio dei mediatori preformati e la sintesi di altri mediatori

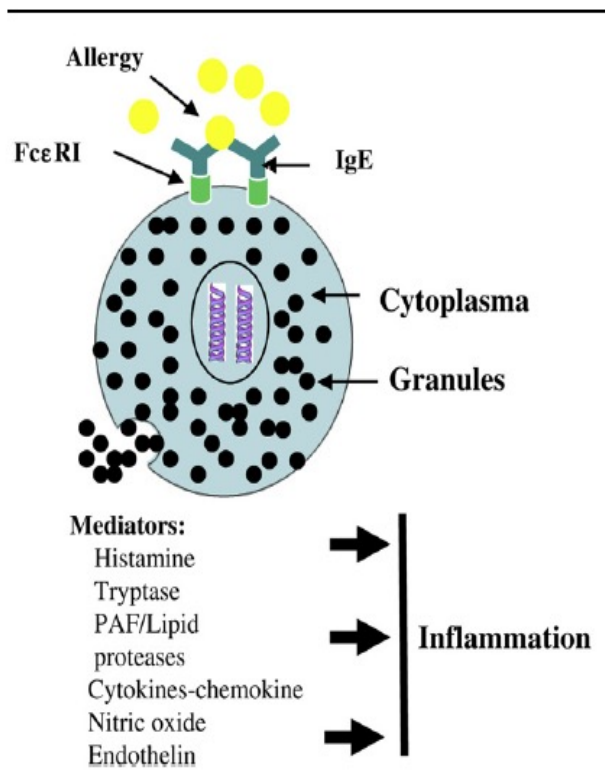


Figure 1 The IgE-primed mast cell releases granules and powerful chemical mediators, such as histamine, cytokines, granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), leukotrienes, heparin, and many proteases into the environment. These chemical mediators cause the characteristic symptoms of allergy.



## Sottopopolazioni di mastociti

Nel roditore sono state identificate due popolazioni di mastociti: del tessuto connettivo e delle mucose.

Nell'uomo sono state identificate due popolazioni definite MC(T) MC(TC) che differiscono per il tipo di proteasi presenti nei granuli.

I mastociti risiedono nei tessuti e hanno una vita lunga dell'ordine di mesi e anni.

**TABELLA 19-3 Sottopopolazioni di mastociti**

Caratteristica	Mastociti del tessuto connettivo		Mastociti delle mucose	
	Roditore	Uomo	Roditore	Uomo
Localizzazione	Cavità peritoneale	Cute, sottomucosa intestinale	Mucosa intestinale	Alveoli, mucosa intestinale
Dipendenza dai linfociti T per lo sviluppo nei tessuti	No	No	Si	Si
Contenuto dei granuli	Alti livelli di istamina, eparina	Principali proteasi neutre: triptasi, chimasi, carbossipeptidasi, catepsina G	Bassi livelli di istamina; elevati livelli di condroitin-solfato	Proteasi neutra maggiore: triptasi

# Caratteristiche dei mastociti

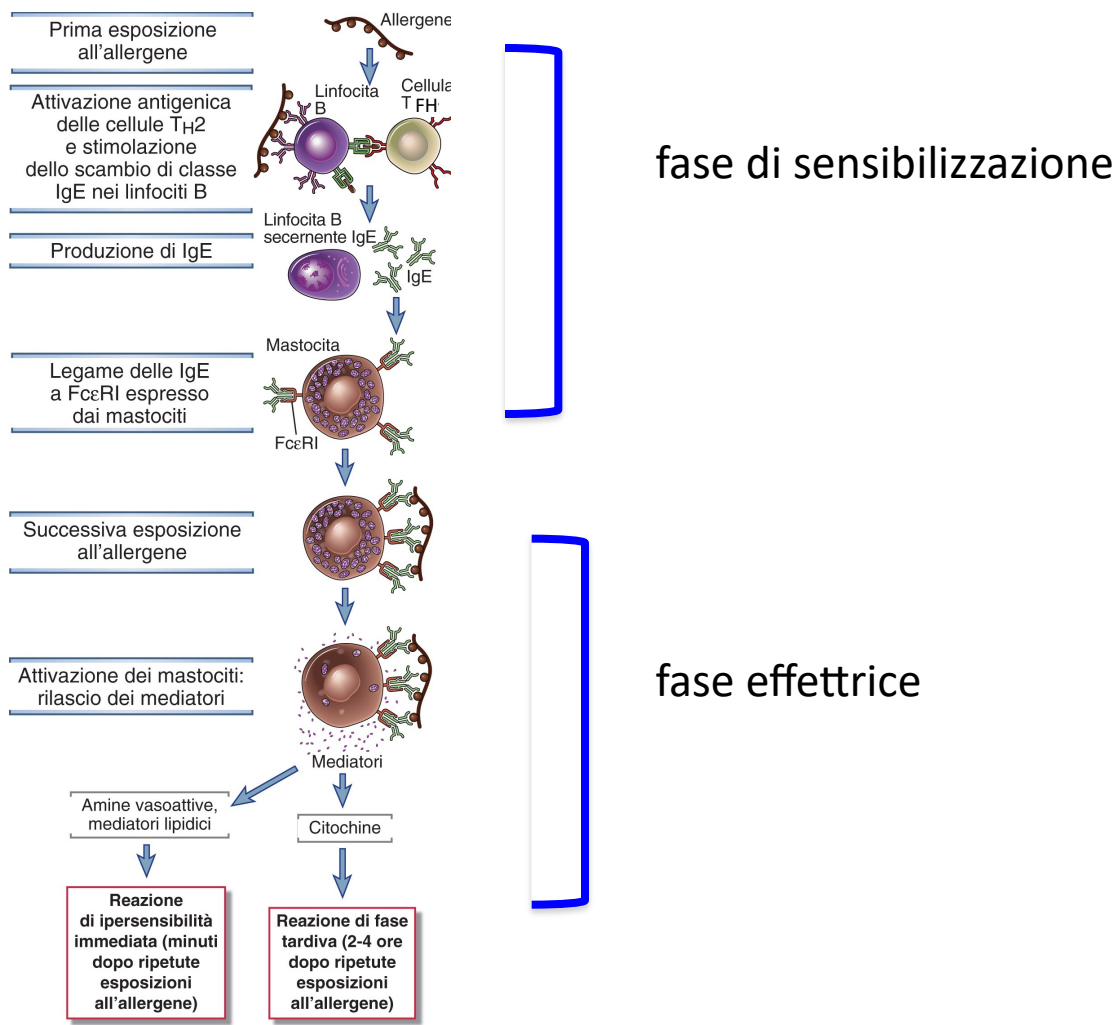
**TABELLA 19-1** Caratteristiche dei mastociti, dei basofili e degli eosinofili

Caratteristica	Mastociti	Basofili	Eosinofili
Principale sito di maturazione	Tessuto connettivo	Midollo osseo	Midollo osseo
Principali tipi di cellule circolanti	No	Sì (0,5% dei leucociti del sangue)	Sì (~2% dei leucociti del sangue)
Cellule mature reclutate nei tessuti dal sangue	No	Sì	Sì
Cellule mature residenti nei tessuti connettivi	Sì	No	Sì
Capacità proliferativa delle cellule mature	Sì	No	No
Emivita	Da settimane a mesi	Giorni	Da giorni a settimane
Fattore principale nello sviluppo (citochina)	Fattore della cellula staminale, IL-3	IL-3	IL-5
Espressione di FcεRI	Livelli elevati	Livelli elevati	Bassi livelli (funzione non chiara)
Contenuto principale dei granuli	Istamina, eparina e/o condroitinsolfato, proteasi	Istamina, condroitin-solfato, proteasi	Proteina basica maggiore, proteina cationica degli eosinofili, perossidasi, idrolasi, lisofosfolipasi

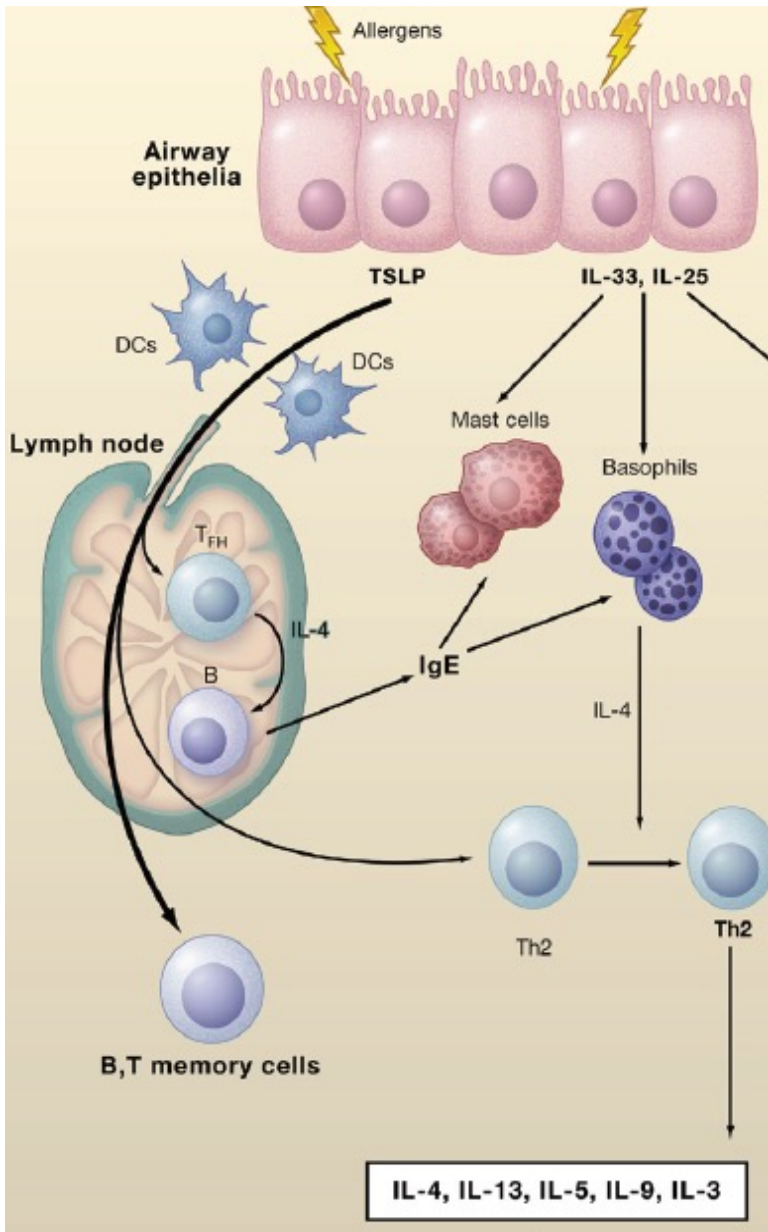
FcεRI, recettore per Fcε di tipo I; IL, interleuchina.



# Tutte le reazioni di ipersensibilità di tipo I sono caratterizzate da una serie di eventi avviati dall'esposizione all'allergene



## Fase di sensibilizzazione

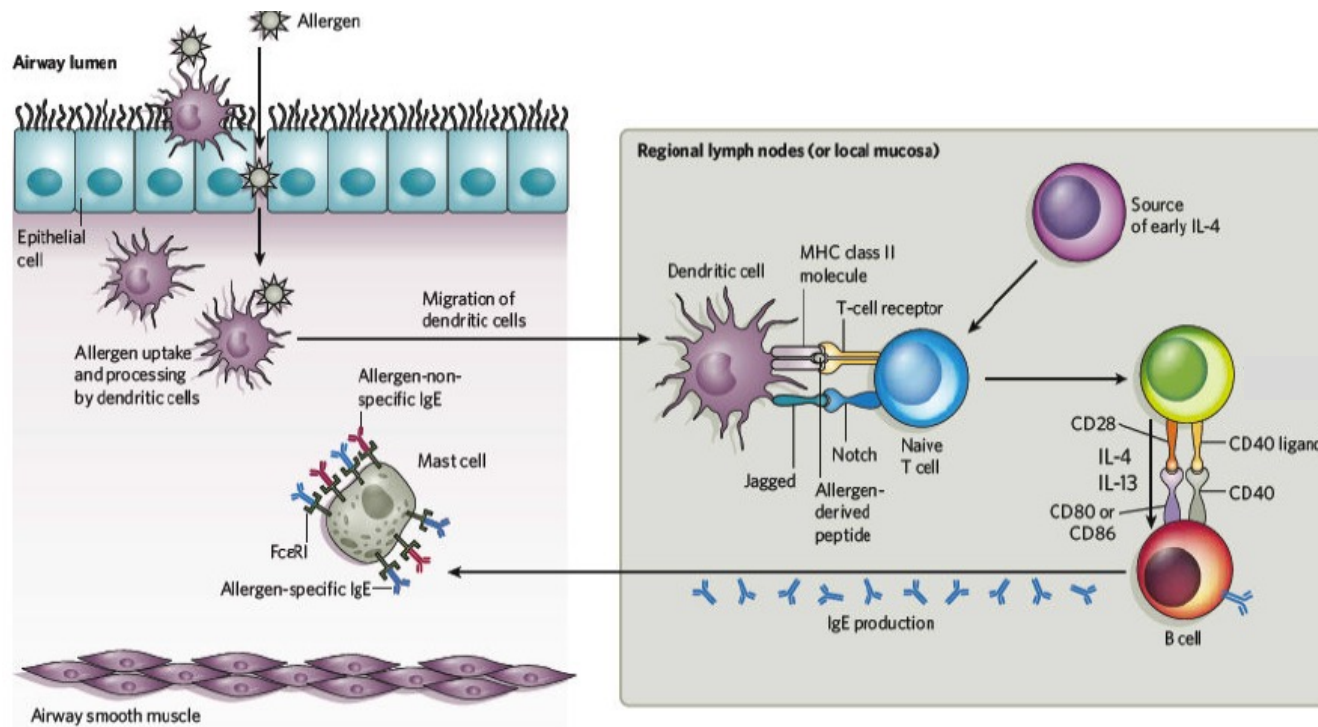


In un soggetto allergico il primo incontro con l'allergene induce una risposta anticorpale o umorale caratterizzata dalla produzione di IgE.

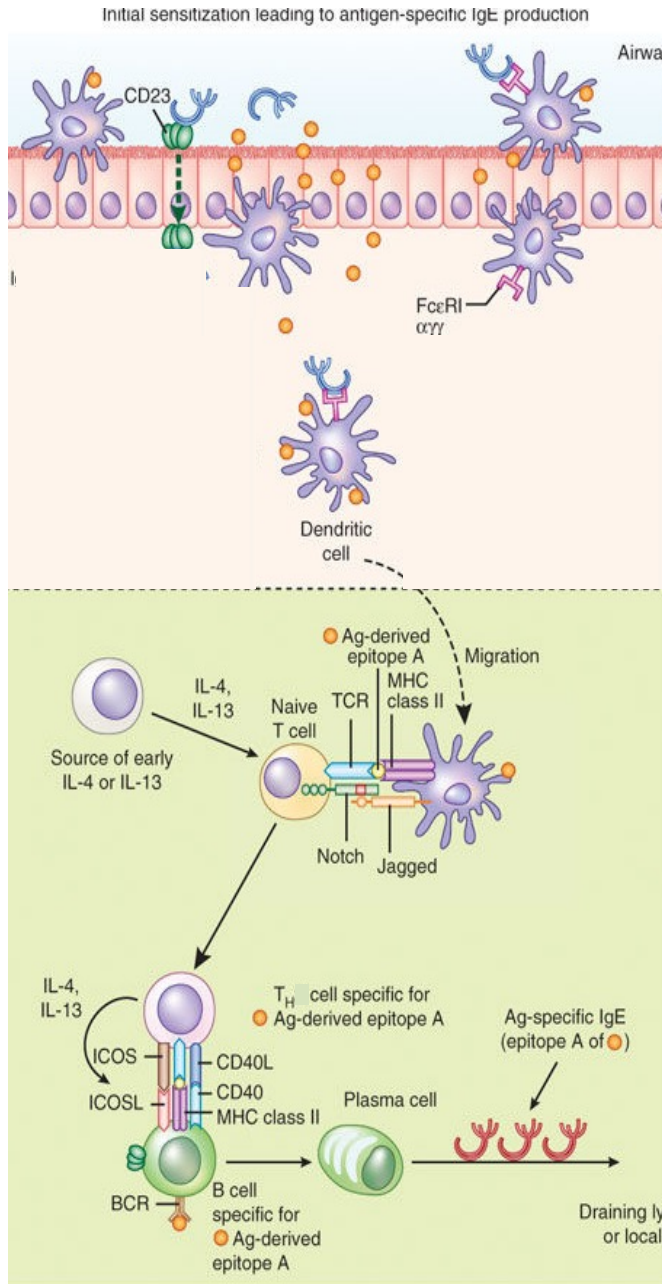
Inoltre sono indotti linfociti T helper 2 che sono caratterizzati dalla produzione di IL-4, IL-5, IL-9, IL-13.

# Fase di sensibilizzazione all'allergene

Nella fase di sensibilizzazione sono indotte Th2 e Tfh necessari per la produzione di IgE. L'attivazione dei linfociti T naive è mediata esclusivamente dalle cellule dendritiche.



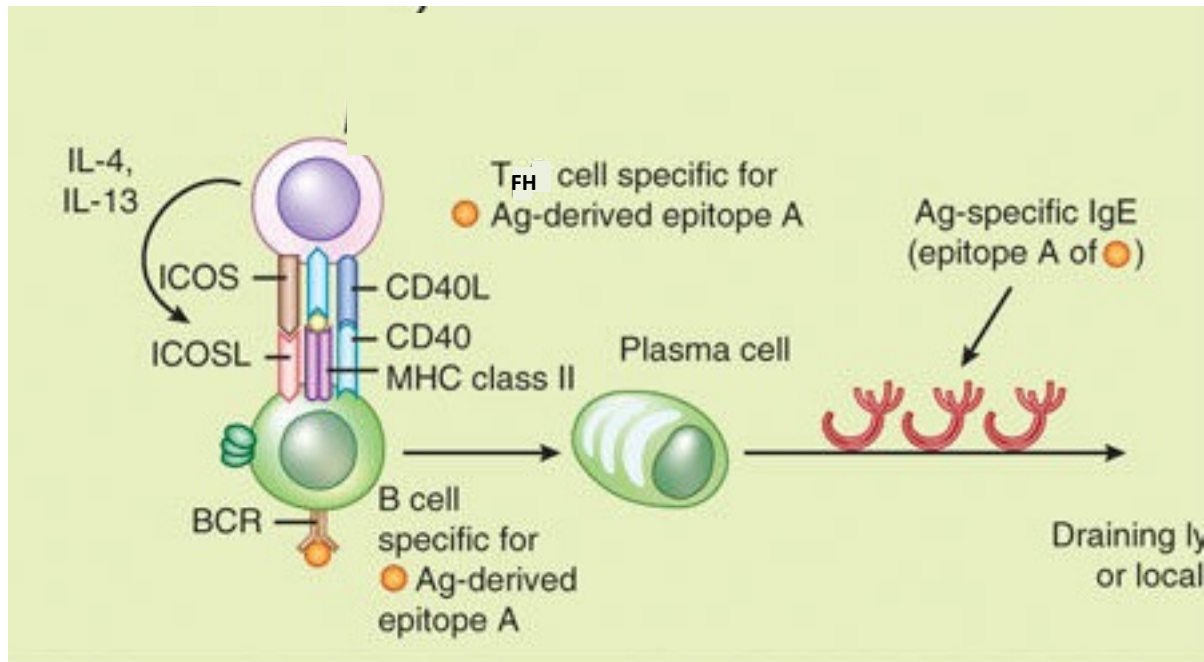
# Presentazione dell'allergene da parte delle DC e attivazione dei linfociti Thelper



Nel caso di allergeni inalati le cellule dendritiche presenti nell'epitelio e nella mucosa sottostante, catturano l'allergene lo processano e lo presentano ai linfociti T naive nei linfonodi o nella mucosa.

La presentazione dell'allergene da parte delle DC induce il differenziamento sia dei linfociti Th2 produttori IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 che dei T follicolari helper (Tfh) che sono cellule specializzate nel cooperare con i linfociti B nella produzione di Immunoglobuline (Ig).

# I linfociti Tfh allergene specifici inducono i linfociti B a produrre IgE specifiche per l'allergene

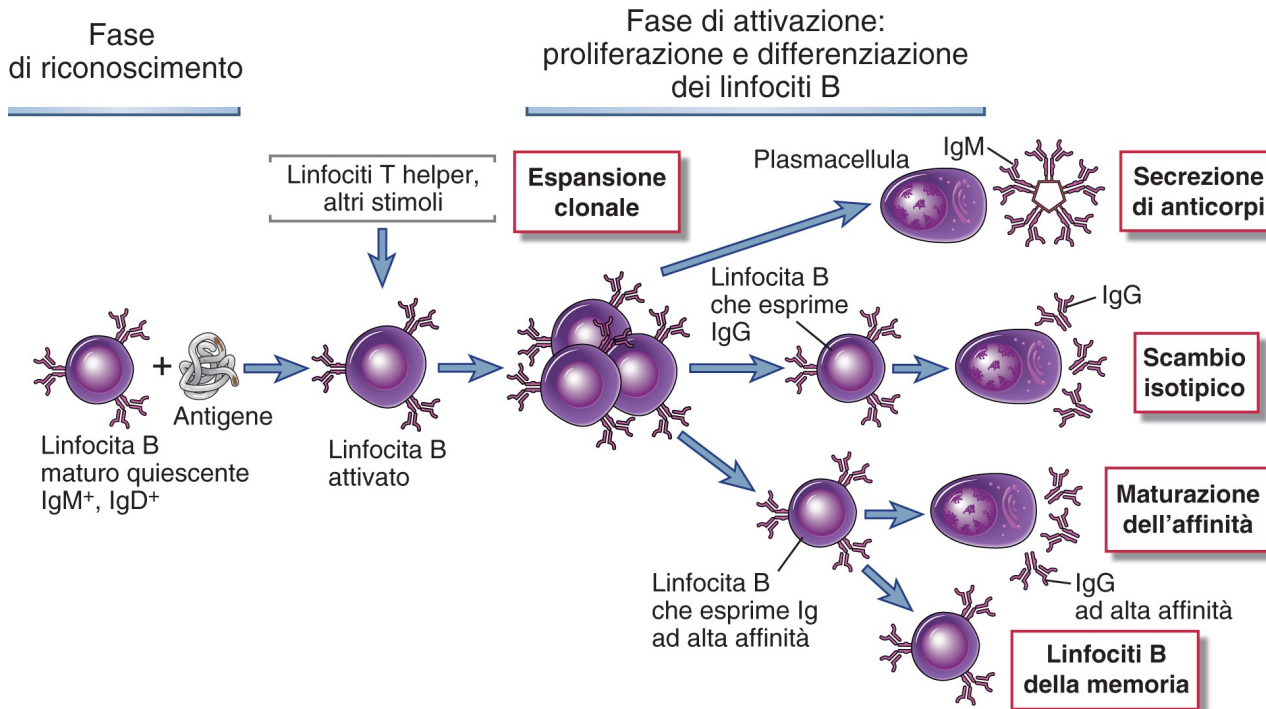


Il processo attraverso il quale i linfociti B possono produrre anticorpi di stessa specificità ma diverso isotipo prende il nome di commutazione di classe.

La commutazione di classe in risposta ad antigeni proteici richiede la cooperazione dei linfociti T helper. Nelle reazioni di ipersensibilità i linfociti T follicolari helper mediante la produzione di IL-4 e IL-13 inducono i linfociti B a produrre IgE.



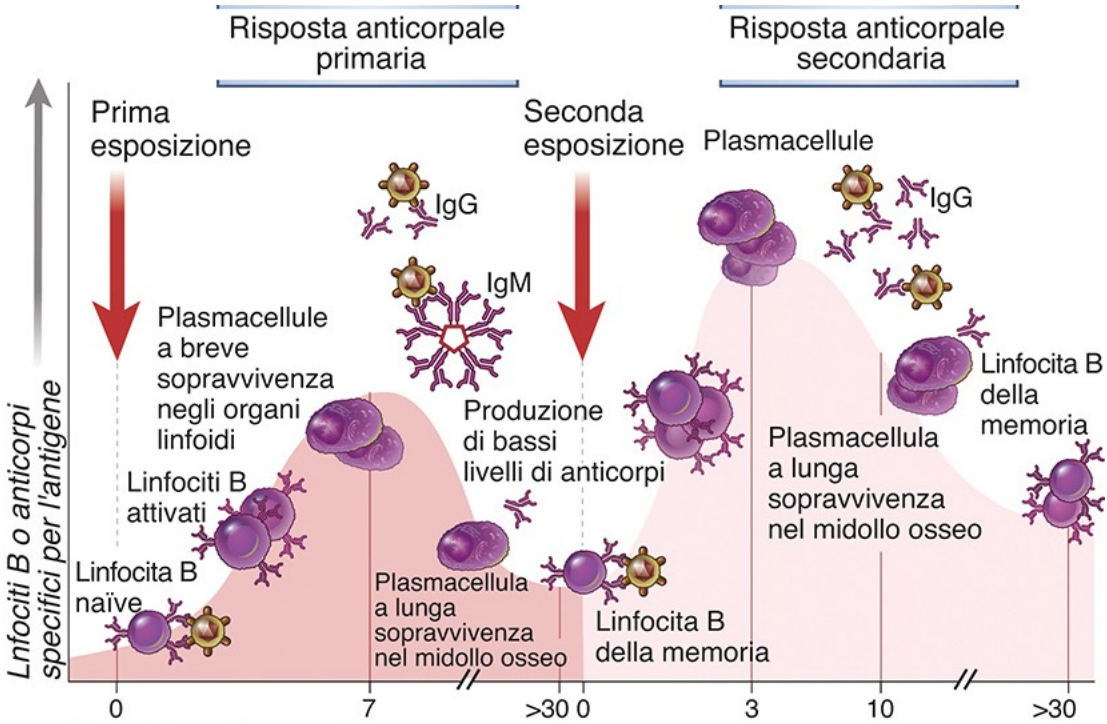
# Caratteristiche della risposta umorale



Le risposte anticorpali hanno inizio con il riconoscimento dell'antigene da parte dei linfociti B naive.

L'antigene lega le Immunoglobuline (Ig) M e D espresse sulla membrana del linfocita B naive. L'attivazione delle cellule B porta alla proliferazione e al differenziamento di cellule B producenti anticorpi o della memoria. Alcuni linfociti B attivati possono iniziare a produrre Ig di isotipo diverso dalle IgM e IgD. Questo processo prende il nome di **switch isotipico** o **commutazione di classe**.

# Risposta anticorpale



# Commutazione di classe delle Immunoglobuline

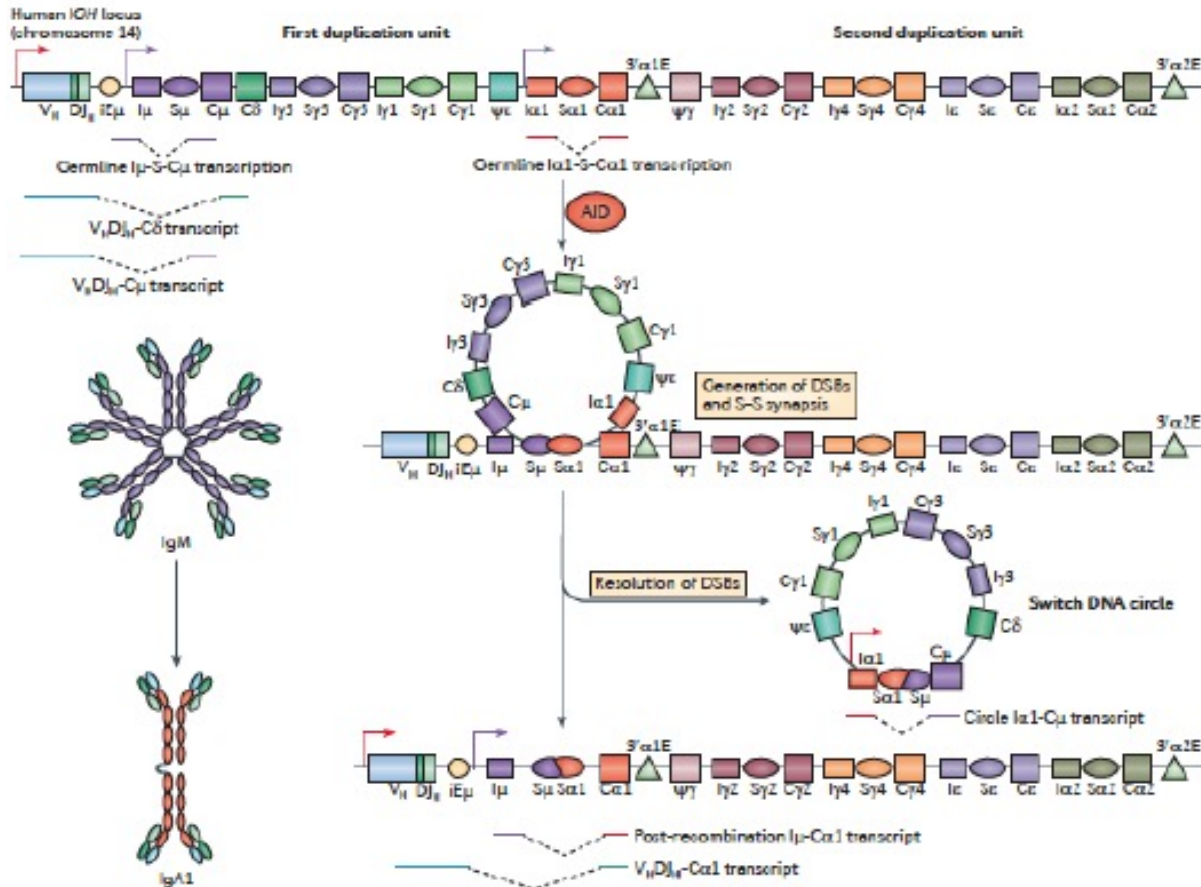


Figure 1 | CSR entails DNA deletion. Class-switch DNA recombination (CSR) exchanges the gene encoding the immunoglobulin heavy chain constant region ( $C_H1$ ) with one of a set of downstream  $C_H$  genes (the figure depicts CSR between  $S_{\mu}$  and  $S_{\alpha 1}$  in the human immunoglobulin heavy chain (IGH) locus). This deletion-recombination reaction requires activation-induced cytidine deaminase (AID) and involves the generation of DNA double-strand breaks (DSBs) in switch (S) regions (which lie upstream of the  $C_H$  gene) followed by DSB repair. This leads to the juxtaposition of rearranged  $V_H D_H J_H$  DNA (which encodes the heavy chain variable region) with a downstream  $C_H$  exon cluster and deletion of the intervening sequence between S regions as an extrachromosomal circle.  $\psi$ , pseudogene;  $3' \alpha 1 E$ ,  $3' \alpha 2 E$ , IGH intronic enhancer;  $I_H$ , IGH intervening region.

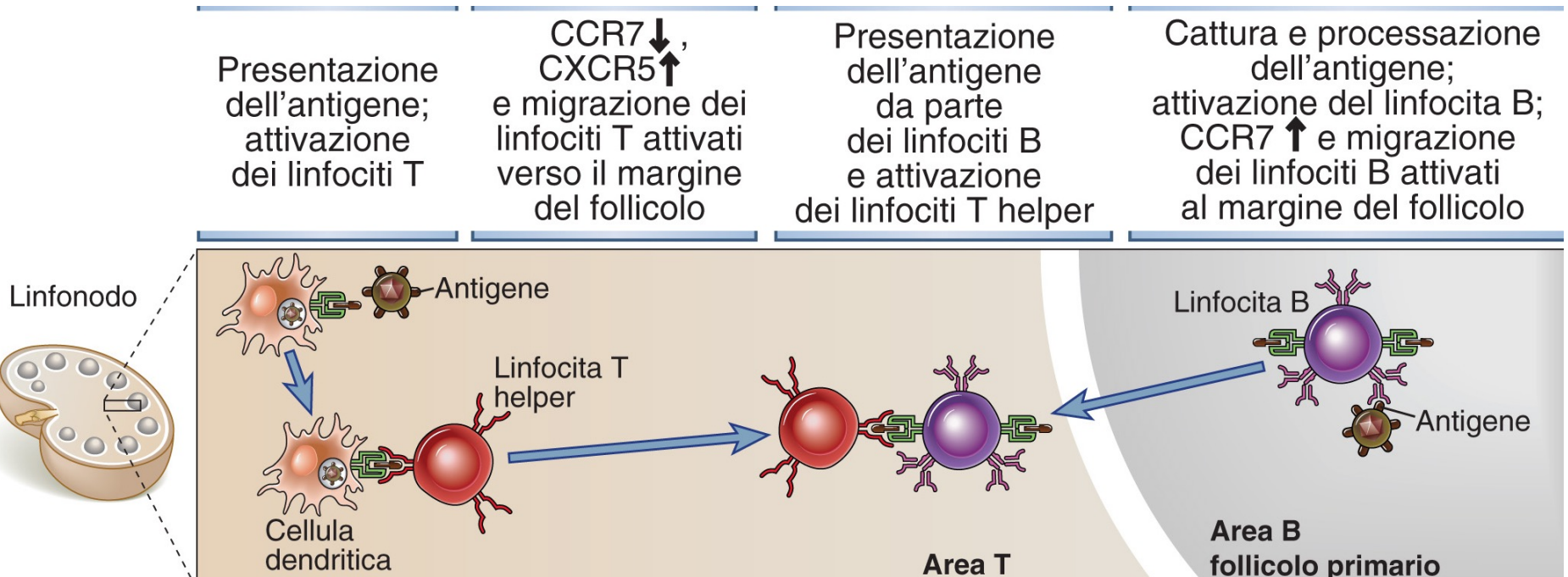
La produzione di anticorpi con stessa specificità per l'antigene e diversa regione costante (isotipo) avviene attraverso la sostituzione di un cluster costante (es:  $C_{\mu}$ ) con un altro cluster (es:  $C_{\gamma}$ ).

Questo processo richiede la presenza di specifiche citochine e l'interazione fra CD40-CD40L espressi dai linfociti B e T rispettivamente. Questi sono i due segnali necessari affinché possa avvenire lo switch isotipico.

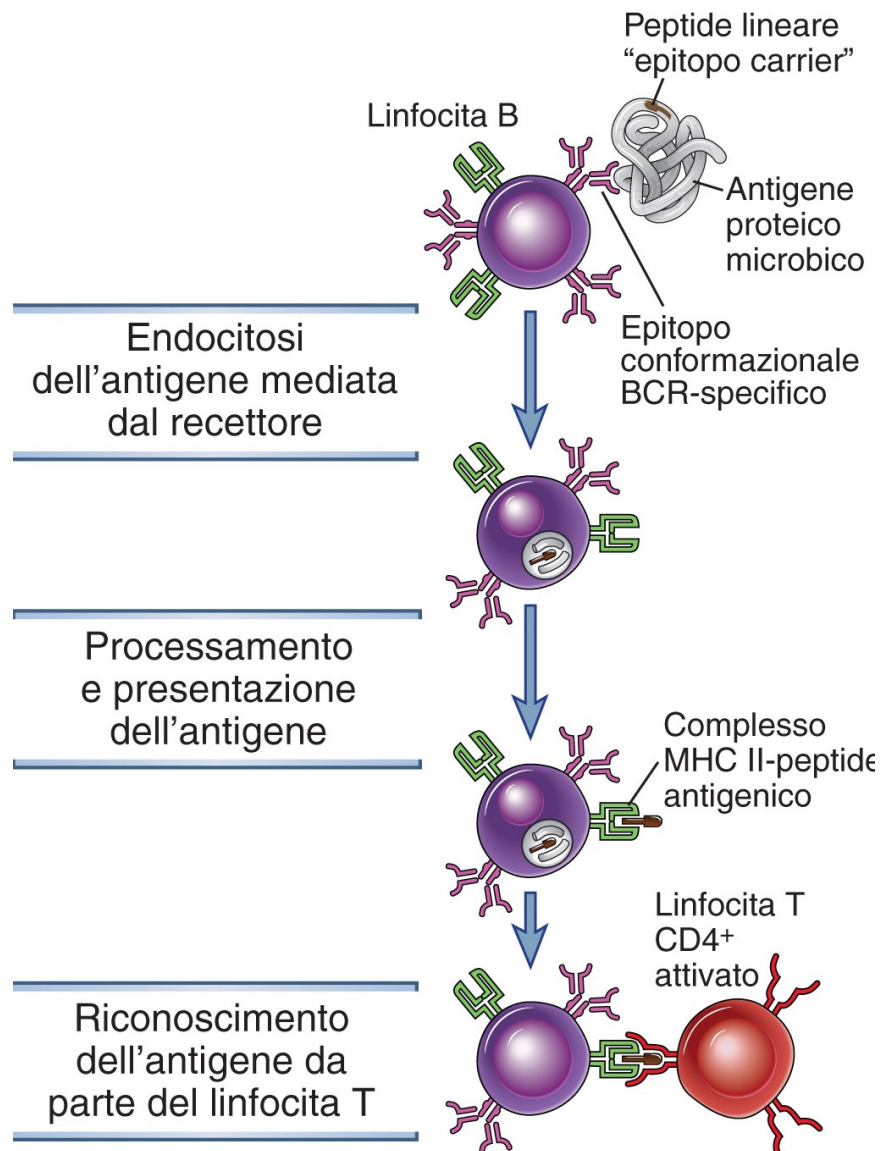
# La risposta anticorpale agli antigeni proteici necessita dell'aiuto dei linfociti T

I linfociti B che esprimono un BCR specifico per un determinato antigene proteico devono interagire con i linfociti T specifici per lo stesso antigene per poter generare una risposta anticorpale.

- 1) Il linfocita B processa e presenta l'antigene in associazione con le molecole MHC di classe II
- 2) Il linfocita T deve essere attivato dalle cellule dendritiche che presentano e processano lo stesso antigene
- 3) I linfociti T e B attivati devono venire in contatto fra di loro

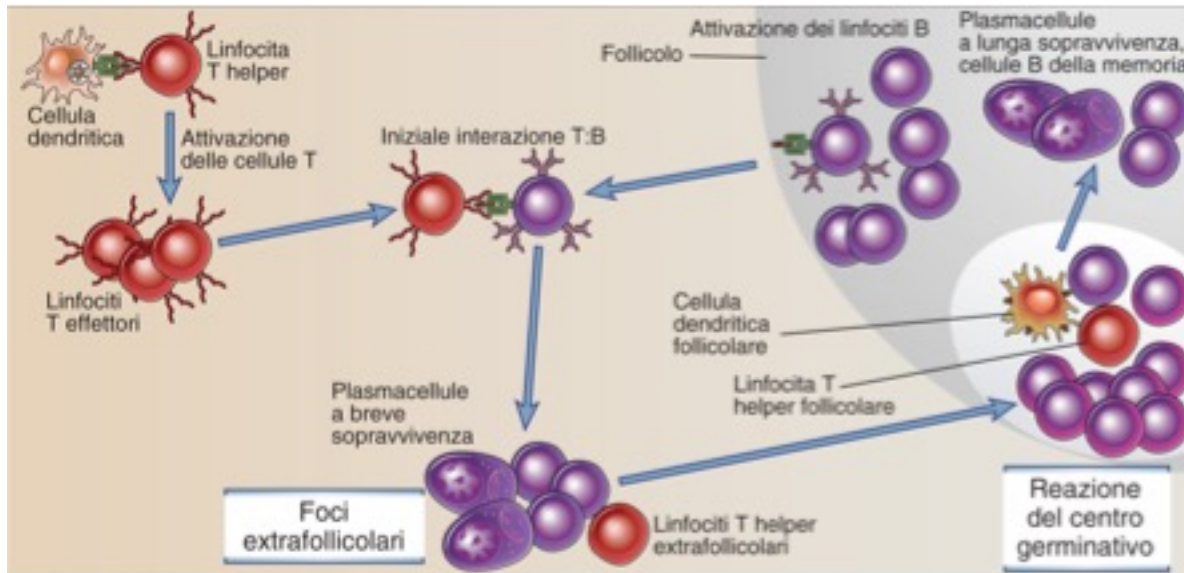


# 1) Il linfocita B processa e presenta l'antigene in associazione con le molecole MHC di classe II



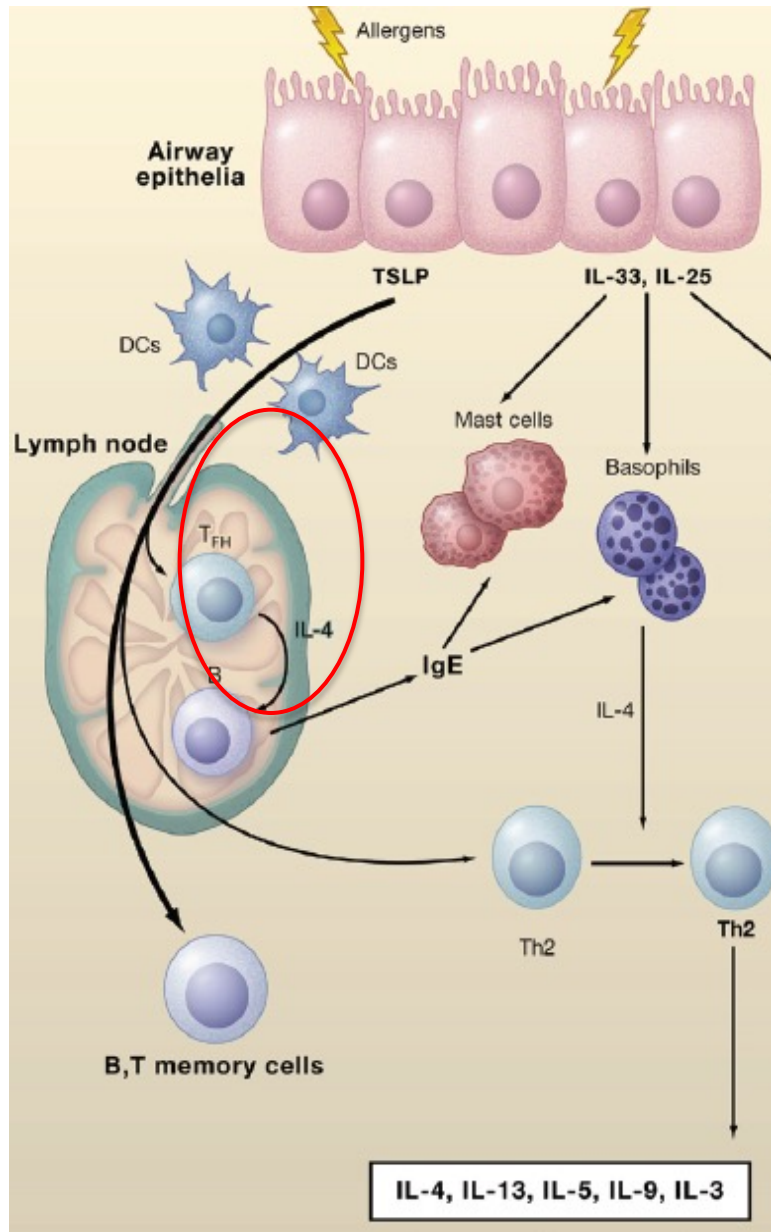
Le risposte anticorpali agli antigeni proteici richiedono la captazione, il processamento e la presentazione dell'antigene da parte del linfocita B. Gli antigeni proteici vengono indirizzati a un compartimento vescicolare dove sono degradati in peptidi lineari che saranno associati alle molecole MHC di classe II.

# Reazione del centro germinativo



I linfociti T in seguito all'interazione con le cellule B entrano nel follicolo. Contemporaneamente un numero limitato di linfociti B ritorna nel follicolo e inizia a proliferare formando una regione più chiara denominata centro germinativo. All'interno del centro germinativo è presente una zona più scura costituita dai linfociti B proliferanti. Nel centro germinativo hanno luogo: i) maturazione dell'affinità, ii) generazione delle cellule della memoria, iii) commutazione di classe.

## I linfociti T follicolari (TFH) I linfociti Tfh attivano i linfociti B specifici per l'allergene e inducono la produzione di IgE



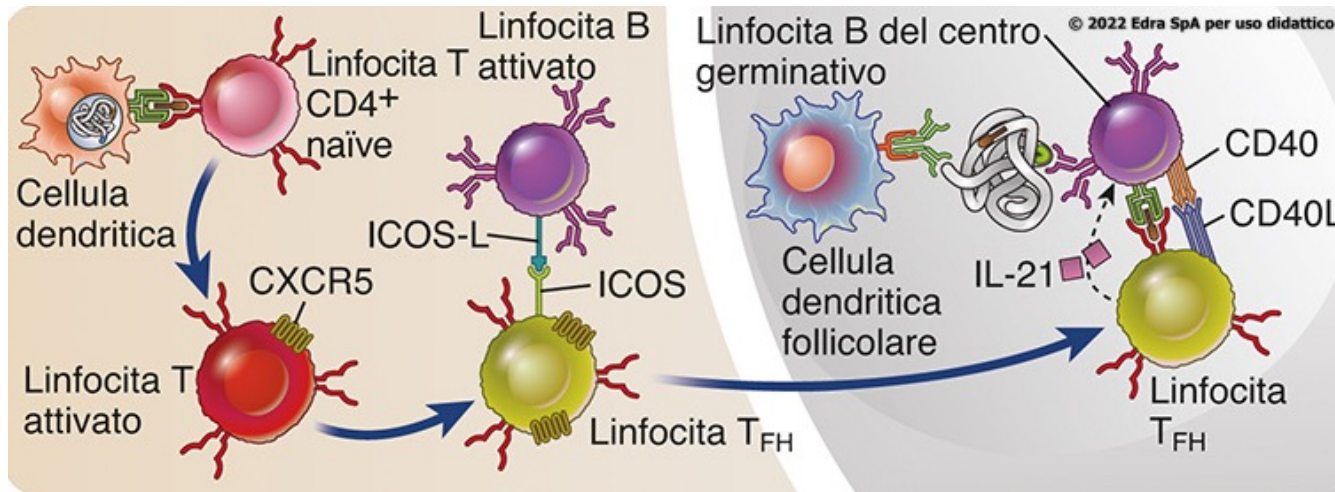
A partire dal 2000 è stata descritta una sottopopolazione di linfociti T helper specializzata nel cooperare con le cellule B nella produzione di anticorpi. Queste cellule definite linfociti T helper follicolari (Tfh) sono caratterizzate dall'espressione di CXCR5 (ligando CXCL13), PD-1, ICOS e il repressore trascrizionale BCL6 e dalla produzione di IL-21. Si localizzano principalmente nel centro germinativo sostenendo i linfociti B nella: l'ipermutazione somatica e la commutazione di classe.

Le Tfh possono produrre IFN- $\gamma$  o IL-4.

Esperimenti in topi deficienti in BCL6, che abroga lo sviluppo dei Tfh, hanno dimostrato l'importanza di tali cellule nella produzione di IgE allergene specifiche.

In base a questi dati si ritiene che nel corso delle risposte agli allergeni i Tfh agiscano nel sostenere la risposta IgE mentre i Th2 nel mediare la risposta infiammatoria di tipo 2.

## Generazione dei linfociti T helper follicolari



La generazione dei T helper follicolari richiede l'attivazione dei linfociti T naïve prima da parte delle DC e poi dei linfociti B attivati. I linfociti T<sub>FH</sub> differenziati migrano nel follicolo dove aiutano i linfociti B a maturare l'affinità degli anticorpi, a generare plasmacellule, a effettuare la commutazione di classe delle Ig a generare cellule della memoria.



# Il centro germinativo

Attivazione e migrazione  
dei linfociti B  
nel centro germinativo

Proliferazione  
e ipermutazione  
somatica dei linfociti B

Selezione dei linfociti B  
ad alta affinità;  
scambio di classe

Fuoriuscita di cellule B  
della memoria  
e di cellule B  
che producono anticorpi  
con alta affinità

