

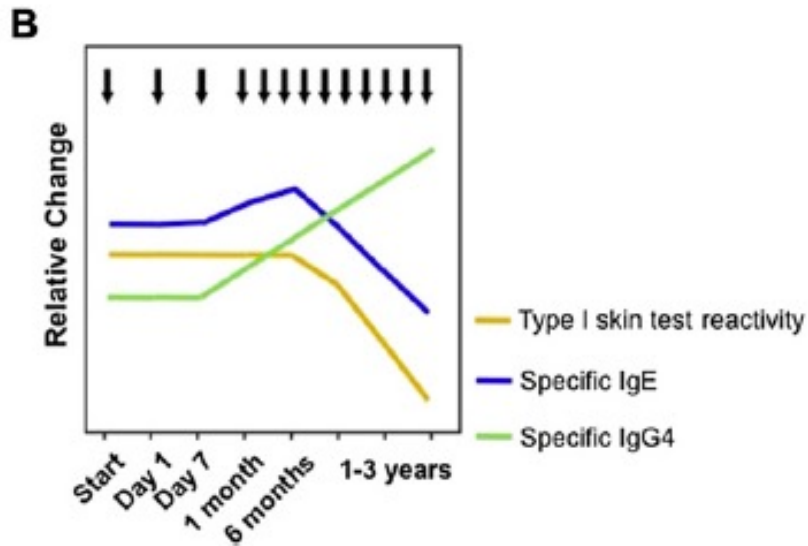
## Immunoterapia delle reazioni allergiche (AIT)

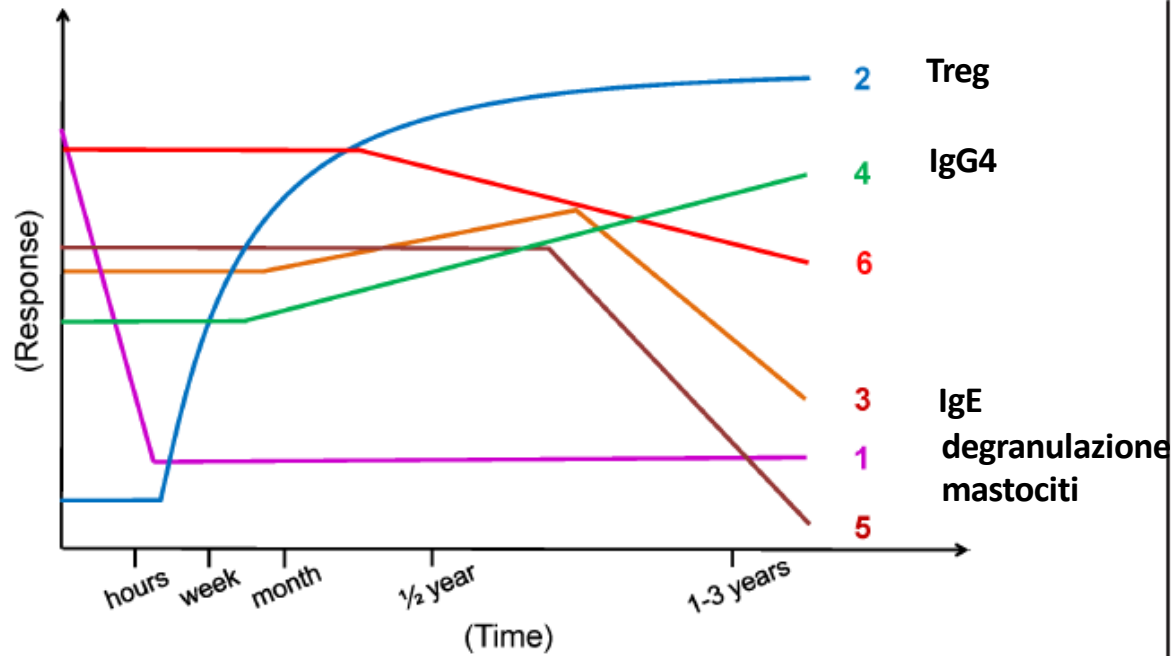
La prevenzione e il trattamento di molte malattie che sono causate dalla disregolazione della risposta immunitaria si basano su strategie atte ad indurre la tolleranza all'antigene.

Nel caso delle allergie in clinica viene usata l'immunoterapia all'allergene (AIT) che si basa sulla induzione della tolleranza ad allergeni quali pollini, acari della polvere e veleni.

Questo trattamento consiste nella somministrazione di piccole ma crescenti quantità di allergene per via sottocutanea o sublinguale.

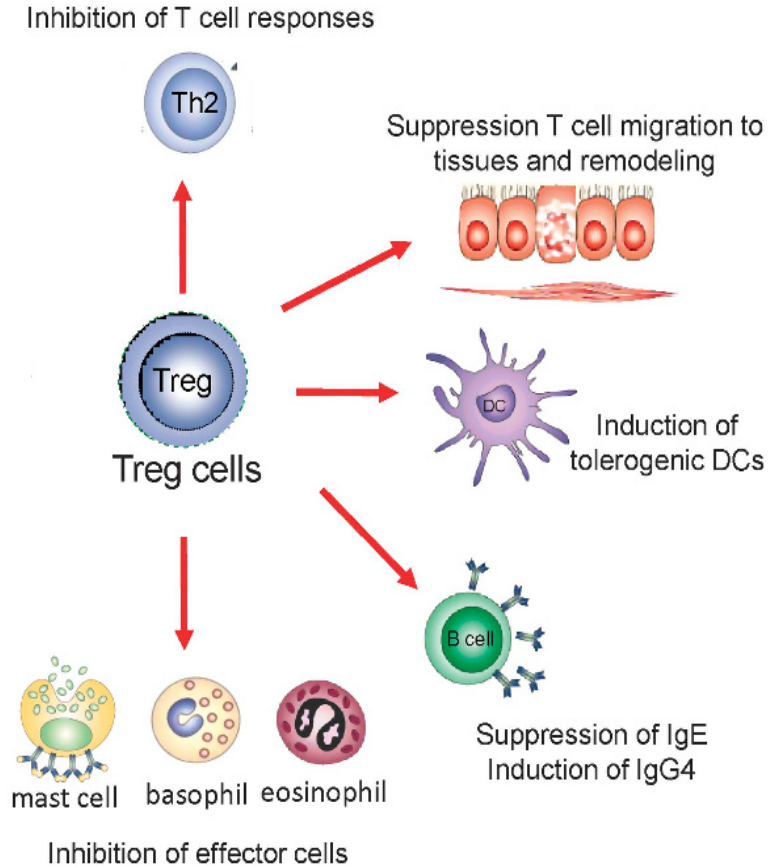
L'AIT si utilizza nel trattamento di riniti e asma. Oltre a ridurre i sintomi delle reazioni allergiche ha l'obiettivo di modificare il corso della malattia allergica inducendo una tolleranza antigene specifica. I suoi effetti includono: la riduzione di sintomi, la riduzione nell'uso di farmaci e il miglioramento della qualità della vita.





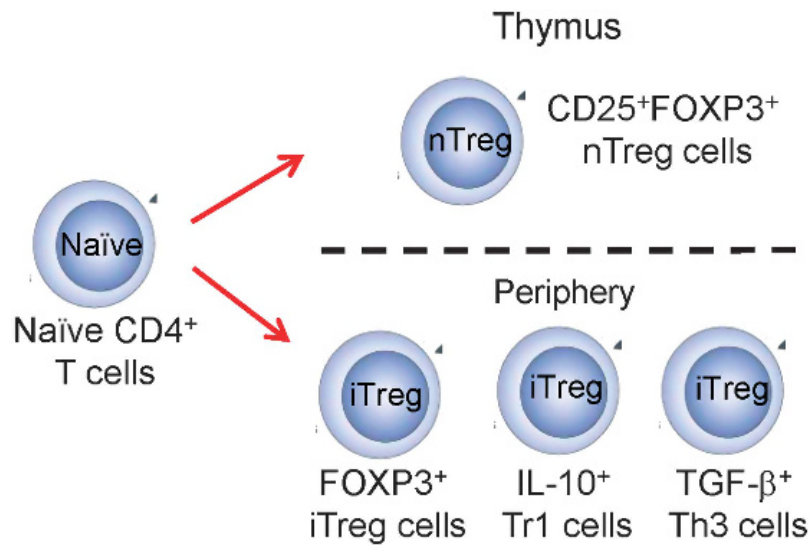
**Figure 1 Immune regulation during the time course of allergen-SIT.** Specific immune responses are observed during the course of allergen-SIT. 1. An early desensitization effect including decrease in mast cell and basophil degranulation soon after the first administration of allergens. 2. Generation of allergen-specific Treg cells and suppression of effector cells. 3. An early increase and a late decrease in specific IgE levels. 4. A relatively early increase in specific IgG4. 5. A late decrease in type I skin test reactivity. 6. A decrease in tissue mast cell and eosinophil numbers and a release of their mediators after a few months.

# Meccanismi alla base della soppressione dell'infiammazione allergica nell'AIT



Studi nel modello animale hanno dimostrato che i linfociti T regolatori svolgono un ruolo essenziale nella induzione e nel mantenimento della tolleranza all'allergene.

# Ruolo delle Treg nell'AIT



Le cellule regolatorie possono originare direttamente dal timo e prendono il nome di natural T reg T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> o possono essere indotte in periferia in condizioni tollerigeniche (assenza di una forte attivazione dell'immunità innata).

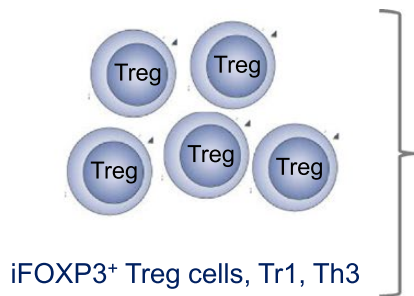
FOXP3 è il principale fattore di trascrizione responsabile della generazione delle Treg.

Esistono anche popolazioni di cellule T regolatorie che non esprimono FOXP3 e che includono:

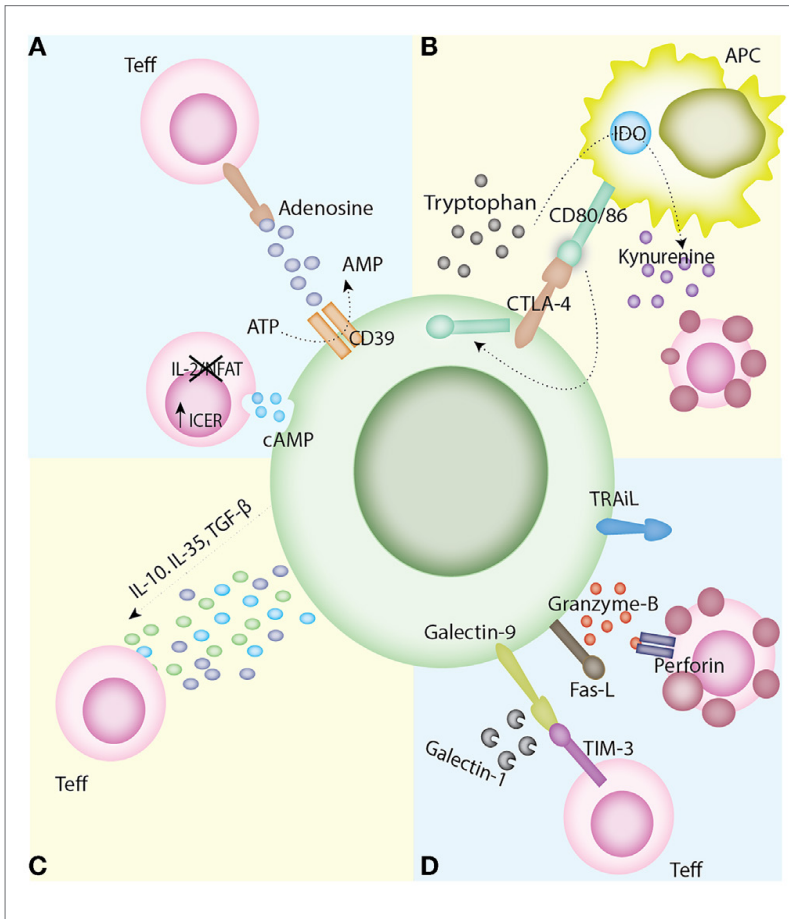
**cellule Tr1** , popolazione di cellule T attivate nella periferia dopo stimolazione da parte dell'antigene in presenza di IL-10 esprimenti LAG-3 e CD49b, FOXP3<sup>-</sup> producono elevati livelli di IL-10.

**Th3** che differenziano sempre in periferia e mediano la soppressione mediante la secrezione di TGF-β;

# Meccanismi di soppressione della risposta immune da parte delle Treg

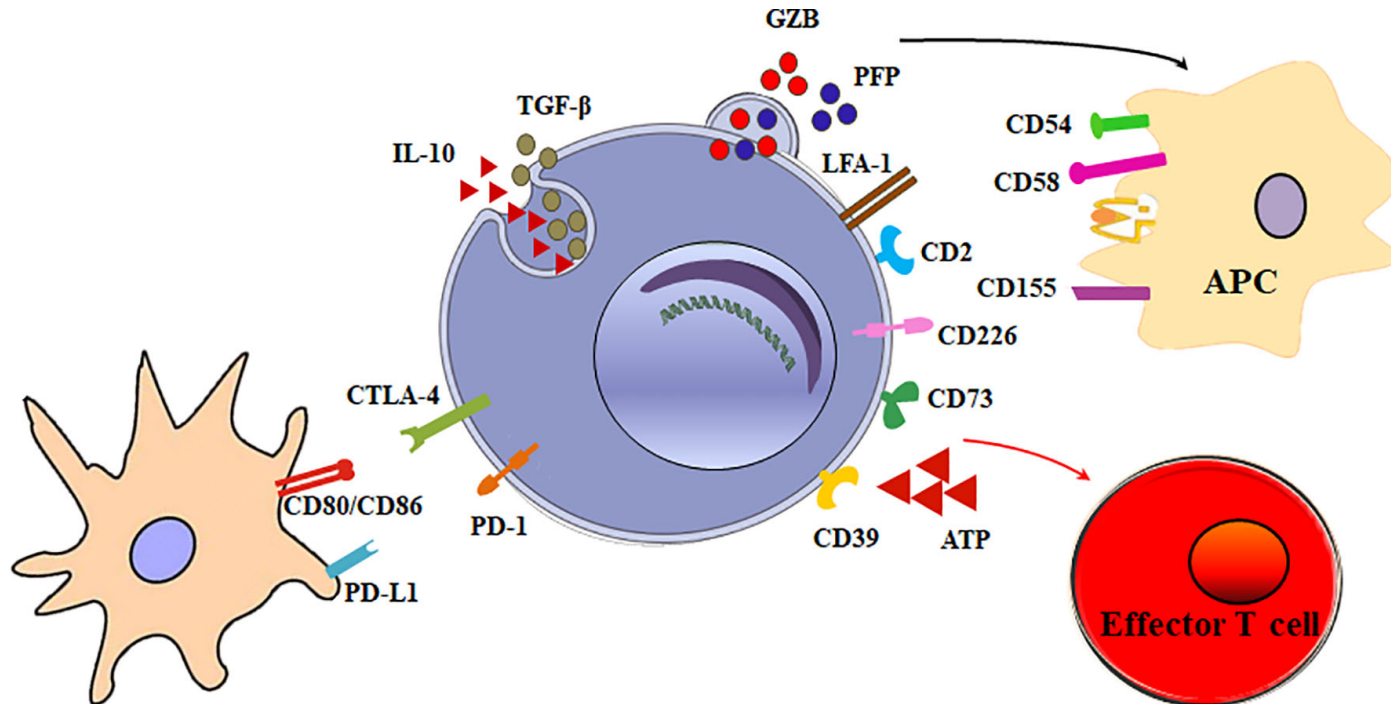


- Inhibitory cytokines  
IL10  
TGF- $\beta$   
IL-35
- Cytolysis  
Granzyme B/A  
CD25
- Metabolic disruption  
cAMP  
Adenosine  
CD39/CD73  
CTLA-4/LAG-3
- Targeting DCs  
PD1  
HR2



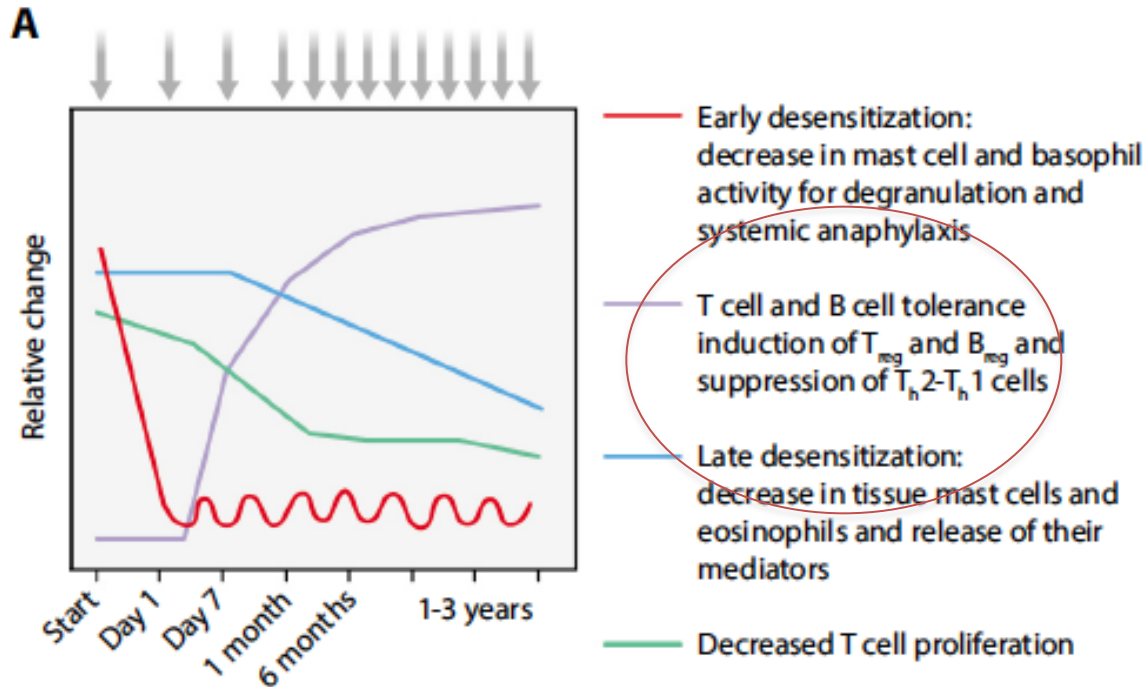
- Le T reg producono citochine inibitorie (IL-10, TGF- $\beta$ , IL-35)
- Le Treg producono elevati livelli di cAMP che viene trasferito alle cellule T e blocca la trascrizione di IL-2
- Le Treg modulano la maturazione e le funzioni delle APC mediante l'interazione CTLA-4 con le molecole B7
- Le Treg sono in grado di indurre apoptosi delle cellule bersaglio attraverso la secrezione di Granzyme B/A e perforine.

# Meccanismi di immunosoppressione delle Tr1



**FIGURE 2** | Multiple suppressive mechanisms of Tr1 cells in immune responses. The mechanisms of Tr1 cells to inhibit effector cells include: (1) Tr1 cells exert their suppressive function primarily *via* the secretion of IL-10 and TGF- $\beta$ . (2) Tr1 cells contact and suppress other effector cells through inhibitory receptors, including CTLA-4 and PD-1. (3) Tr1 cells selectively kill myeloid APCs *via* secretion of Granzyme B and perforin to inhibit effector T cells. (4) CD39 and CD73 on Tr1 cells produce adenosine which increase intracellular cAMP levels and disrupts effector T cell metabolism.

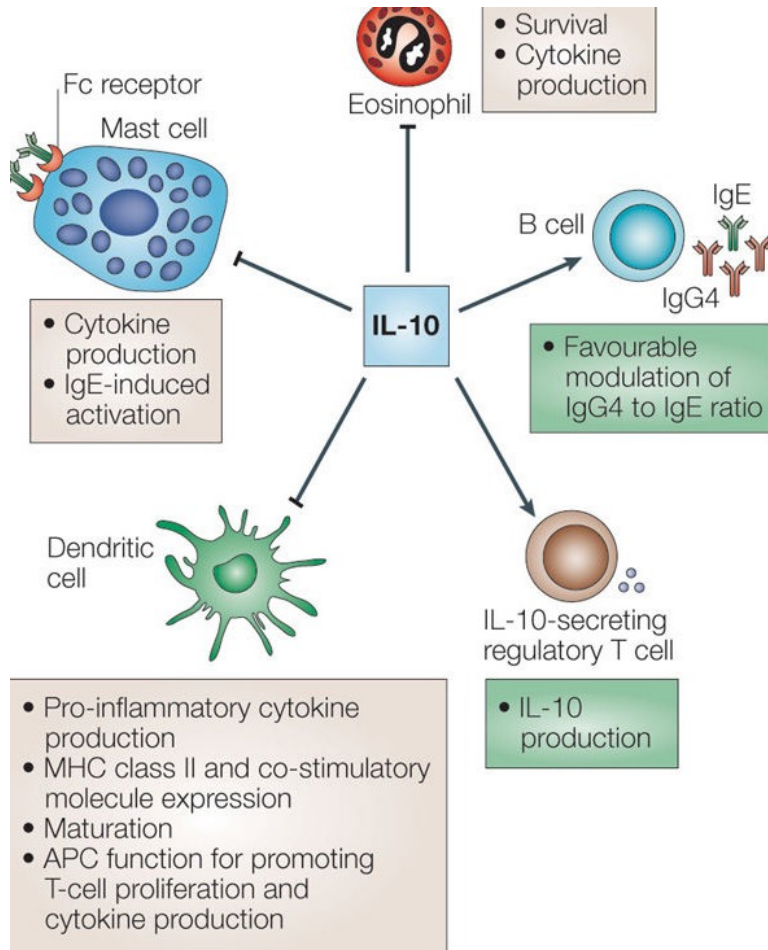
## Cellule regolatorie e tolleranza agli allergeni



I due subset di cellule T regolatorie inducibili indotte dall'AIT sono le FOXP3+ e le Tr1.

Durante l'AIT l'analisi dei tessuti e della risposta tardiva all'allergene nella cute di individui allergici ha dimostrato un aumento di cellule Treg e un decremento di linfociti Th2 e eosinofili. Inoltre la somministrazione sottocutanea o sublinguale dell'allergene si associa ad un incremento di citochine che mediano la tolleranza (IL-10 TGF- $\beta$ ) prodotte dalle Treg.

## Ruolo dell'IL-10 nell'AIT

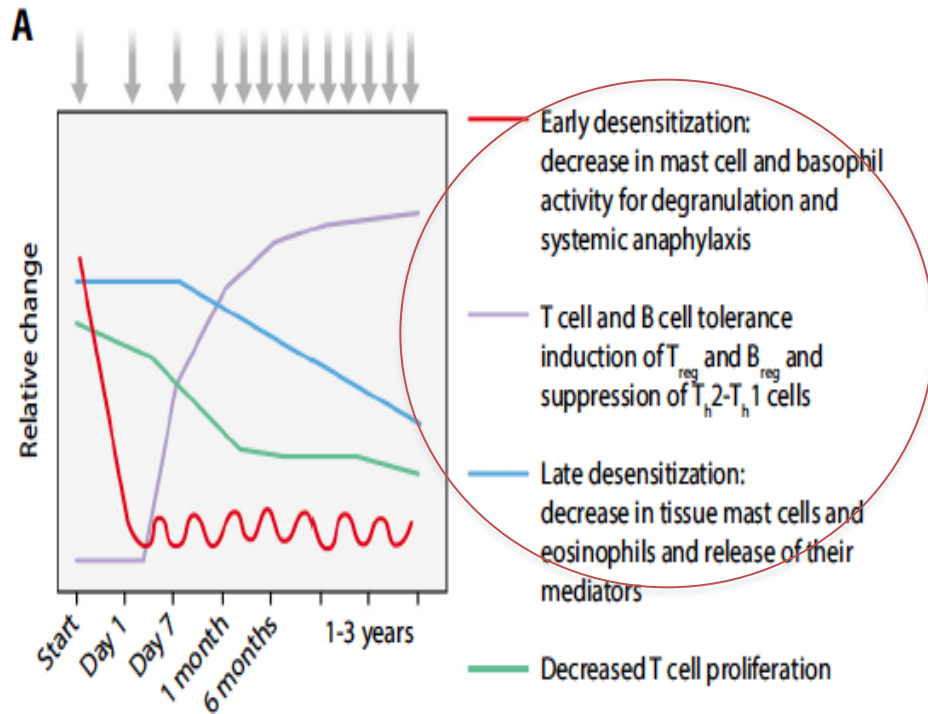


Nel corso dell'AIT le Treg producono IL-10 che downregola:

- l'espressione delle molecole MHC e costimolatorie sulle APC e inibisce la produzione di citochine proinfiammatorie.
- IL-10 riduce la produzione di Th2 e down regola l'attivazione degli eosinofili.
- L'IL-10 down regola l'espressione dell'FcεRI sui mastociti.
- L'IL-10 favorisce la produzione di IgG4.

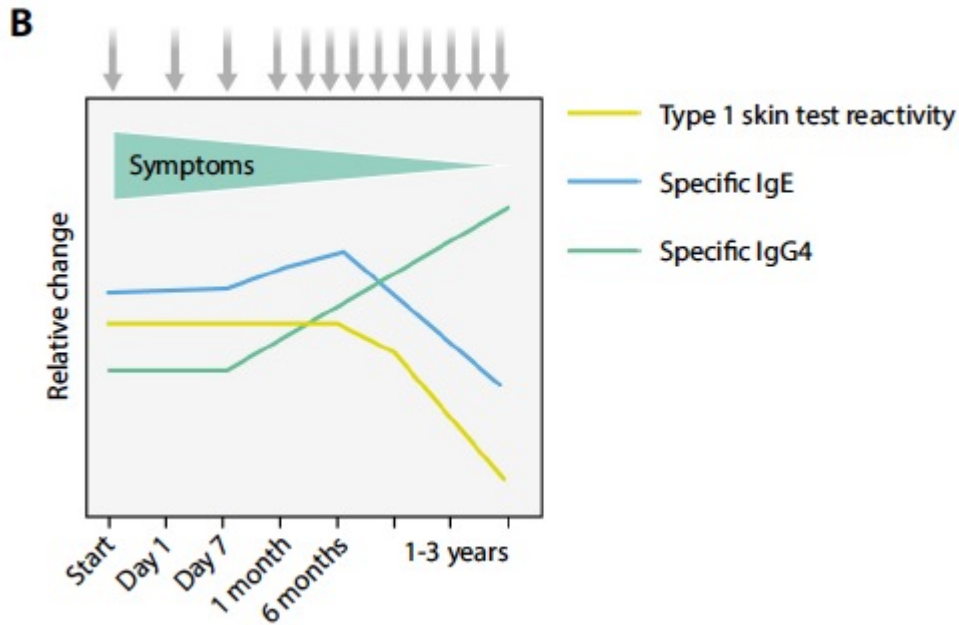


# Modificazioni della risposta anticorpale durante l'AIT



Oltre ad un aumento di Treg nell'AIT si osserva un aumento di una sottopopolazione di linfociti B che producono IL-10 (Breg). L'importanza delle cellule Breg nella tolleranza agli allergeni è stata dimostrata in studi sugli apicoltori. Le cellule B isolate dagli apicoltori che non sviluppano allergia alla fosfolipasi A2 (maggior allergene nel veleno delle api) producono elevati livelli di IL-10 e esprimono elevati livelli di mRNA delle IgG4. Nell'uomo è stato dimostrato che le cellule B esprimenti IgG4 derivano da le cellule B reg inducibili e produttori IL-10.

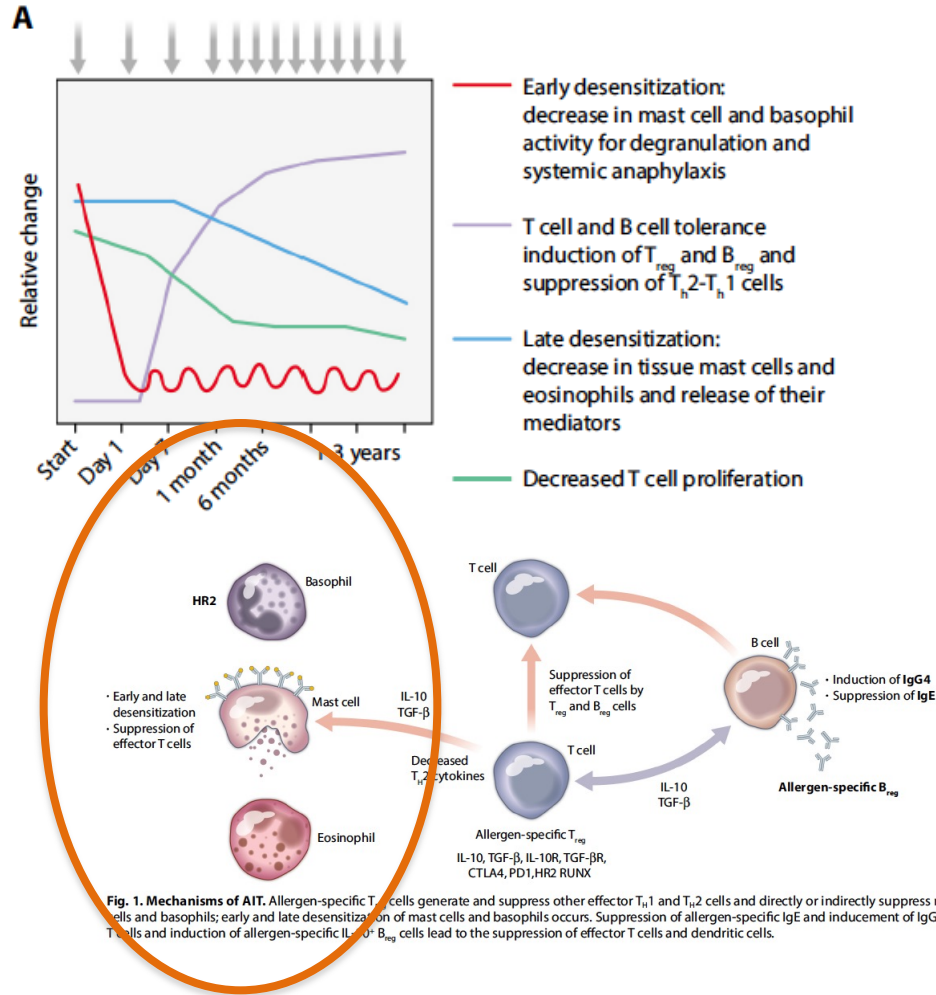
## Modulazione della risposta anticorpale durante l'AIT



Durante l'AIT si osserva un aumento transiente nei livelli di IgE specifiche per l'allergene nel siero. Successivamente a distanza di mesi o anni si osserva una graduale diminuzione delle IgE. Al contrario si sviluppano anticorpi di isotipo IgG4 sin dalle prime somministrazioni dell'allergene. Tali anticorpi possono essere specifici per lo stesso epitopo delle IgE e quindi agire da competitori. Gli anticorpi allergene specifici di isotipo IgG4 agiscono catturando l'allergene prima che esso raggiunga le IgE legate ai mastociti

Le IgG4 non sono in grado di attivare il complemento conferendo a questo isotipo un effetto anti-infiammatorio.

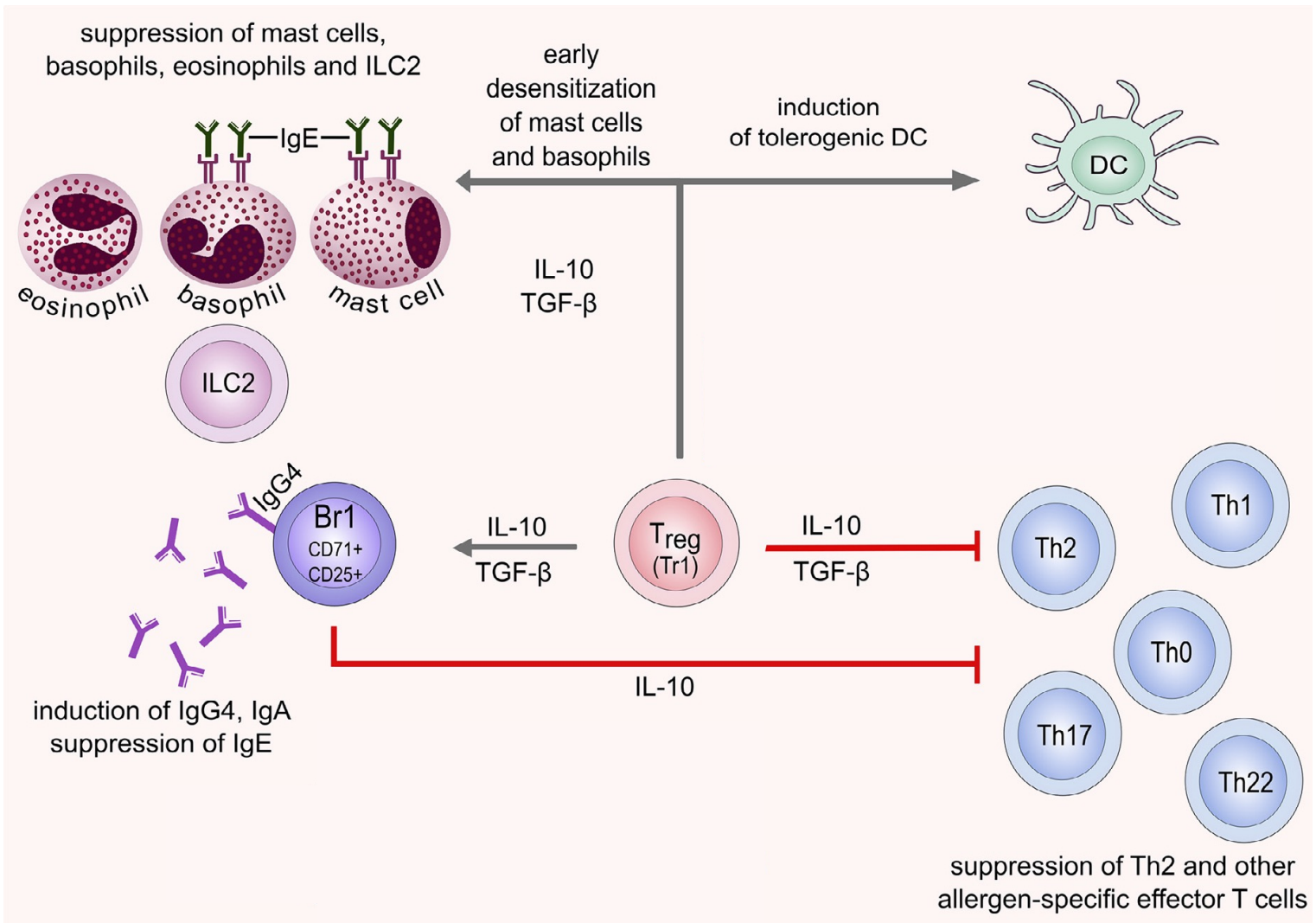
# Effetto dell'AIT sui mastociti basofili e eosinofili



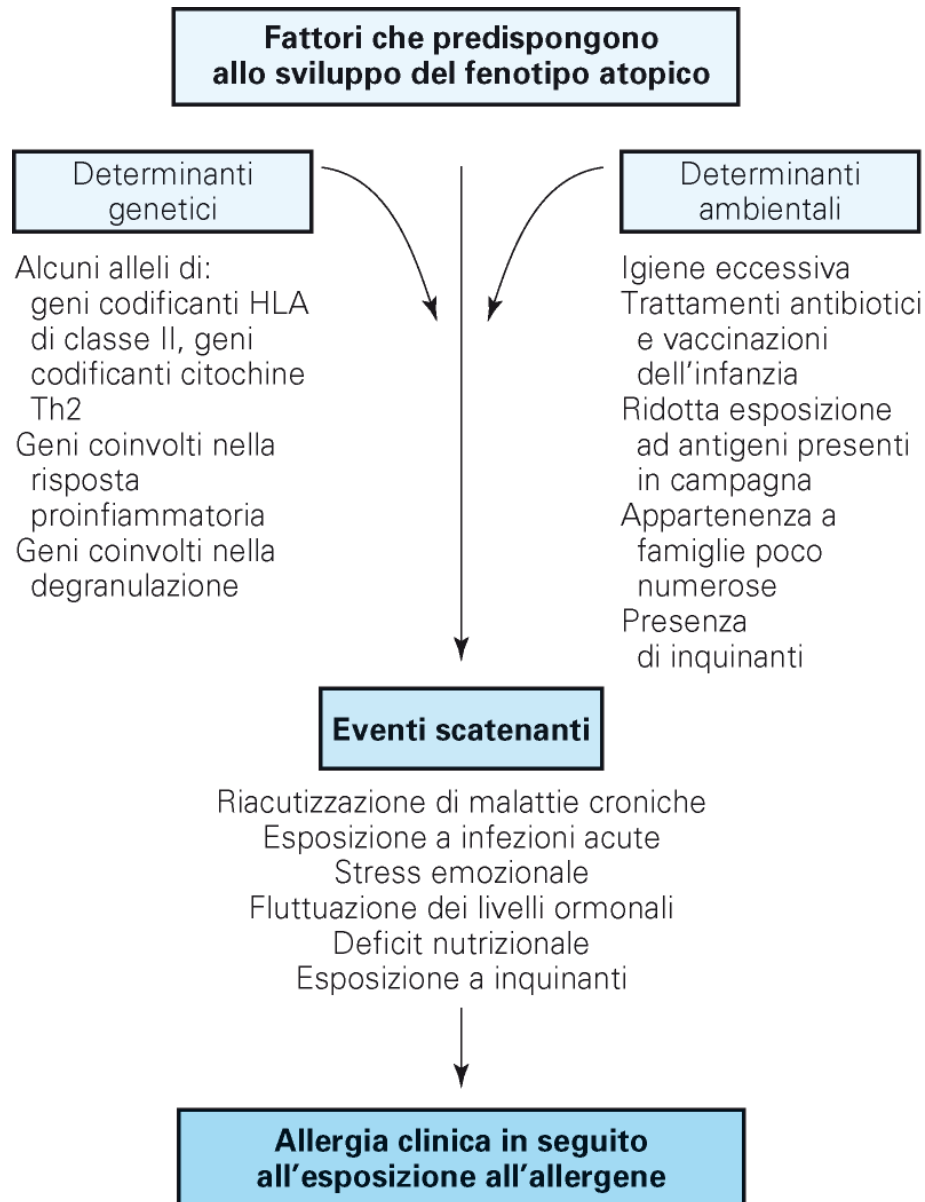
**Fig. 1. Mechanisms of AIT.** Allergen-specific  $T_{reg}$  cells generate and suppress other effector  $T_{H1}$  and  $T_{H2}$  cells and directly or indirectly suppress mast cells and basophils; early and late desensitization of mast cells and basophils occurs. Suppression of allergen-specific IgE and induction of IgG4 by  $T_{reg}$  cells and induction of allergen-specific IL-10<sup>hi</sup>  $B_{reg}$  cells lead to the suppression of effector T cells and dendritic cells.

La desensibilizzazione dei mastociti e dei basofili che è caratterizzata da una diminuzione della degranulazione ha luogo sin dal primo trattamento con AIT e persiste durante tutto il trattamento.

Nei basofili il blocco della attivazione indotta dall' $Fc\epsilon R$  è mediata dalla up-regolazione del recettore 2 dell'istamina HR2.



# Fattori che contribuiscono allo sviluppo delle allergie



Mentre i fattori ambientali contribuiscono allo sviluppo delle allergie, la tendenza di un individuo a sviluppare una allergia è legata alla suscettibilità genetica dell'individuo.

In una famiglia in cui entrambi i genitori soffrono di una allergia, i figli avranno una possibilità pari al 50% di sviluppare una allergia rispetto ad una probabilità del 19% di figli di famiglie prive di precedenti storie di allergia.

Alleli specifici di alcuni geni polimorfici sono stati associati allo sviluppo di atopia.

# Basi genetiche della predisposizione alle allergie

TABELLA 20.3 Esempi di geni associati ad atopìa e asma

Geni candidati o proteina codificata	Localizzazione cromosomica	Malattia associata	Ruolo putativo nella malattia
Cluster dei geni codificanti per citochine (IL-4, IL-5, IL-13), CD14, recettori $\beta_2$ -adrenergici	5q	Asma	IL-4 e IL-13 promuovono lo scambio delle IgE, mentre IL-5 promuove la crescita e l'attivazione degli eosinofili; CD14 è un componente del complesso recettoriale per l'LPS che, interagendo con il TLR4, può modulare l'equilibrio tra le risposte $T_H1$ e $T_H2$ ; i recettori $\beta_2$ -adrenergici regolano la contrazione della muscolatura liscia bronchiale
MHC di classe II	6p	Asma	Alcuni alleli possono regolare la capacità dei linfociti T di rispondere agli allergeni
Catena $\beta$ dell'Fc $\epsilon$ R1	11q	Asma	Coinvolta nell'attivazione dei mastociti
Fattore della cellula staminale, IFN- $\gamma$ , STAT6	12q	Asma	Il fattore della cellula staminale regola la crescita e la differenziazione dei mastociti; IFN- $\gamma$ contrasta le attività di IL-4; STAT6 trasduce il segnale di IL-4
Catena $\alpha$ del recettore di IL-4	16	Asma	Subunità comune ai recettori per IL-4 e IL-13
ADAM33	20p	Asma	Metalloproteinasi coinvolte nel rimodellamento delle vie aeree
DPP10	2q14	Asma	Peptidasi coinvolta nel controllo dell'attività di citochine e chemochine
PHF11	13q	Asma	Fattore trascrizionale dei geni dei linfociti $T_H1$
ORMDL3	17q	Asma	Risposta da stress del RE
IL-33, "IL-1 receptor-like 1" (recettore per IL-33)	2q	Asma	IL-33 induce la produzione di citochine di tipo 2 da parte di linfociti T, mastociti, eosinofili e ILC
Fosfodiesterasi 4D	5q	Asma	Degrada l'AMPc e regola la contrattilità delle cellule muscolari lisce dell'apparato respiratorio
Filaggrina	1q	Dermatite atopica	Componente dei cheratinociti differenziati importante per il funzionamento della barriera epiteliale

ADAM33, *Disintegrin and metalloprotease domain 33* (proteina); DPP10, *DiPeptidyl Peptidase like 10*, Fc $\epsilon$ R1, recettore Fc $\epsilon$  di tipo I; Ig, immunoglobulina; ILC (*Innate Lymphoid Cells*), cellule linfoidi innate; MHC, complesso maggiore di istocompatibilità; ORMDL3, *Orosomucoid like 3*; PHF11, *Plant Homeodomain Finger protein 11* (proteina); RE, reticolo endoplasmatico; TLR (*Toll-like Receptors*), recettori Toll-like.

Attraverso diversi approcci (clonazione posizionale, caratterizzazione di geni candidati) è stato possibile identificare numerose varianti geniche che determinano una aumentata suscettibilità all'asma o ad altre malattie atopiche.

In questo modo è stato identificato un locus di suscettibilità all'atopia sul cromosoma 5 in prossimità del gruppo di geni che codifica per l'IL-4, l'IL-5, l'IL-13. Queste citochine sono importanti nella regolazione della produzione delle IgE e nella crescita e differenziamento degli eosinofili.

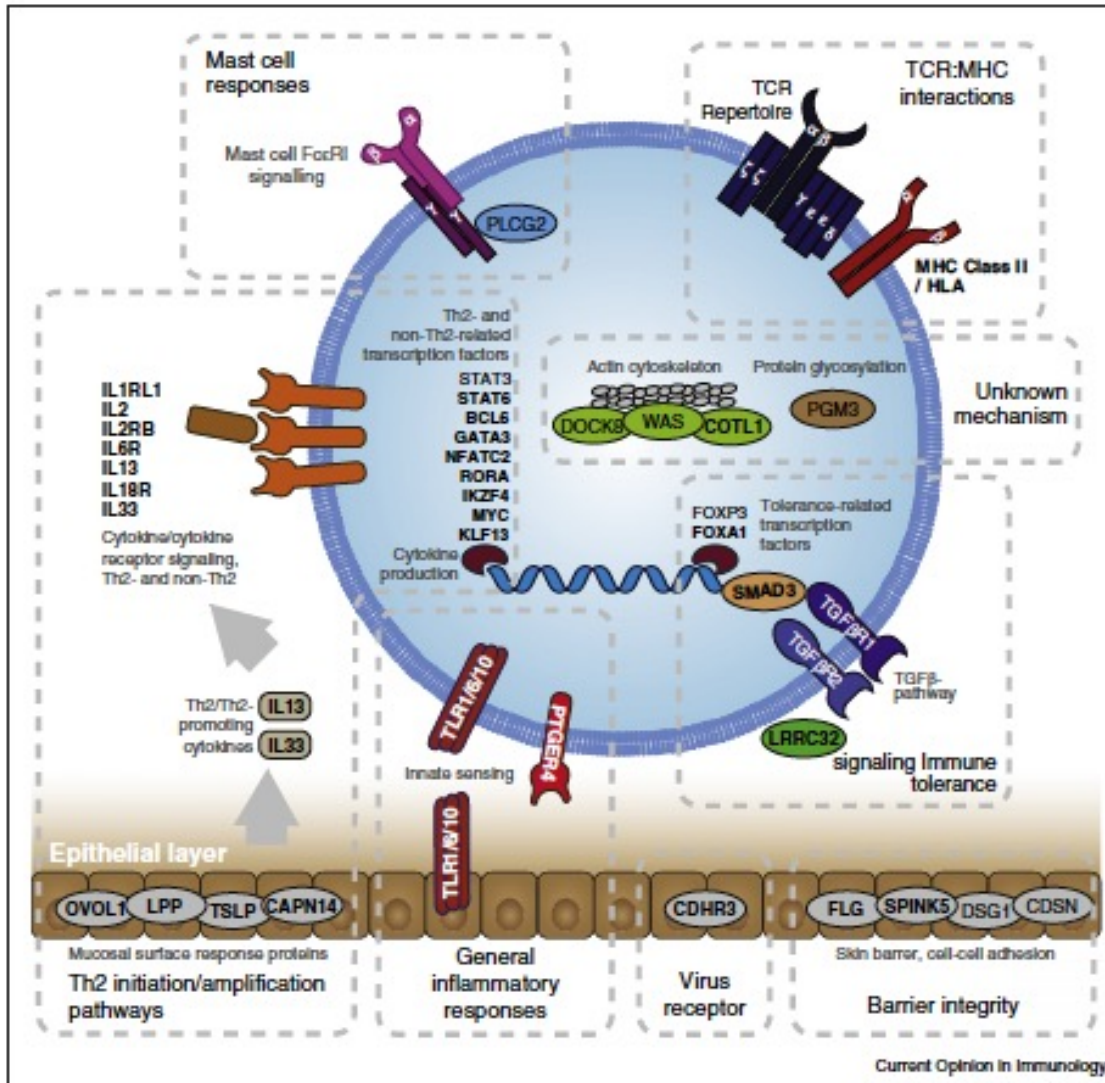
# Genome wide association studies (GWAS) on allergy and allergic sensitization

L'introduzione di tecniche che permettono di determinare centinaia di migliaia di varianti genetiche, tipicamente single nucleotide polymorphism (SNP) ha accelerato l'identificazione di loci di suscettibilità alle malattie allergiche.

Genetic loci associated with allergy and/or allergic sensitization in recent GWAS						
Locus	Nearby genes*	Allergic sensitization(1) <sup>5</sup>	Allergic symptoms(2) <sup>5</sup>	Potential function	Other traits associated with locus <sup>5</sup>	
					Asthma	Eczema Total IgE Autoimmune
2q12.1	<i>IL1RL1/IL18R1</i>	GWS	GWS	Interleukin receptors, IL33-signaling, Th2-response (IL1RL1); pleiotropic immune responses (IL18R1)	●	●
2q33.1	<i>PLCL1</i>	NS	GWS	Phospholipase, intracellular signaling		●
3q28	<i>LPP/BCL6</i>	GWS	GWS	Transcription factor, Th2-differentiation (BCL6); cell-cell adhesion (LPP)		●
4p14	<i>TLR1/6/10</i>	GWS	GWS	Pattern recognition receptor, innate immunity	●	
4q27	<i>IL2/ADAD1</i>	GWS	GWS	Interleukin, T-cell differentiation, Treg maturation		●
5p13.1	<i>PTGER4</i>	*	GWS	Prostaglandin receptor, T-cell signaling, skin immunity		●
5q22.1	<i>SLC25A46/TSLP</i>	GWS	GWS	Cytokine, Th2 immune responses	●	
6p21.32	<i>HLA-DQB1</i>	GWS	GWS	Antigen presenting protein, self tolerance	●	●
6p21.33	<i>HLA-B/MICA</i>	GWS	GWS	Antigen presenting protein, self tolerance		●
8q24.21	<i>MYC/PVT1</i>	GWS	**	Transcription factor, B-cell proliferation and differentiation		●
9p24.1	<i>RANBP6/IL33</i>	NS	GWS	Interleukin, Th2-signaling, Th2 cytokine production	●	
10p14	<i>GATA3</i>	*	GWS	Transcription factor, Th2-differentiation.		
11q13.5	<i>C11orf30/LRRC32</i>	GWS	GWS	Treg expressed, TGFβ signaling	●	●
12q13.3	<i>STAT6</i>	GWS	**	Transcription factor, Th2-differentiation, IL4-response		●
14q21.1	<i>FOXA1/TTC6</i>	NS	GWS	Transcription factor, Treg differentiation		
15q22.33	<i>SMAD3</i>	NS	GWS	Transcriptional factor, TGFβ signaling	●	●
17q12	<i>GSDMB/GSDMA/ORMDL3</i>	NS	GWS	ER Ca <sup>2+</sup> homeostasis and unfolded protein response, sphingolipid metabolism, eosinophil trafficking (ORMDL3); Modulator of mitochondrial oxidative stress (GSDMA)	●	●
20q13.2	<i>NFATC2</i>	NS	GWS	Transcription factor, activated T-cell gene transcription		

Studi GWAS che hanno investigato la sensibilizzazione all'allergene (elevati livelli di IgE specifiche per l'allergene e o prick test positivo) hanno permesso di identificare almeno 18 loci di suscettibilità.

# Potenziali pathway patogenici nelle malattie allergiche



I geni le cui variazioni sono state associate all'asma o all'atopia possono essere distinti in gruppi:

A) geni codificanti molecole associate **all'induzione** delle risposte allergiche attraverso l'attivazione dei linfociti Th2 (MHC).

B) geni per molecole che **regolano il differenziamento e le funzioni effettrici dei linfociti Th2** (GATA-3, STAT6).

C) geni che codificano per chemochine e fattori che **mantengono l'integrità degli epiteli**.



## Genetica delle malattie allergiche e della marcchia atopica

Studi genetici hanno dimostrato l'importanza dei difetti della barriera epiteliale nello sviluppo della dermatite atopica e di altre malattie allergiche.

In particolare **mutazioni in geni che codificano per importanti componenti della barriera epiteliale** (filaggrin, serin peptidasi inhibitor Kazal-type (SPINK5) e corneodesmosin) **sono state associate allo sviluppo di dermatite atopica.**

**Mutazioni della filaggrina causano l'ittiosi volgare** che è un disordine della cheratinizzazione della pelle; mutazioni di SPINK5 e CDSN causano sindromi da esfoliazione della pelle.

# Dermatite atopica

La dermatite atopica (AD) è caratterizzata da lesioni croniche della pelle, eczematose, secche e pruriginose. La dermatite atopica fa parte della triade atopica che include l'asma e la rinite allergica.

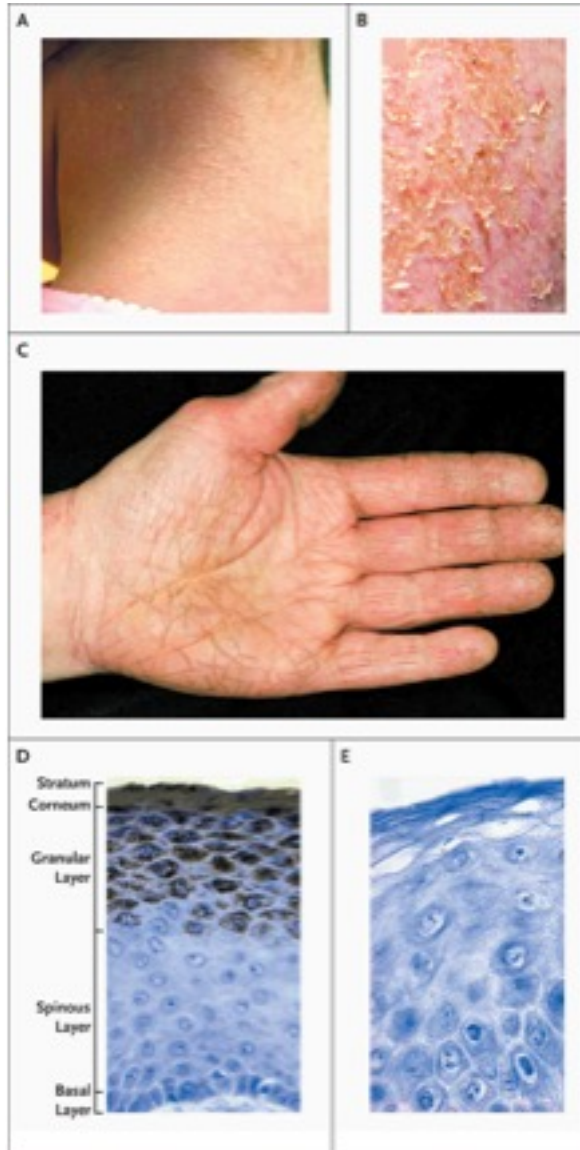
Istologicamente la AD consiste in una iperplasia (aumento del volume di tessuto o di un organo per aumento del numero delle cellule) dell'epidermide, con un infiltrato di linfociti Th2 e cellule dendritiche nel derma superficiale.

L'AD è diagnosticata in base alla morfologia tipica, alla distribuzione delle lesioni della pelle e alla presenza di elevate concentrazioni di IgE nel siero.

Le lesioni nella dermatite atopica sono caratterizzate da elevati livelli di IL-4, IL-5 e IL-13 ed i cheratinociti di queste lesioni esprimono elevati livelli di TSLP, IL33 e IL-25.



# Caratteristiche cliniche dell'ittiosi volgare

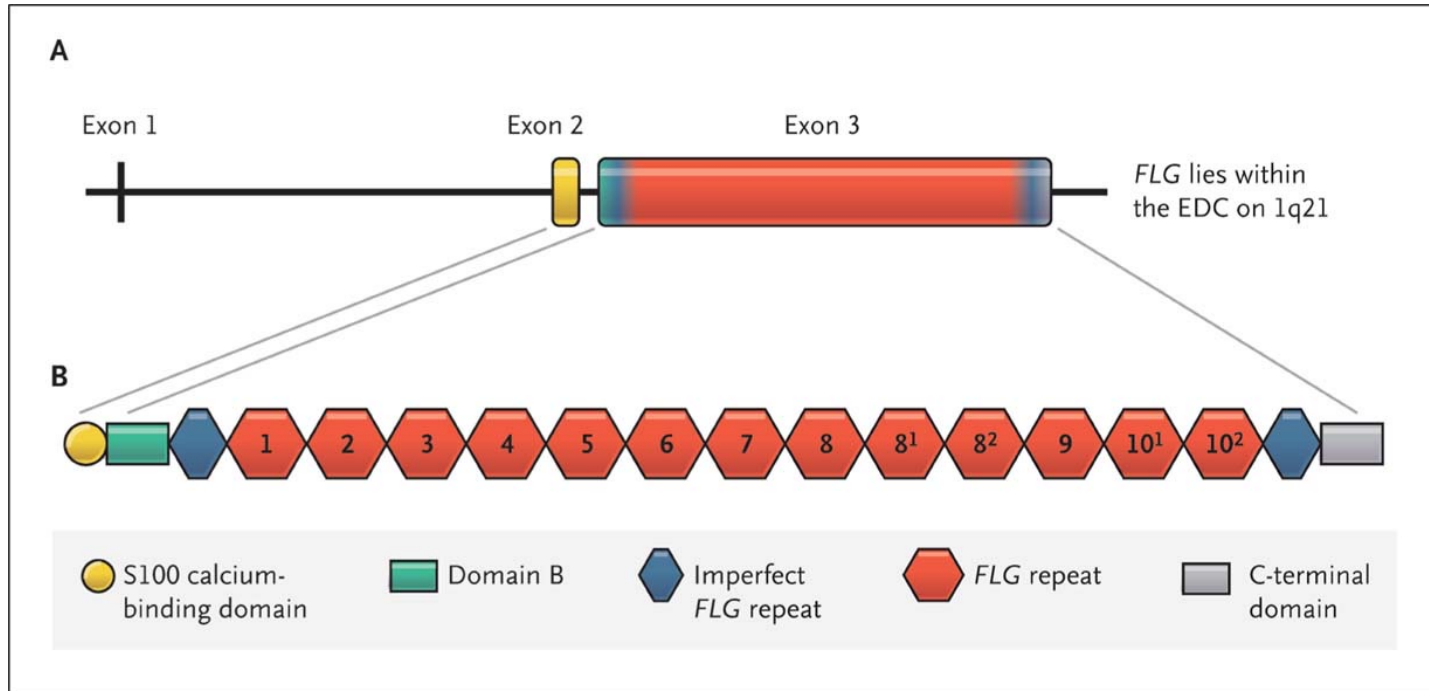


Loss of function mutations in FLG causano l'ittiosi volgare, un disturbo della pelle caratterizzato dalla presenza di squame secche sulla pelle.

Questa patologia è il più frequente disordine della cheratinizzazione con una prevalenza di 1 caso su 250 persone ed è caratterizzata dalla comparsa alla nascita di pelle secca e desquamazione.

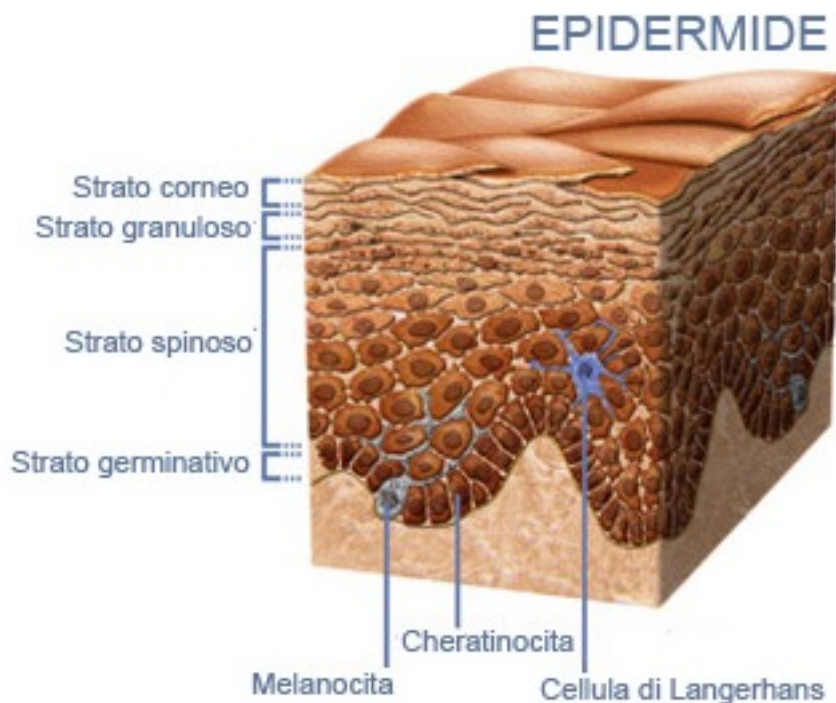
I pazienti affetti da questa malattia non presentano filaggrina nei granuli cheratoialini dei cheratinociti dello strato granuloso dell'epidermide. Le mutazioni del gene della filaggrina sono associate ad un ampio spettro di malattie allergiche.

# Organizzazione del gene e proteina filaggrin



La profilaggrina è una proteina con PM > 400 kDa costituita da una porzione NH<sub>2</sub> terminale in grado di legare il Ca<sup>2+</sup> seguita da 10, 11 o 12 filaggrin repeat che sono in grado di legare la cheratina. La profilaggrina è funzionalmente inattiva e viene tagliata in monomeri di filaggrina durante il differenziamento dei cheratinociti. Il gene codificante la filaggrina è localizzato in un gruppo di circa 60 geni coinvolti nel differenziamento dei cheratinociti e comprende 3 esoni. Il primo esone non è codificante, il secondo codifica una parte del dominio S100 mentre il terzo codifica quasi l'intera proteina.

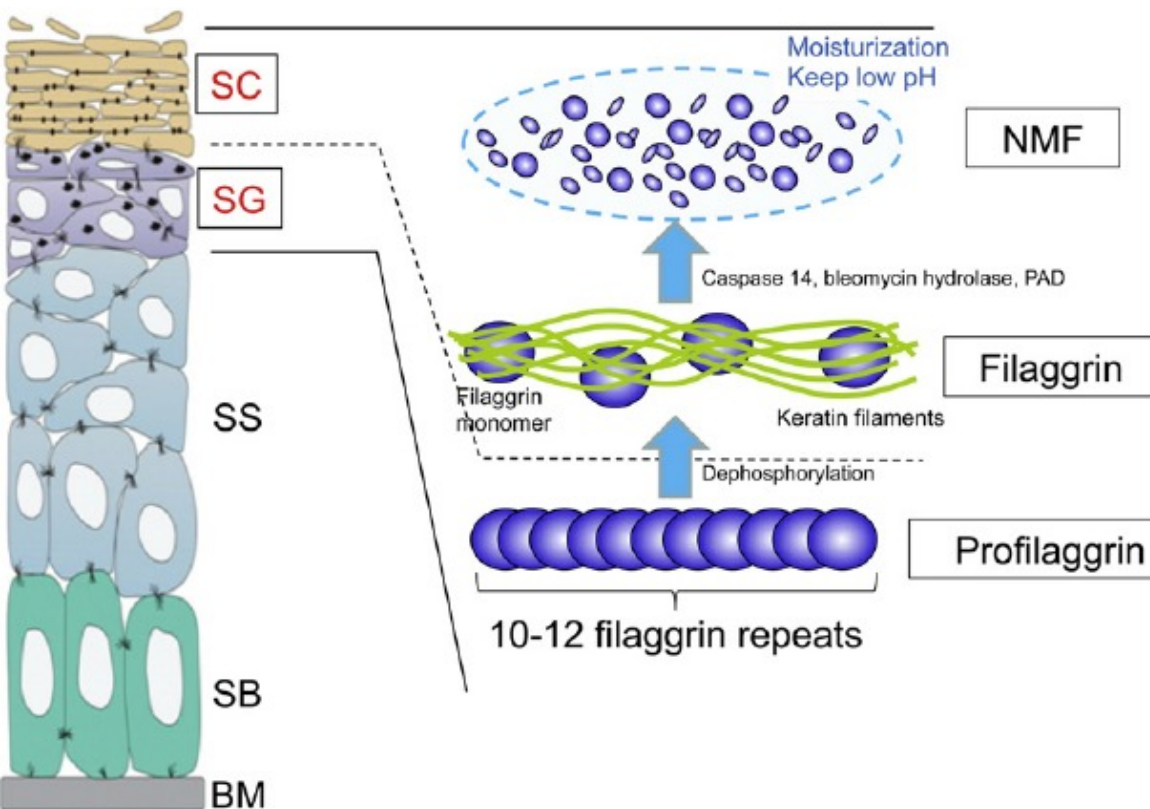
# Struttura dell'epidermide e ruolo della filaggrina



Lo strato corneo rappresenta la prima linea di difesa dell'organismo dall'ambiente esterno. Lo strato corneo rappresenta l'ultimo stadio del processo di differenziamento dei cheratinociti che dallo strato germinativo progrediscono e formano lo strato spinoso e granuloso fino a formare multistrati di corneociti ricchi in lipidi intracellulari.

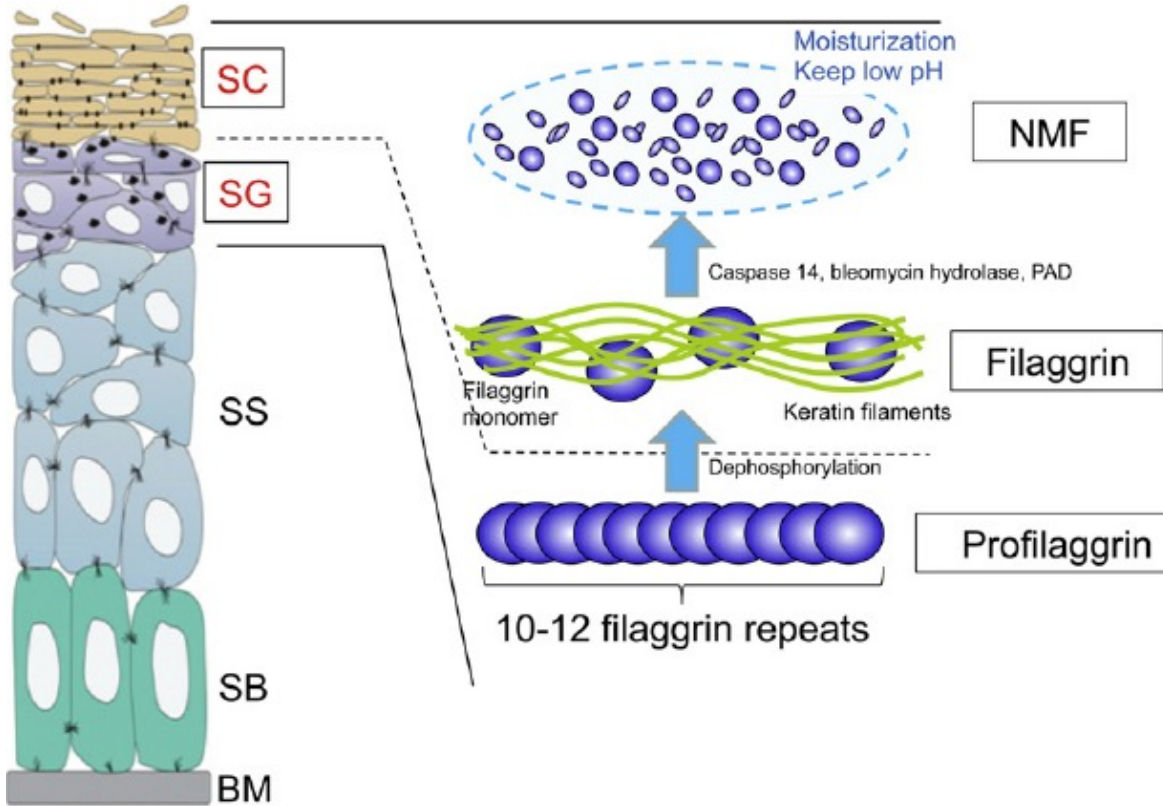
La matrice dello strato corneo è costituita da proteine e lipidi organizzati in doppi-strati lamellari.

## Funzioni della filaggrina



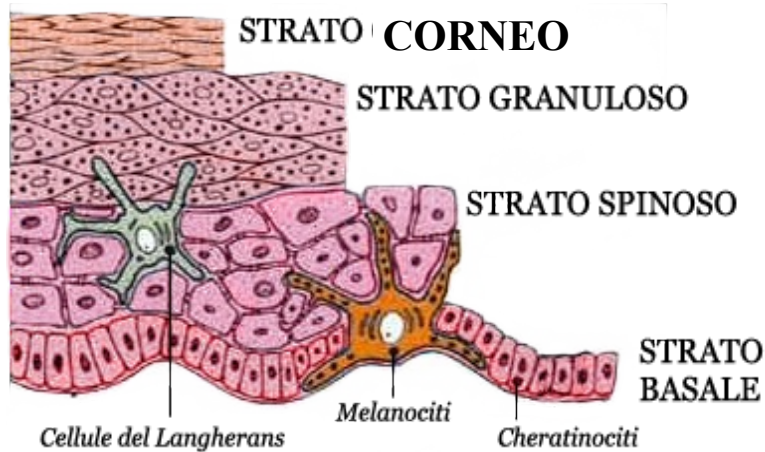
La profilaggrina rappresenta la maggior componente dei granuli cheratoialini delle cellule dello strato granuloso dell'epidermide. Le cellule dello strato granuloso danno origine allo strato corneo che è costituito da cheratinociti anucleati, appiattiti e strettamente impilati (squame). Nella zona di transizione fra strato granuloso e corneo la profilaggrina viene trasformata, ad opera di proteasi, in monomeri di filaggrina che legano la cheratina organizzandola in fasci contribuendo alla integrità dello strato corneo e favorendo il collasso e l'appiattimento delle cellule squamose.

SB: strato basale; SS: strato spinoso; SG: strato granuloso; SC: strato corneo



Nello strato più esterno la filaggrina viene degradata in aminoacidi. Tali aminoacidi fanno parte dei fattori idratanti naturali/natural moisturizing factors (NMF). Tali fattori contribuiscono al mantenimento del pH acido della pelle e al suo effetto antimicrobico.

# Ruolo della profilaggrina e la filaggrina nel mantenimento della struttura e della funzione di barriera della pelle



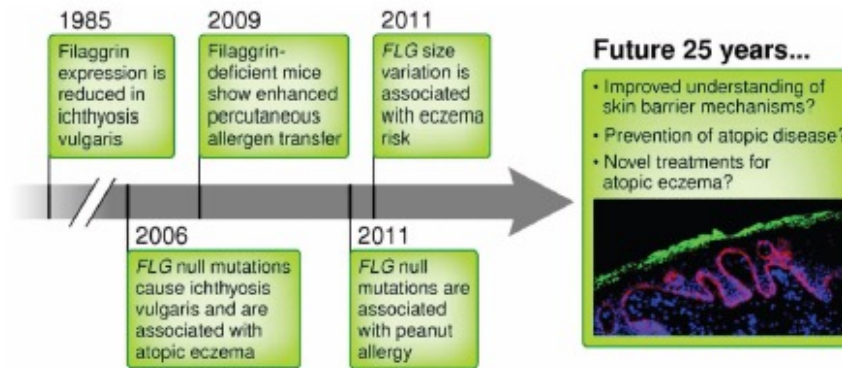
La profilaggrina, la filaggrina e gli aminoacidi che ne derivano contribuiscono alla struttura dell'epidermide e alla sue funzioni di barriera e difensive.

**Table 1** Effects of Filaggrin Deficit on the Epidermal Barrier.

	Biochemical and Structural Repercussions	Consequences
Skin surface	Increased pH Increased activity of certain proteases	Increased adhesion and proliferation of staphylococci Release of epithelial proinflammatory mediators
Corneal layer	Decreased concentration of natural moisturizing factor Decreased density of corneodesmosomes and of tight intercellular junctions Abnormal architecture of the extracellular lipid matrix	Xerosis Altered barrier function Increased exposure to allergens
Stratum granulosum-stratum corneum transition region	Altered maturation and excretion of the lamellar bodies Altered aggregation of keratin intermediate filaments	Altered barrier function Increased exposure to allergens
Stratum granulosum	Decreased number of keratohyalin granules	-



# Mutazioni nella filaggrina aumentano il rischio di sviluppare dermatite atopica



**Figure 1.** Historical perspective on filaggrin research  
Insert shows immunohistochemical staining of human epidermis, with filaggrin in green, basal-specific keratin 5 in red and nuclei stained blue.

- Nel 2006 identificazione di mutazioni loss of function nel gene FLG (filaggrina) in individui affetti da ittiosi volgare (IV).

- Molte delle famiglie irlandesi affette da IV mostravano una alta incidenza di malattie allergiche come dermatite atopica, febbre da fieno, asma.

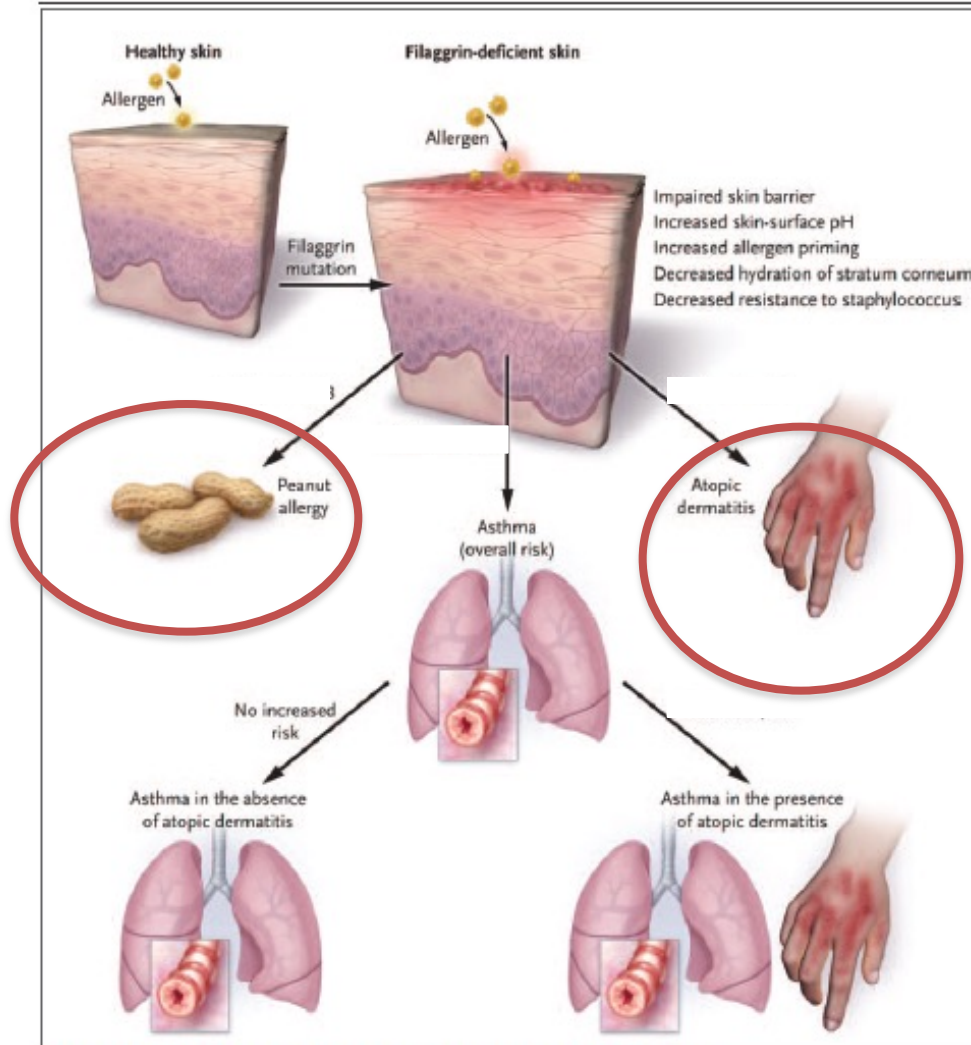
- Dimostrazione che la presenza di mutazioni loss of function della FLG conferiscono un alto rischio di sviluppare AD. Questa associazione è stata poi confermata in altri 30 studi.

- Nel modello murino "flaky tail" deficiente nella filaggrina è stato dimostrato che la deficienza in filaggrina permette il passaggio dell'allergene attraverso l'epidermide inducendo una risposta immune Th2. Questi studi hanno confermato l'ipotesi che l'alterazione della barriera epiteliale induce risposte Th2 verso l'allergene.

## **Mutazioni della filaggrina sono associate allo sviluppo di dermatite atopica**

- mutazioni nel gene della filaggrina umano rappresentano il maggiore fattore di rischio nello sviluppo di dermatite atopica.
- La dermatite atopica colpisce circa l'11% dei bambini negli Stati Uniti e circa il 25% nel Regno Unito.
- La dermatite atopica è caratterizzata da alterazioni della barriera epidermica, infiammazione cutanea, presenza di una risposta immune di tipo 2 sistemica frequente colonizzazione da parte di *Staphylococcus aureus*.
- La dermatite atopica è la più frequente malattia infiammatoria cronica della prima infanzia e rappresenta spesso lo stadio iniziale di quella che viene definita "atopic march" che si manifesta con il successivo sviluppo di allergie, allergie ad alimenti, riniti allergiche e asma allergico.

## Malattie associate a mutazioni della filaggrina

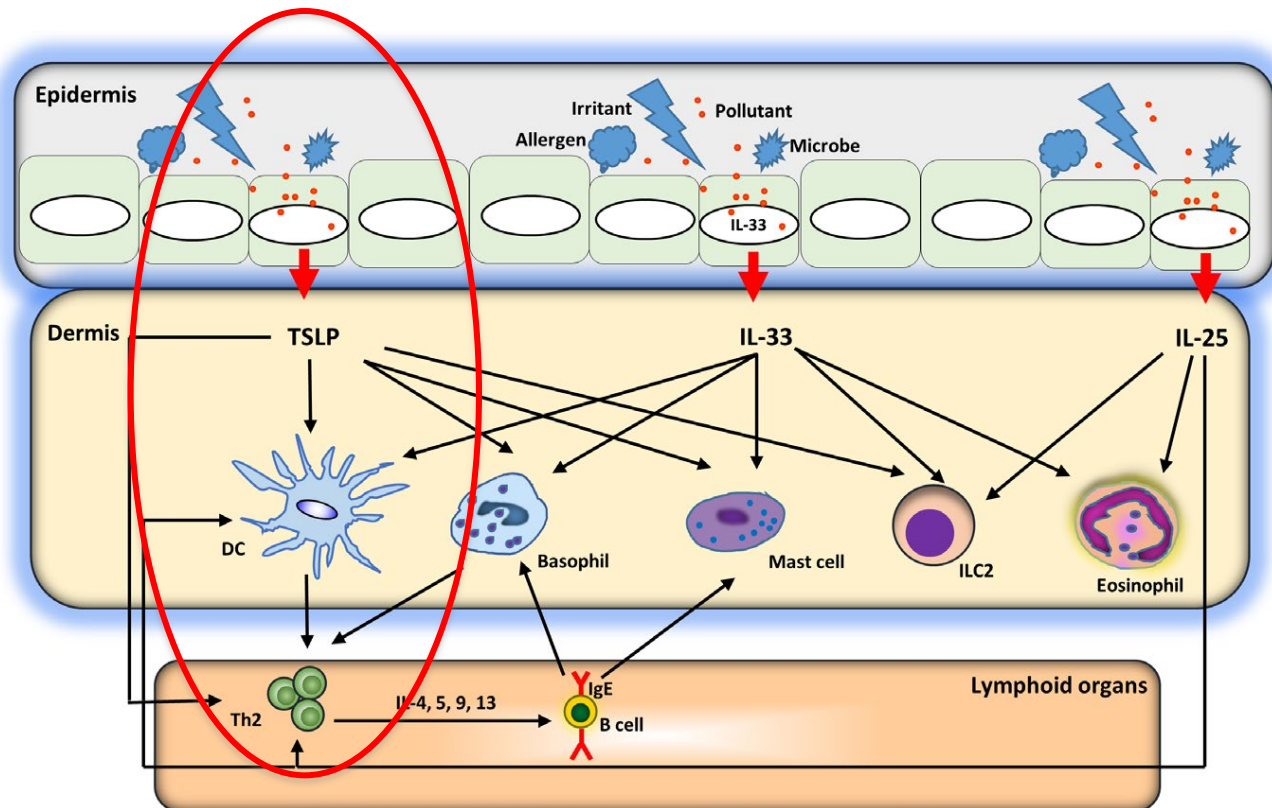


Le mutazioni “loss of function” della filaggrina oltre alla dermatite atopica conferiscono il rischio di sviluppare nel tempo anche altre malattie allergiche. Alcuni studi hanno riportato una forte associazione con lo sviluppo di allergie alimentari, di rinite allergica e con l’asma allergico.

**Figure 4. Filaggrin Haploinsufficiency and Increased Risk of Several Complex Traits.**

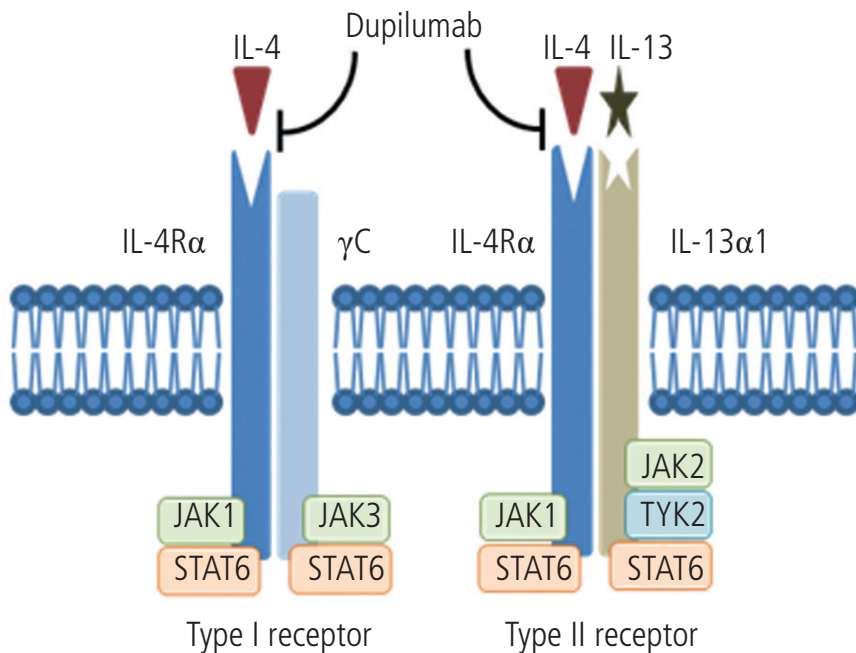
Filaggrin haploinsufficiency is defined as a 50% reduction in the expression of the filaggrin protein. The odds ratios are for the risk of peanut allergy, asthma, or atopic dermatitis as compared with the risk in the absence of filaggrin mutation. The odds ratios listed for atopic dermatitis and asthma are from meta-analyses involving several thousand patients. *FLG* mutations confer an overall risk of asthma of 1.5, but this risk is restricted to patients with atopic dermatitis. The odds ratio for the complex phenotype of asthma plus atopic dermatitis is 3.3. The odds ratio for peanut allergy is based on the only available data, from a single study.

# Azione delle citochine prodotte dalle cellule epiteliali sull'induzione delle risposte Th2



**FIGURE 1** A model of barrier disruption and skin sensitization. Allergens, infections, and tissue damage can all stimulate release of TSLP, IL-33, and IL-25 from the epithelium. These epithelial cell-derived cytokines license DCs to drive type 2 responses but also act on a variety of cell types, including basophils, eosinophils, mast cells, and ILCs to initiate and maintain allergic inflammation

# L'inibizione del recettore dell'IL-4 e dell'IL-13 blocca la dermatite atopica



L'importanza dell'IL-4 e l'IL-13 nello sviluppo della dermatite atopica è stato dimostrato dalla risoluzione dell'infiammazione nei pazienti con AD grave o moderata dopo trattamento con dupilumab. Il dupilumab è un anticorpo che si lega alla catena alfa dei recettori per l'IL-4 e l'IL-13. Oltre a causare infiammazione l'espressione cronica di IL-4 e IL-13 predispongono alle infezioni da parte di *Staphylococcus aureus* in questi pazienti. L'IL-4 e l'IL-13 favoriscono la colonizzazione batterica in inibendo la produzione di peptidi antimicrobici e l'immunità protettiva Th17.

## Fattori ambientali nello sviluppo delle malattie atopiche

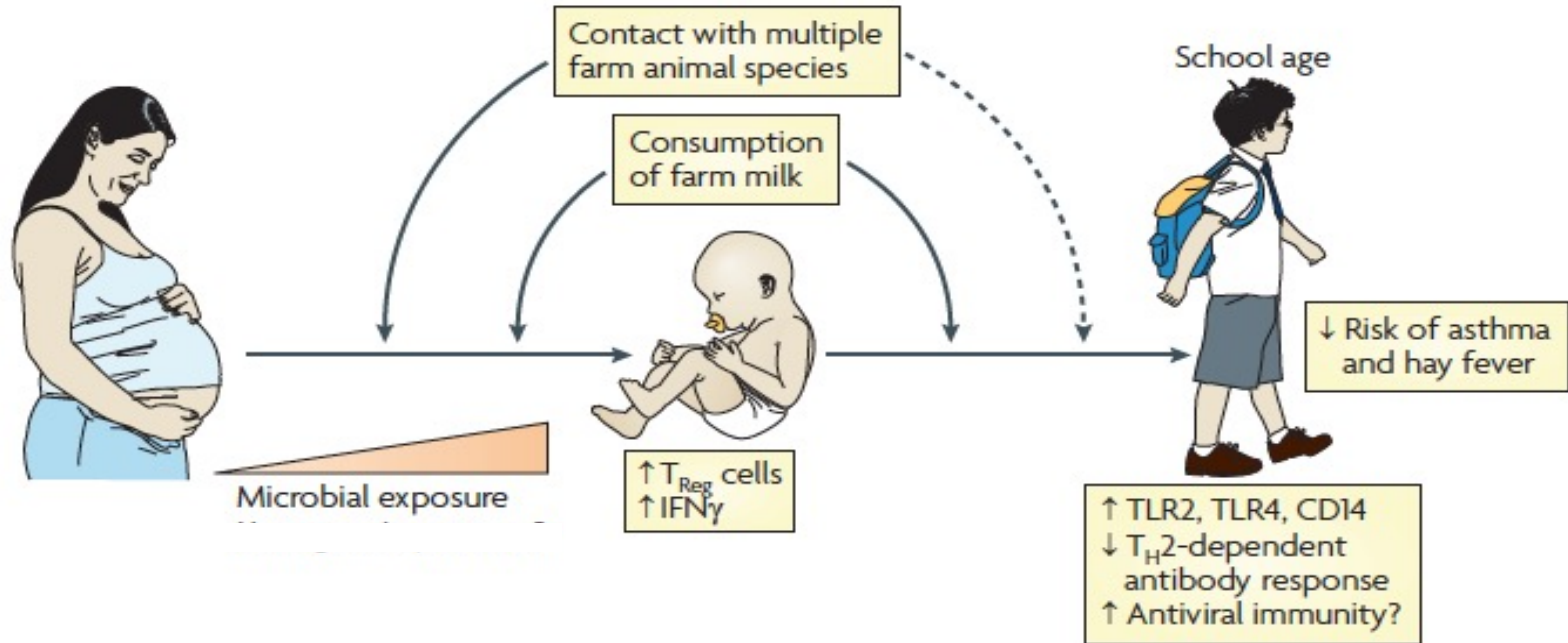
- A partire dal '900 l'incidenza delle malattie atopiche è notevolmente aumentata nei paesi maggiormente industrializzati.
- Per spiegare tale aumento è stata proposta "l'ipotesi dell'igiene". Tale teoria suggerisce che l'esposizione precoce ad agenti infettivi o microbici svolga un ruolo protettivo nei confronti dello sviluppo delle malattie allergiche.
- Nel 1989 uno studio aveva dimostrato una relazione inversa fra il numero di fratelli e il tasso di malattie allergiche in un individuo. Proponendo che un ridotto numero di fratelli e alti standard igienici determinassero una riduzione di cross-infezioni con conseguente aumento dello sviluppo di malattie allergiche.
- I dati a maggior sostegno della Teoria dell'Igiene derivano da studi sui bambini cresciuti nelle fattorie che dimostrano come crescere in tali ambienti, dove è aumentata l'esposizione ai microrganismi, protegge dallo sviluppo di asma.

Table 1 | Studies primarily investigating the effect of childhood farm exposures

Country	Age	Asthma	Wheeze	Hay fever diagnosis	Hay fever symptoms	Atopic dermatitis	Atopic sensitization	AHR	Refs
<i>Europe</i>									
Switzerland	6–15	↓	↓	↓	↓	↓	↓	–	5
Finland	18–24	↓	–	↓	–	–	–	–	59
Austria, Germany, the Netherlands, Sweden and Switzerland	5–13	↓	↓	↓	↓	↓	↓	–	60
Southern Germany	5–7	↓	↓	↓	↓	↓	–	–	8
Sweden	7–8	↓	–	–	↓	↓	–	–	61
Austria	8–11	–	–	–	–	–	↓	–	62
Austria	8–10	↓	↓	↓	↓	↔	↓	–	6
Denmark	17–26	↓	↓	↓	–	–	↓	↓	63
The Netherlands	20–70	↓	–	↓	–	–	–	–	64
Germany	18–44	↓	↓	↓	–	–	↓	↓	65
Finland	20–44	–	–	–	–	–	↓	–	66
UK	4–11	↓	–	↓	–	↓	↓	–	14
Northern Germany	18–44	↓	–	↓	–	↓	–	–	67
Eastern Finland	6–13	–	–	–	–	–	↓	–	68
Sweden	17–20	↓	–	↓	–	↓	–	–	69
Austria, Germany and Switzerland	6–13	↓	–	–	↓	–	↓	–	3
Tyrol, Austria	6–10	↓	–	–	–	–	–	–	70
Gothenburg, Sweden	16–20	↓	↑	–	–	–	–	–	71
West Gothia, Sweden	16–75	–	–	–	↓	–	–	–	72
Turku, Finland	18–25	↓	–	–	–	–	–	↓	73
Belgium, France, the Netherlands, Sweden and New Zealand	20–44	↓	↓	–	↓	–	↓	–	74
<i>Australasia</i>									
Australia	7–12	↓ or ↓	↓ or ↓	↓	–	↓	–	–	75
New Zealand	7–10	↓	↓	↓	–	↓	↓	–	15
New Zealand	5–17	↓	↓	↓	–	↓	–	–	9
New Zealand	25–49	↓	↓	–	↓	↓	–	–	24
<i>North America</i>									
Canada	0–11	↓	–	–	–	–	–	–	76
British Columbia, Canada	8–20	↓	↓	↓	–	↓	–	–	77
USA	20–88	↓	–	–	–	–	–	–	78
Quebec, Canada	12–19	↓	↓	–	–	–	↓	↓	79
Wisconsin, USA	4–17	↓	↓	↓	–	–	–	–	80
Iowa, USA	0–17	↓	↓	–	–	–	↓	↓	81
Iowa, USA	6–14	↓	↓	–	–	–	–	–	82

See Supplementary information S1 (table) for an extended version of this table. ↓, reduction in risk not reaching statistical significance; ↓↓, reduction in risk reaching statistical significance; ↑, increase in risk not reaching statistical significance; ↔, no farm effect; –, not determined; AHR, airway hyperresponsiveness.

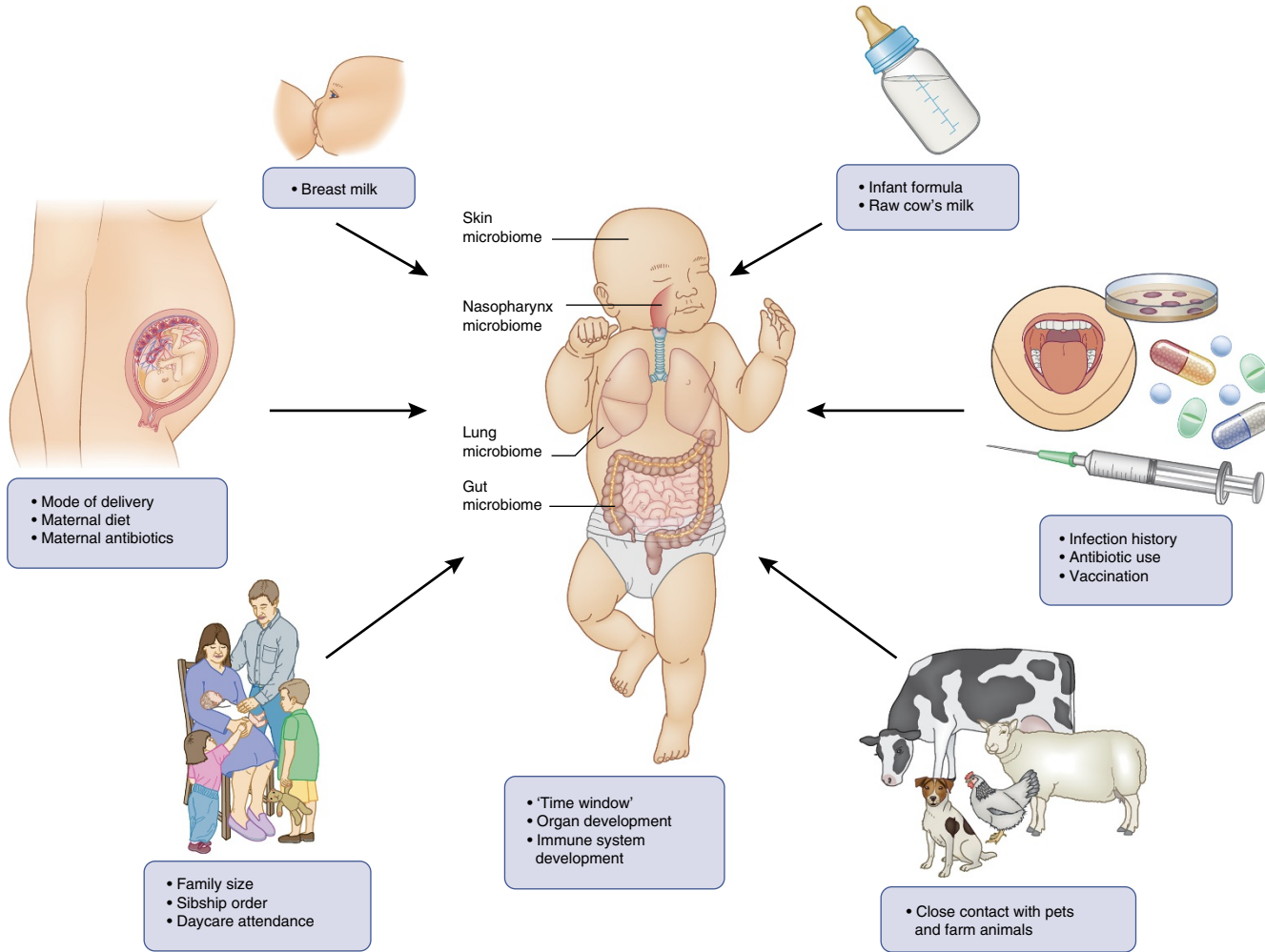
# L'esposizione della madre in gravidanza all'ambiente rurale protegge il bambino dallo sviluppo di allergie



L'esposizione delle madri a molte specie animali e microbi durante la gravidanza upregola le cellule T regolatorie e la produzione di IFN- $\gamma$  nel neonato. Questo protegge dallo sviluppo di risposte Th2 e da allergie. L'esposizione a animali e al latte di fattoria nei primi anni di vita rafforza l'effetto protettivo dell'esposizione prenatale.



# Lo stile di vita occidentale causa disbiosi

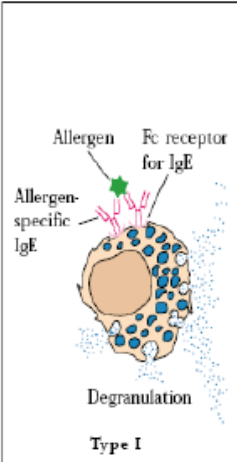
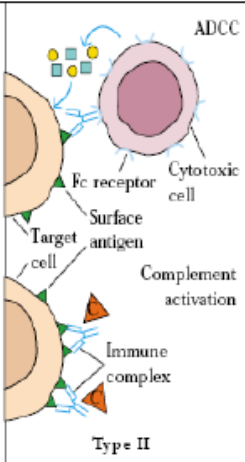
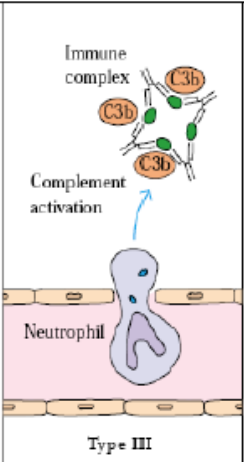
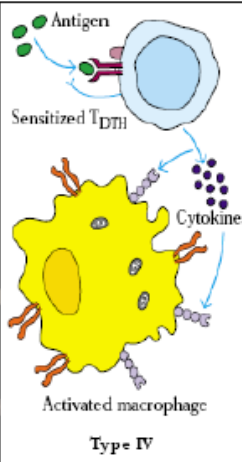


Studi recenti suggeriscono che l'aumento di malattie allergiche nei paesi occidentali possa essere dovuto a una riduzione della diversità del microbioma e questo potrebbe essere dovuto al tipo di allattamento, al contenuto di fibre nella dieta della madre e del figlio, alla presenza di animali.

Cambiamenti del microbioma dell'intestino, della pelle e del naso sono stati associati con la dermatite atopica, l'asma e allergie alimentari. Ipotesi «old friends».

**Figure 1** Protective and risk factors for allergy development in early life. Many of the risk factors for allergic disease affect the microbiome of the skin, nasopharynx, lung and gut, particularly in a critical window in the early postnatal period when these organs, as well as the immune system, are still developing. Infections can have both protective and detrimental effects on allergy. Often these factors occur together, so the absence of one protective factor does not necessarily mean that allergic disease will ensue. Also, many risk factors are associated. Antibiotic use is hard to disentangle from infection history.

# Meccanismi molecolari e classificazione delle reazioni di ipersensibilità

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

## Ipersensibilità

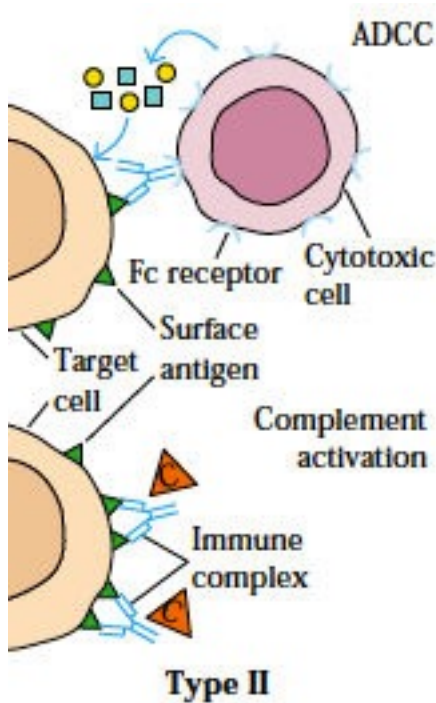
**di tipo I:** causata da IgE specifiche per antigeni ambientali e dai mastociti.

**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.

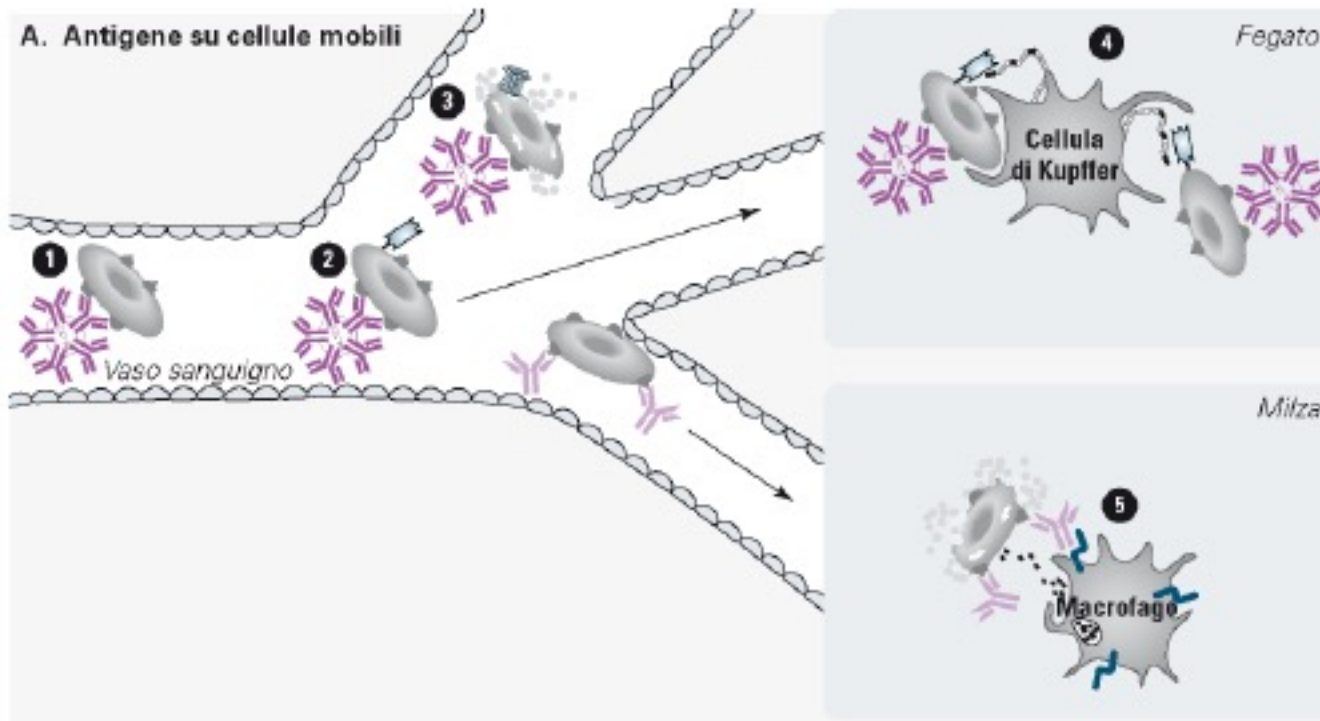
# Reazioni di ipersensibilità di tipo II



Le reazioni di ipersensibilità di tipo II sono caratterizzate da distruzione cellulare mediata da anticorpi.

Esempi:

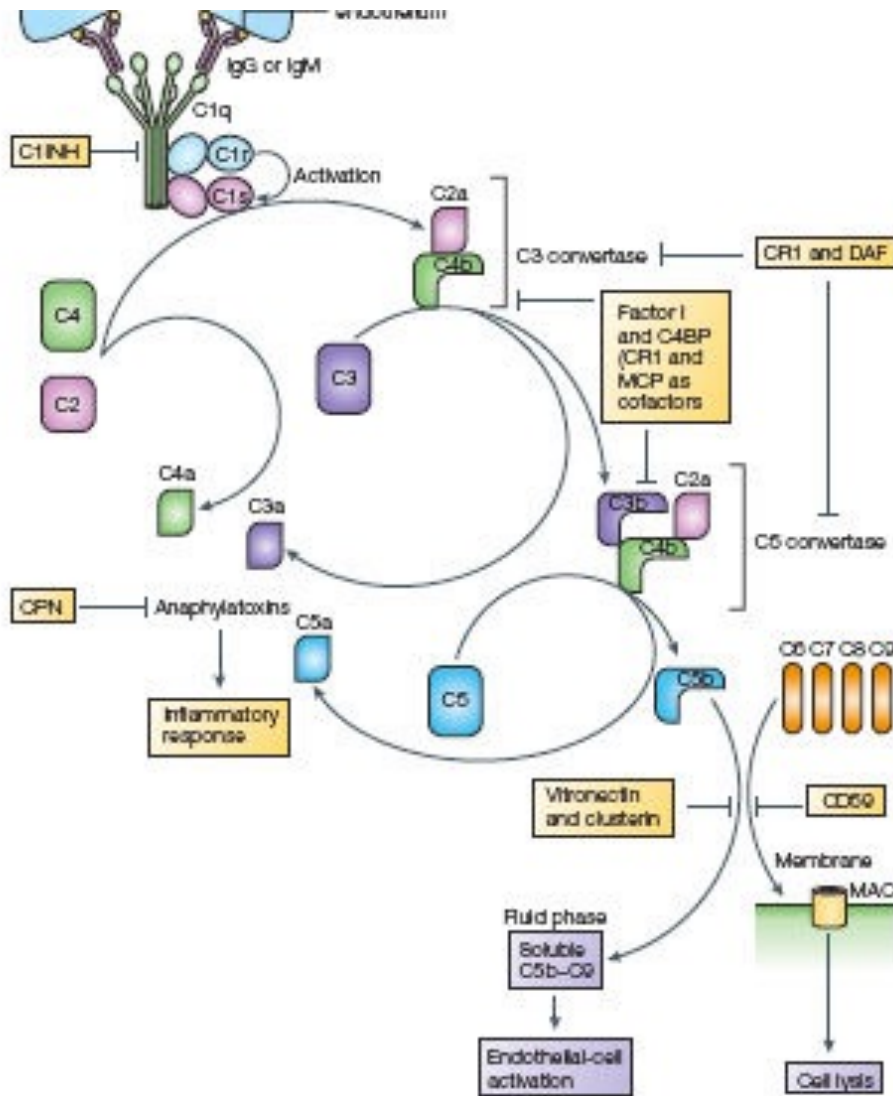
- 1) reazioni trasfusionali in cui il ricevente possiede anticorpi che reagiscono con gli eritrociti del donatore.
- 2) Malattia emolitica del neonato, in cui la gestante si è sensibilizzata agli eritrociti del feto
- 3) Anemia emolitica da farmaci



I meccanismi attraverso i quali gli anticorpi (IgM, IgG) mediano l'eliminazione delle cellule nelle reazioni di ipersensibilità di tipo II includono:

- attivazione del complemento creando dei pori sulla membrana della cellula bersaglio (3)
- attivazione del complemento con deposizione del C3b sulla superficie delle cellule ed eliminazione da parte dei fagociti (4)
- legame alla cellula bersaglio e azione opsonizzante, favorendo il legame fra fagociti e cellula bersaglio attraverso il recettore per l'Fc.

# Il sistema del complemento

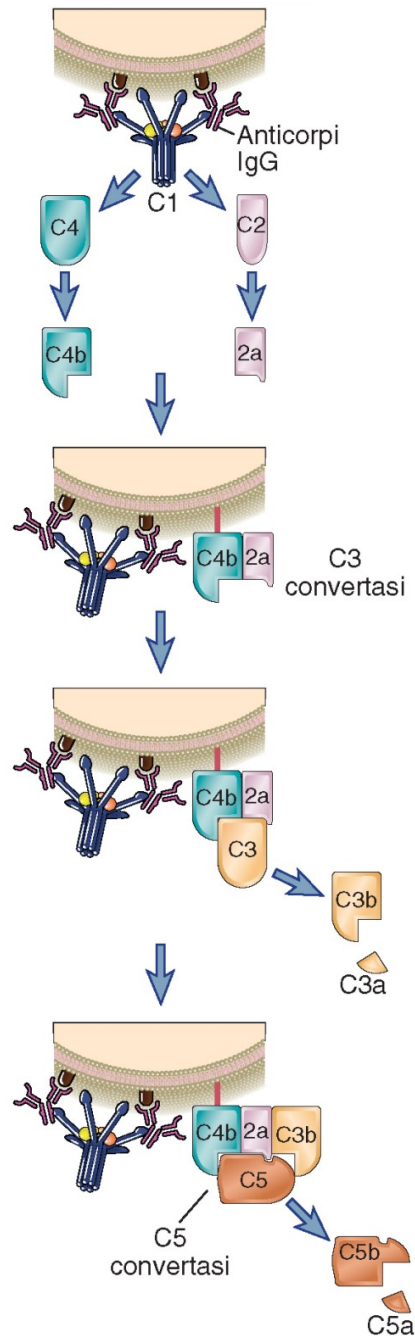


Il sistema del complemento è costituito da diverse proteine (C1-C9) che si trovano fortemente concentrate nel plasma. Tali proteine interagiscono reciprocamente e in modo controllato generando proteine in grado di eliminare i microrganismi.

Le proteine del complemento sono presenti nel siero in forma di precursori inattivi che sono attivati da anticorpi legati all'antigene o dai microrganismi. L'attivazione della cascata del complemento avviene attraverso la proteolisi sequenziale delle sue diverse componenti.

La via classica di attivazione del complemento avviene in seguito al legame fra il C1 con i complessi antigene-anticorpo.

## Via classica



La via classica di attivazione del complemento viene avviata dal legame della componente C1 alle IgG o alle IgM legate all'antigene. C1 è composto da C1q, r, s. C1q, composta da sei catene, lega gli anticorpi mentre C1s e r hanno attività enzimatica.

Il cambiamento conformazionale dovuto al legame C1q-Ig permette l'attivazione del C1r che scinde il C1s attivandolo.

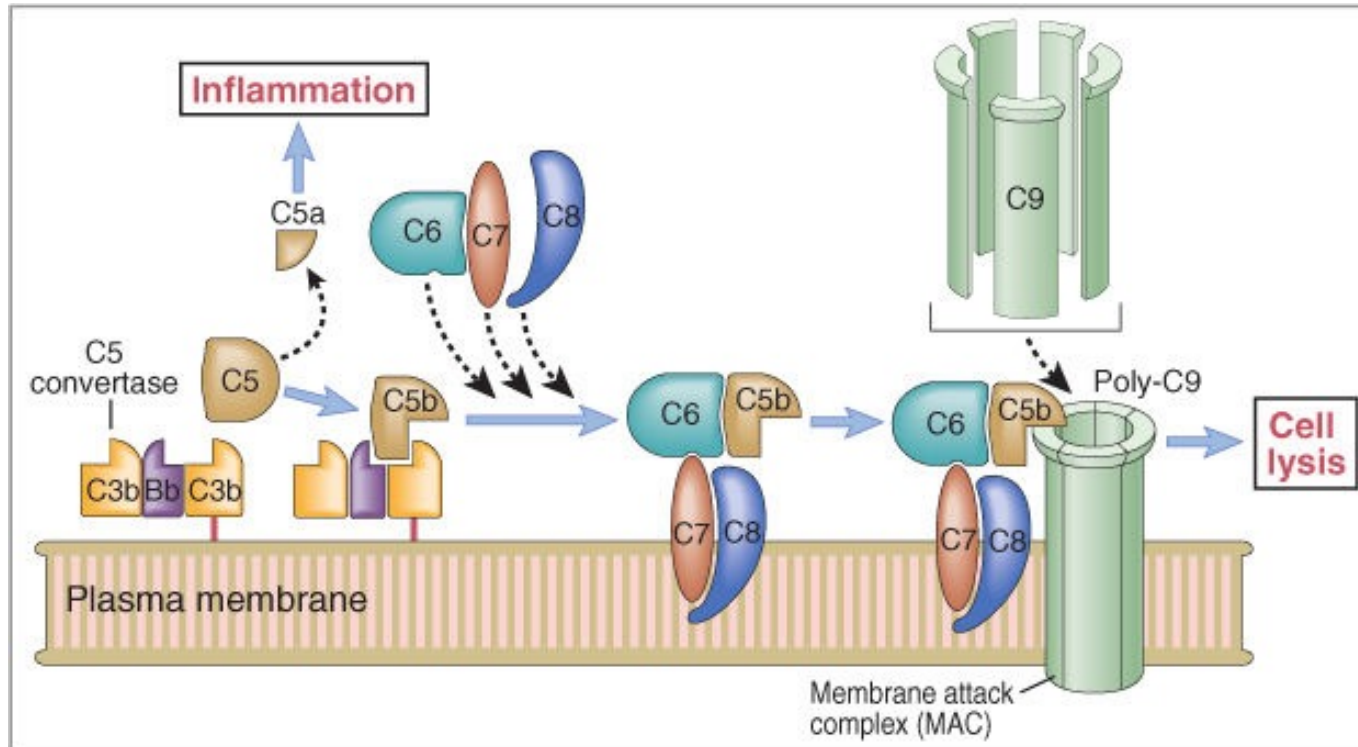
Il C1s scinde il C4 in C4a e C4b che si lega covalentemente all'antigene o all'anticorpo.

Il C2 che ha una tendenza a legare il C4b viene scisso dal C1s in C2a e C2b.

Il complesso C4bC2a è la **C3 convertasi**.

La C3 convertasi scinde il C3 dando origine ai due prodotti C3a e C3b. Quest'ultimo si lega covalentemente al complesso C4b2a generando la C5 convertasi.

# Tappe tardive dell'attivazione del complemento



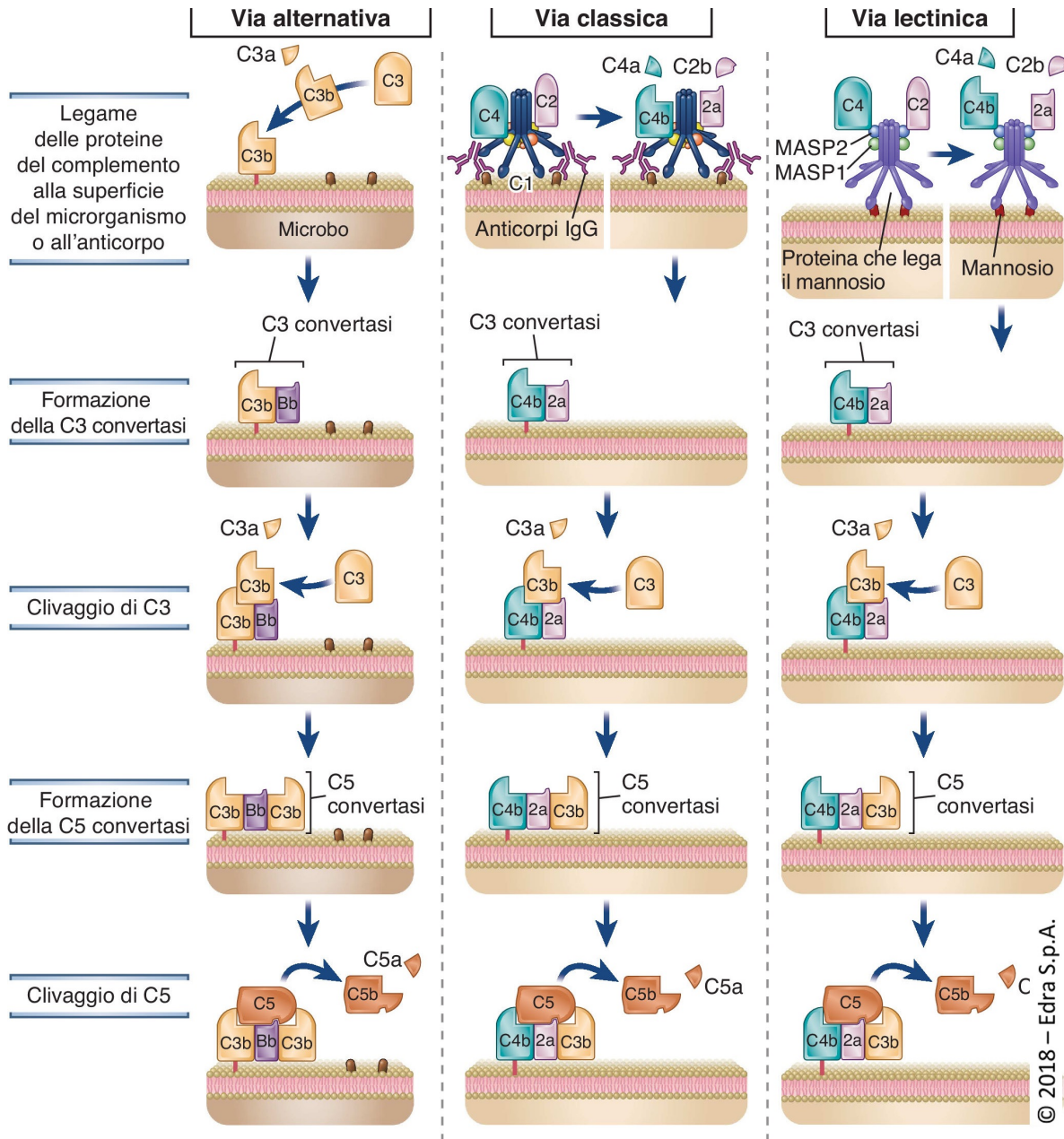
La C5 convertasi dà inizio alla formazione del complesso di attacco della membrana denominato MAC che causa lisi della cellula

© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

Il C5b mantiene una conformazione in grado di legare il C6, successivamente si legheranno C7, C8.

Infine la polimerizzazione del C9 determina la formazione di pori sulla membrana che permettono l'entrata nella cellula di acqua e ioni extracellulari mediando la lisi della cellula.

# Vie di attivazione del complemento

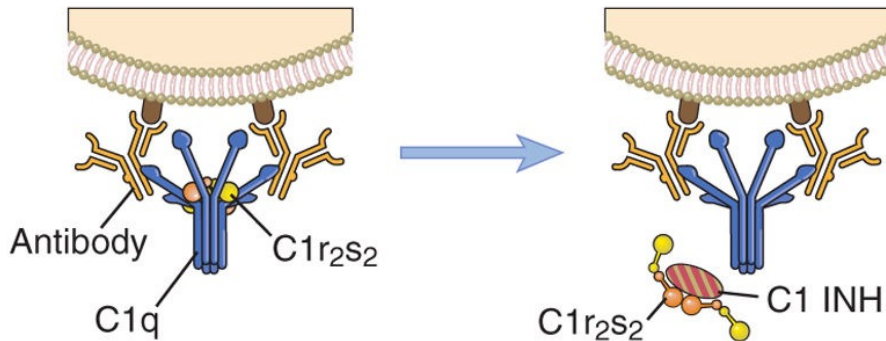




# Proteine regolatrici del complemento

C1q binds to antigen-complexed antibodies, resulting in activation of C1r<sub>2</sub>s<sub>2</sub>

C1 INH prevents C1r<sub>2</sub>s<sub>2</sub> from becoming proteolytically active



© Elsevier. Abbas et al: Cellular and Molecular Immunology 6e - www.studentconsult.com

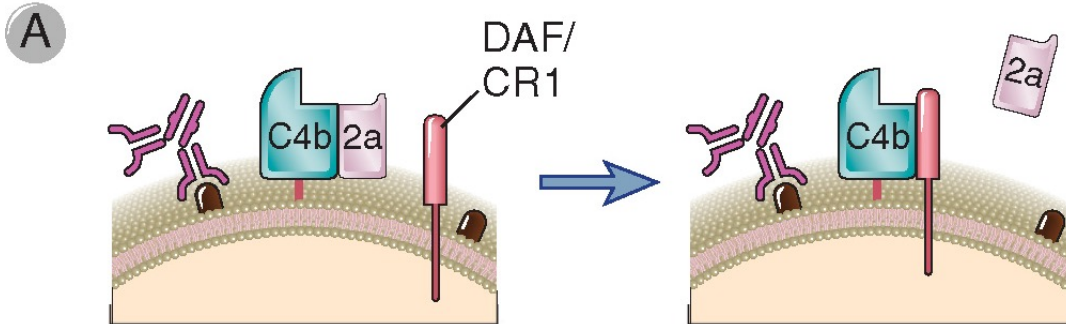
L'attivazione della cascata del complemento è controllata da proteine regolatorie che ne limitano la durata. L'attività proteolitica dei C1r e C1s è inibita dalla proteina plasmatica C1 inhibitor (C1INH). Nel caso in cui si abbia attivazione di C1q da parte di anticorpi in fase fluida C1 INH diviene il principale bersaglio di C1r<sub>2</sub>-C1s<sub>2</sub>. C1 INH scisso, si associa a C1r<sub>2</sub>-C1s<sub>2</sub> dissociandoli da C1q e limitandone l'attività enzimatica.

Il deficit di C1 INH causa la malattia ereditaria edema angioneurotico ereditario caratterizzato da edema delle mucose e della cute che a seconda del distretto corporeo interessato provocano vomito diarrea e ostruzione delle vie respiratorie.

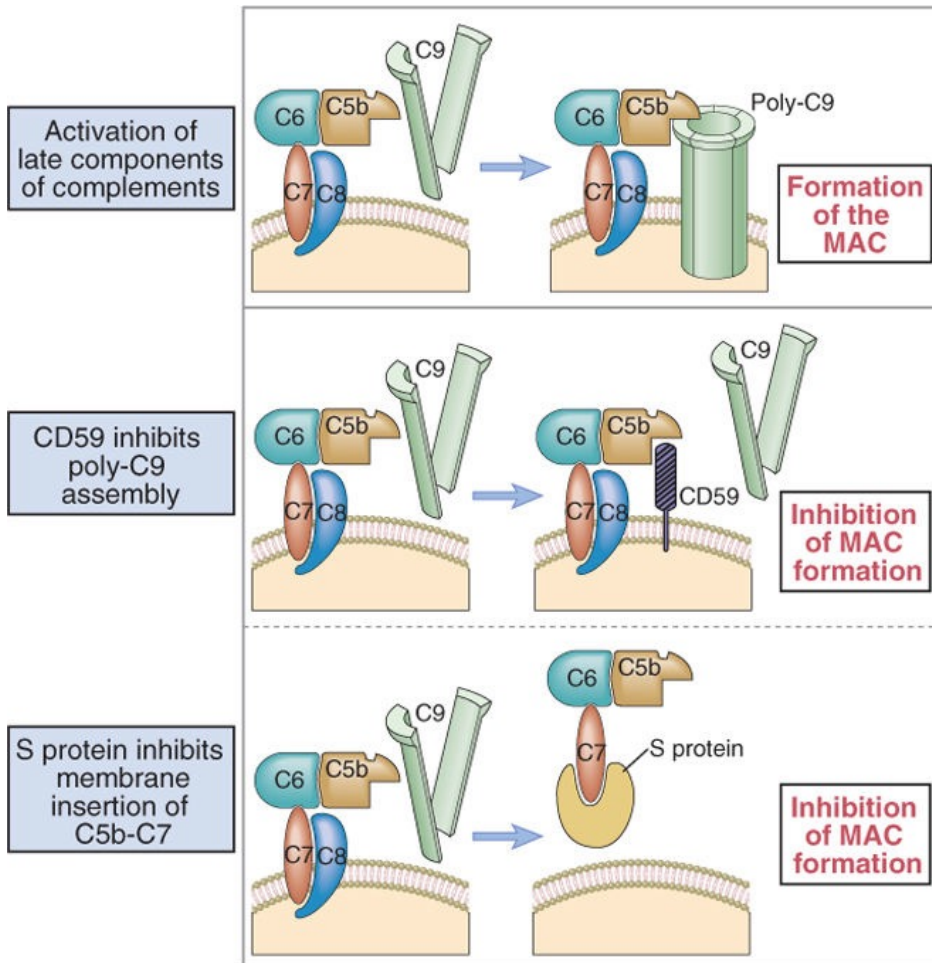
# Proteine regolatrici del complemento

Formazione del complesso  
C4b2a (C3 convertasi  
della via classica)

DAF, MCP e CR1  
favoriscono il distacco  
di C2a da C4b



L'associazione delle proteine DAF e CR1 al C4b impedisce il legame con le altre proteine della C3 convertasi (C2a) impedendo la prosecuzione della cascata complementare. Le proteine DAF e CR1 sono espresse sulla superficie delle cellule di mammifero.



La formazione del MAC è controllata dalla molecola CD59 espressa sulla superficie di molti tipi di cellule.

Il CD59 si incorpora nel MAC dopo l'inserimento in membrana di C5b-8. In tale modo inibisce l'associazione e la polimerizzazione del C9.

L'assenza di DAF e CD59 determina l'emoglobinuria parossistica notturna caratterizzata da episodi di emolisi intravascolari dovuti al mancato controllo dell'attivazione del complemento sulla superficie degli eritrociti.