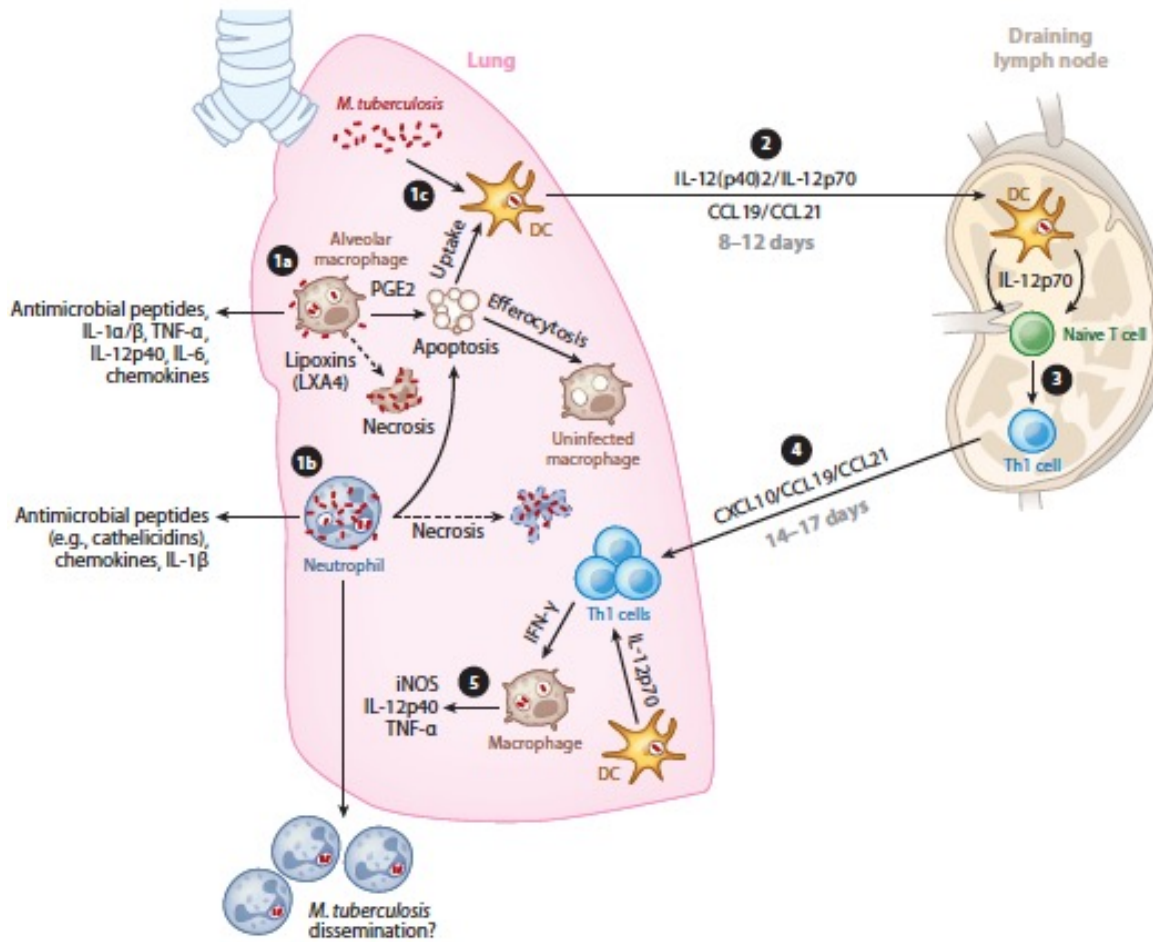
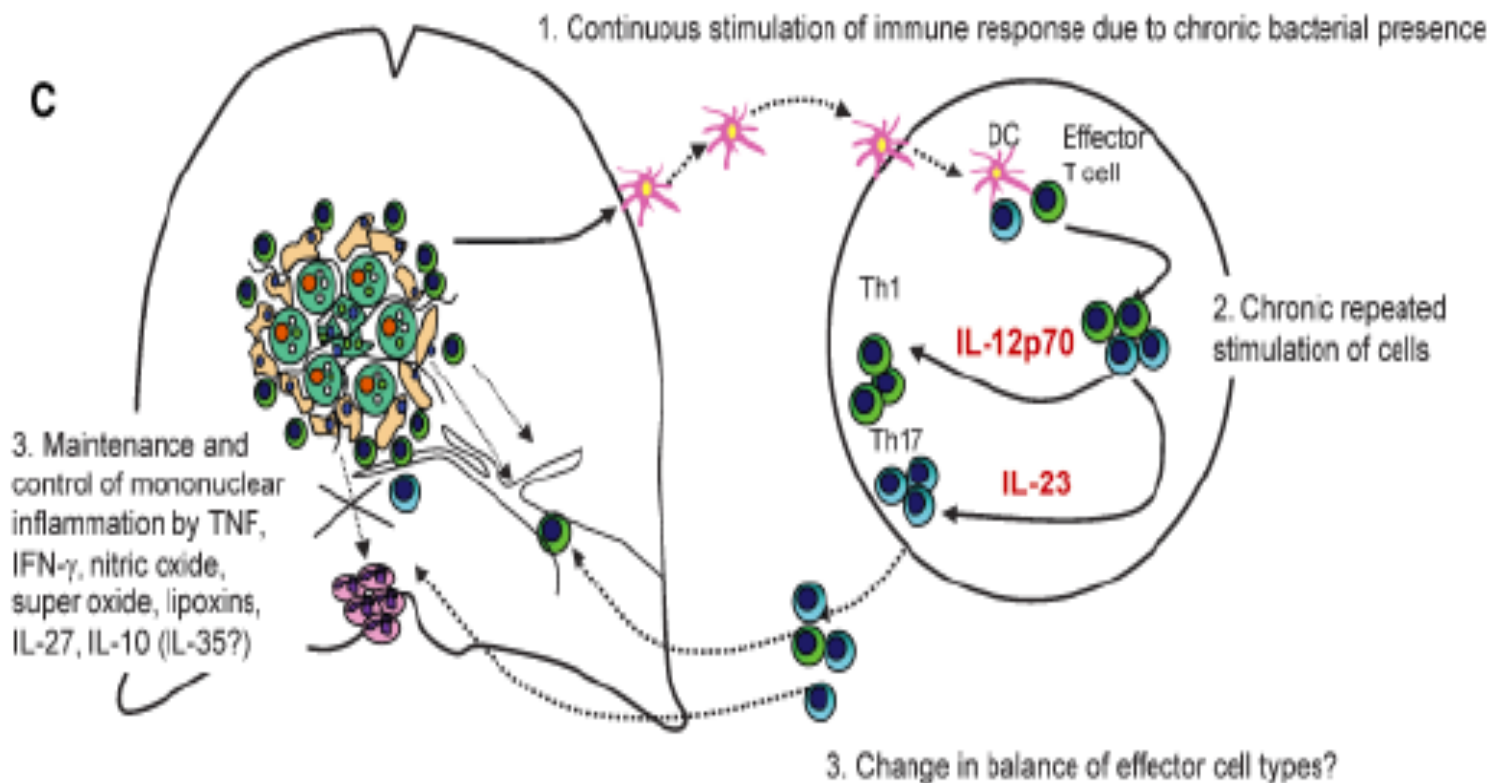


L'attivazione e il richiamo nel polmone dei linfociti T CD4+ produttori IFN- γ sono necessari per il controllo dell'infezione da *M. tuberculosis*



La robusta risposta T diretta contro *M. tuberculosis*, è necessaria per contenere l'infezione ma non riesce a eliminare il micobatterio.

La persistenza del batterio è una caratteristica dell' infezione da parte di *M. tuberculosis*



La generazione di risposte Th1 è necessaria per prevenire l'infezione disseminata di *M. tuberculosis*. Il granuloma è la manifestazione istopatologica caratteristica dell'infezione da parte di *M. tuberculosis*.

Struttura del granuloma tubercolare

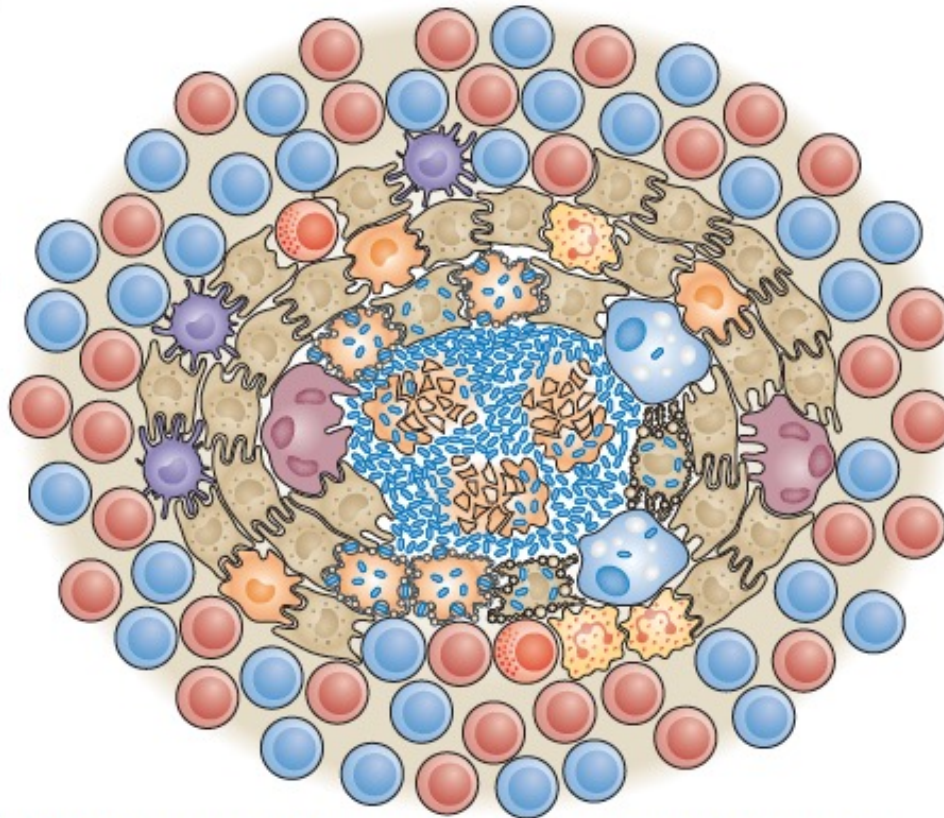
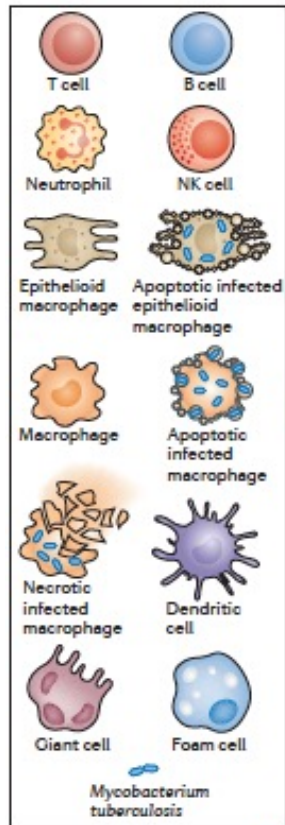


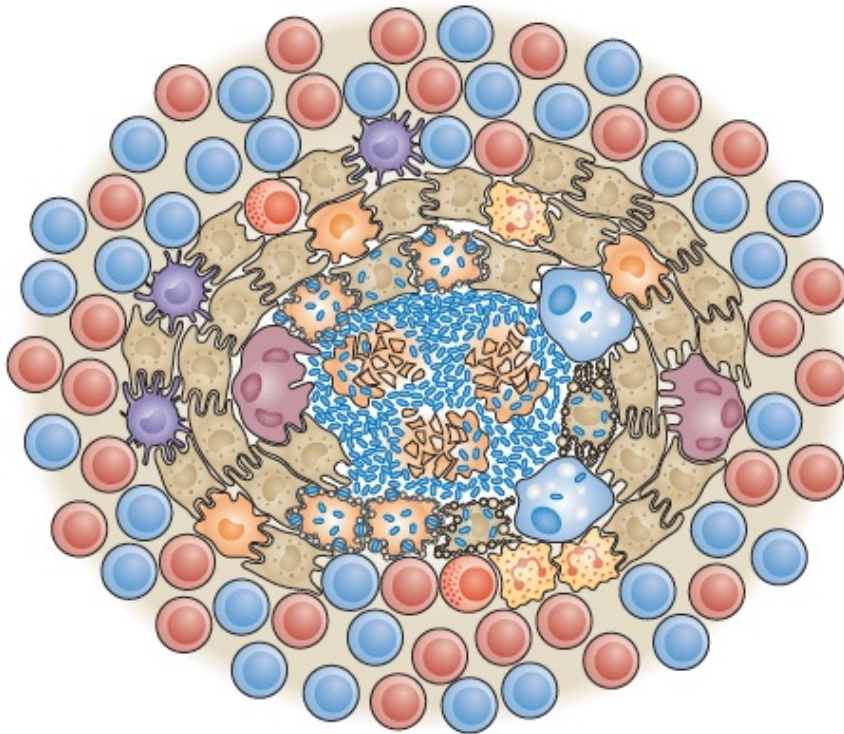
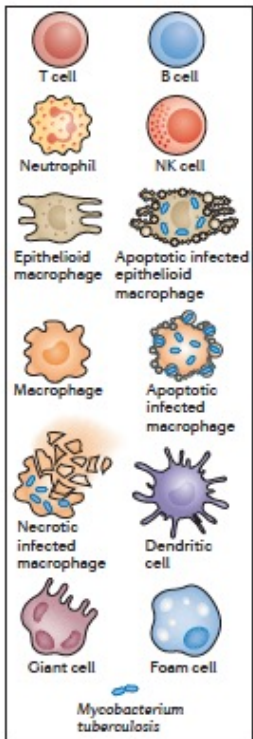
Figure 1 | Structure and cellular constituents of the tuberculous granuloma. The tuberculous granuloma at its most basic is a compact, organized aggregate of epithelioid cells — macrophages that have undergone a specialized transformation to have tightly interdigitated cell membranes that link adjacent cells. Epithelioid cells can be highly phagocytic but in some cases do not contain bacteria at all. Granuloma macrophages can also fuse into multinucleated giant cells or differentiate into foam cells, which are characterized by lipid accumulation. Foam cells have been noted to be most frequently located at the rim of the necrotic centre of a mature tuberculous granuloma. The consequences of these changes are not well understood, but in general foam cells and multinucleated giant cells have been reported to contain only a few bacteria, if any. Bacteria are most commonly present in the central necrotic areas in which dead and dying macrophages can be seen. Many other cell types also populate the granuloma, such as neutrophils, dendritic cells, B and T cells, natural killer (NK) cells, fibroblasts and cells that secrete extracellular matrix components. Finally, the epithelial cells surrounding the granuloma (not shown) are now thought to participate in its formation also.

Il granuloma tubercolare è un aggregato compatto di macrofagi maturi che si sviluppa in risposta alla infezione persistente.

Altre cellule quali i monociti e i linfociti circondano i macrofagi. Il granuloma è delimitato da una capsula fibrotica costituita da collagene e altre proteine della matrice extracellulare. Questa risposta tissutale è tipica della fase di contenimento dell'infezione

Il granuloma tubercolare

I macrofagi maturi del granuloma possono andare incontro a modificazioni morfologiche. Si possono fondere per formare cellule giganti. Possono differenziare in cellule schiumose che sono caratterizzate da un accumulo di lipidi. Possono trasformarsi in cellule epitelioidi in cui le cellule sono strettamente associate fra loro attraverso delle interdigitazioni della membrana plasmatica.



Funzione del granuloma

Diverse evidenze indicano che il granuloma tubercolare rappresenta una struttura finalizzata al contenimento dell'infezione.

- Presenza di granulomi guariti e calcificati in individui sani

- Associazione fra ipersuscettibilità all'infezione da *M. tuberculosis*, in individui con immunodeficienze in IFN- γ , IL-12 e scarsa presenza di granulomi.

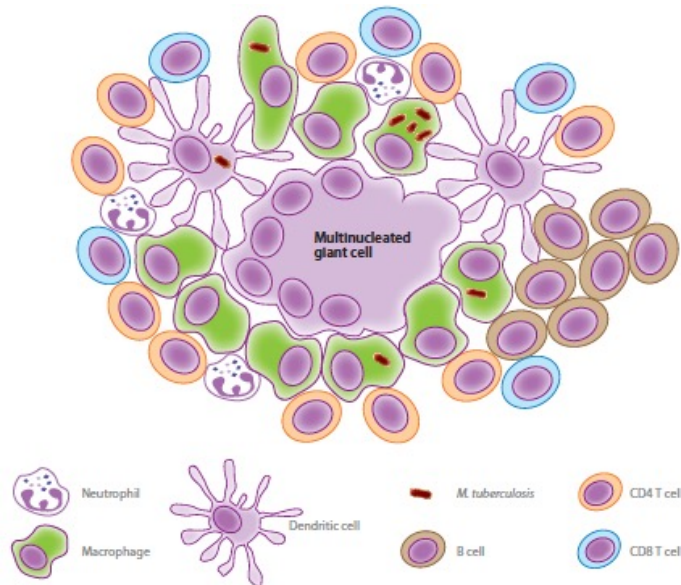
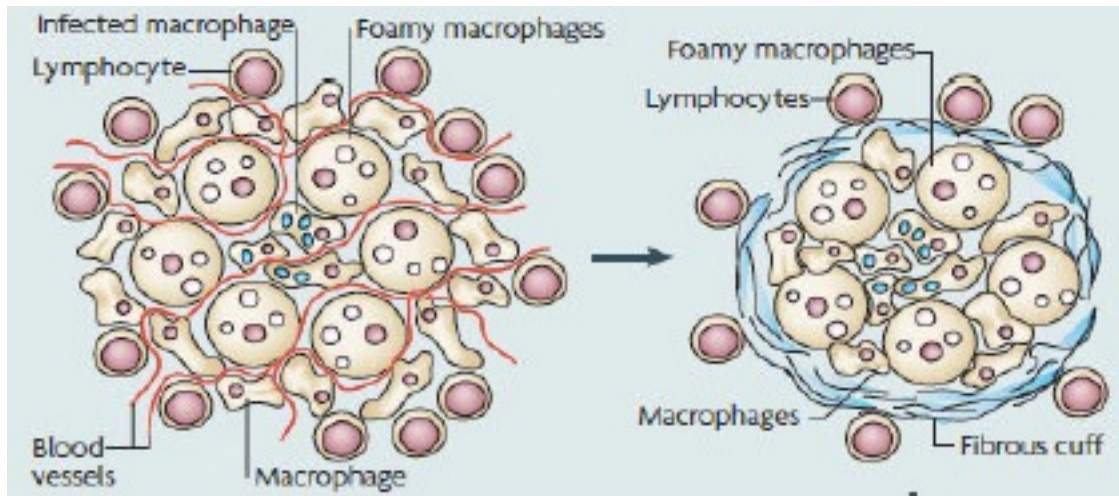


Figure 4

The cellular composition of a representative *Mycobacterium tuberculosis* granuloma. Individual granulomas can exhibit diverse morphologies, including striking areas of central caseous necrosis. The cells depicted have been identified in human granulomas, as well as in those of experimentally infected animals. A characteristic finding is that a small minority of the macrophages and dendritic cells in granulomas are infected by *M. tuberculosis*.

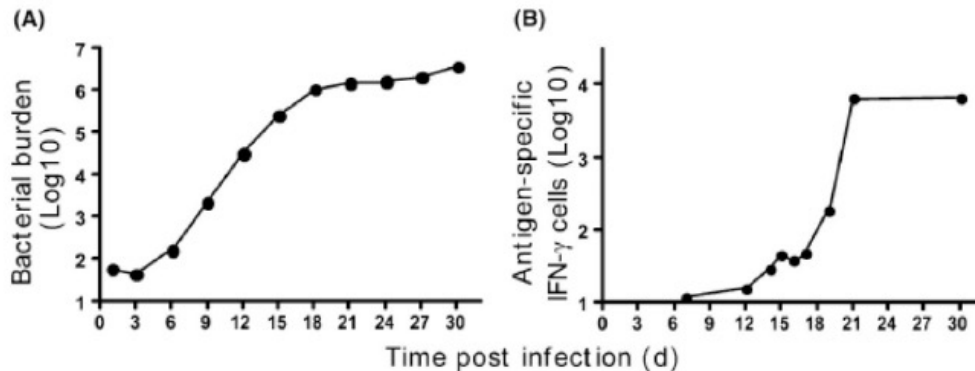
Maturazione del granuloma



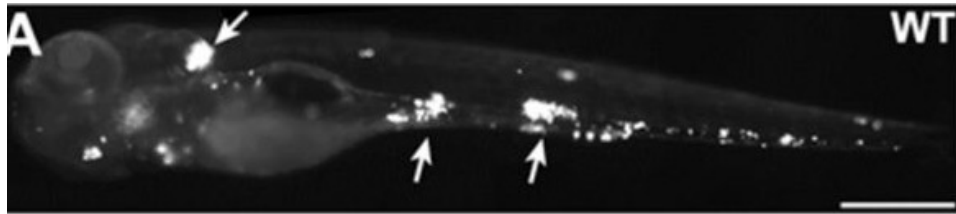
Nel modello classico la formazione del granuloma richiede l'immunità adattativa. In seguito alla migrazione dei linfociti Th1 dal linfonodo al sito dell'infezione il granuloma si organizza strutturalmente con i macrofagi infettati all'interno circondati da linfociti T all'esterno.

Per questo la risposta adattativa è stata considerata essenziale alla formazione del granuloma.

Classicamente la restrizione della crescita batterica è stata associata allo sviluppo del granuloma la cui formazione è stata considerata dipendente dalla risposta immune adattativa.

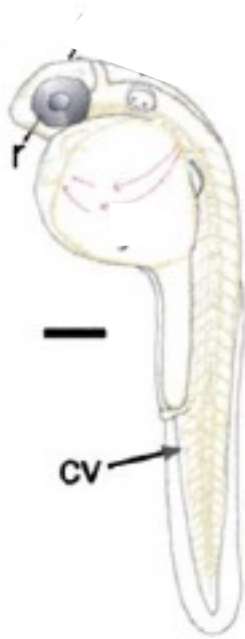


La formazione del granuloma avviene indipendentemente dalla immunità adattativa



Studi nell'embrione di zebrafish hanno permesso di visualizzare gli eventi cellulari nella formazione del granuloma. Tali studi hanno dimostrato che nell'embrione di zebrafish, *M. marinum* induce la formazione del granuloma indipendentemente dall'immunità adattativa e sfrutta il nascente granuloma per proliferare e diffondere nell'ospite aumentando la sua virulenza.

Il modello dello zebrafish per lo studio della tubercolosi



Il *Mycobacterium Marinum* è un patogeno naturale dei pesci, anfibi e rettili in cui causa una malattia simile alla tubercolosi.

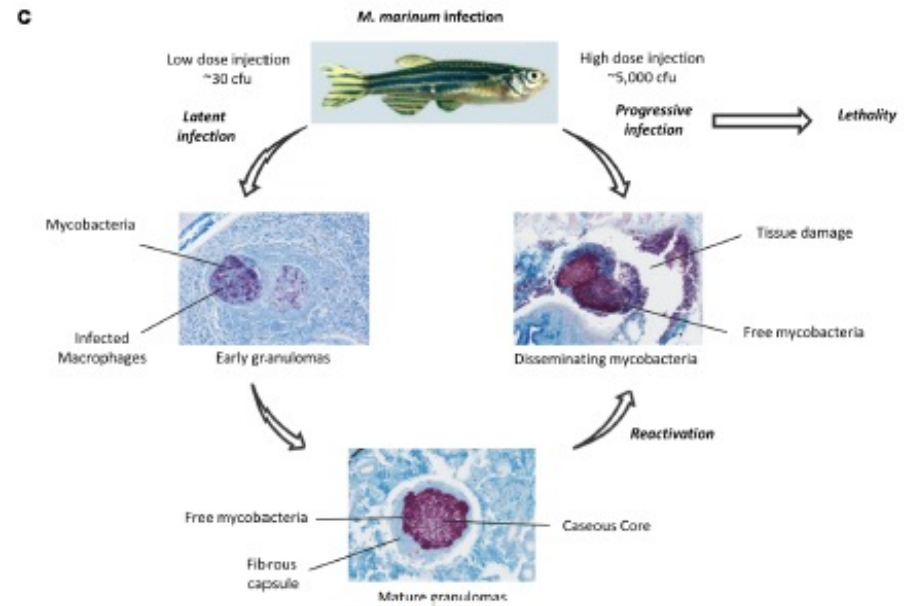
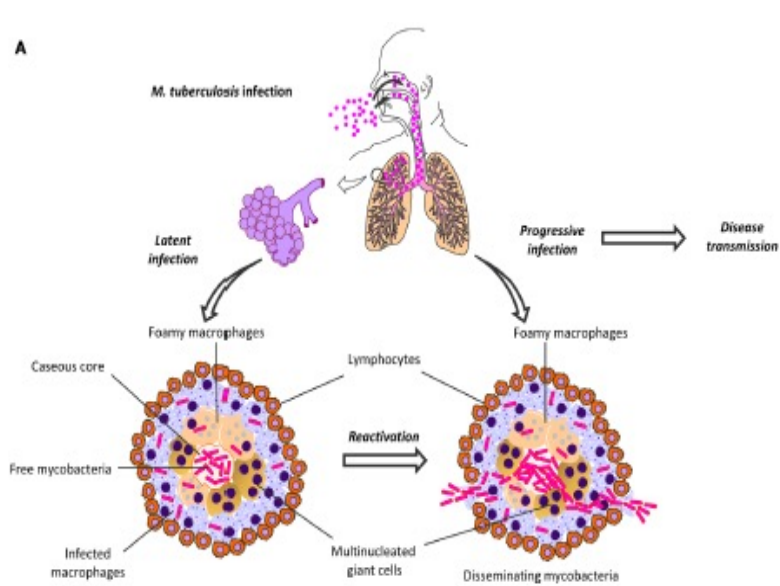
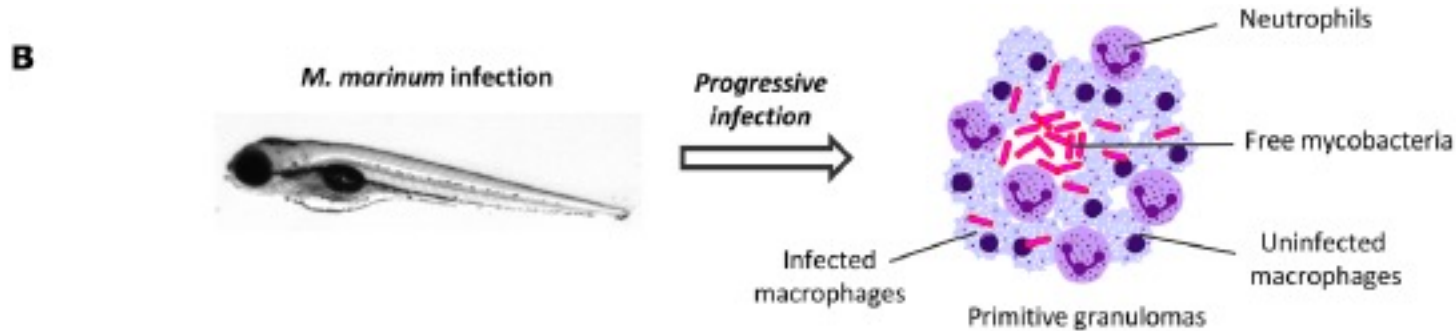
Nell'uomo produce una infezione granulomatosa che è istologicamente simile alla tubercolosi ma ristretta alle estremità del corpo.

Lo zebrafish rappresenta un modello della tubercolosi che presenta molti vantaggi. Infatti permette di dissezionare il contributo dell'immunità innata e adattativa alla patogenesi e alla protezione della malattia grazie all'utilizzo di mutanti genetici e all'analisi microscopica dell'intero animale.

La trasparenza dell'embrione permette l'utilizzo di tecniche di visualizzazione.

Nello zebrafish il sistema immune adattativo è morfologicamente e funzionalmente maturo dopo 4-6 settimane post-fertilizzazione. Questo permette di studiare il contributo della risposta immune innata indipendentemente dalla risposta immune adattativa.

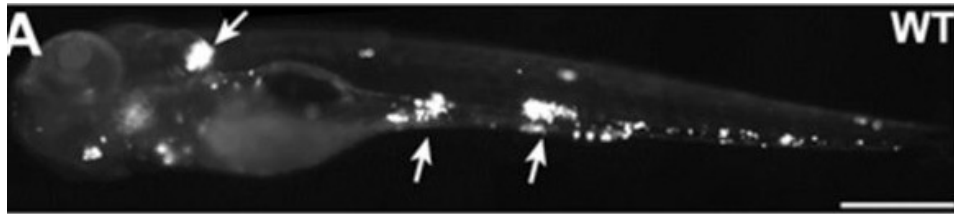
Formazione del granuloma nell'infezione da *M. tuberculosis* nell'uomo e di *M. marinum* in zebrafish



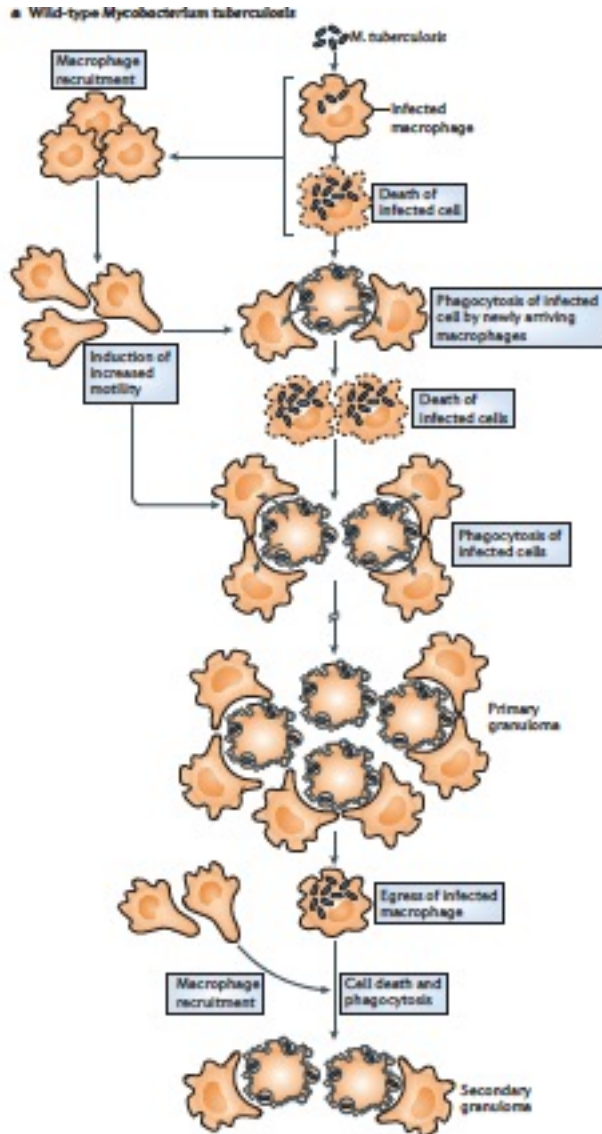
La formazione del granuloma avviene indipendentemente dalla immunità adattativa

Studi nell'embrione di zebrafish hanno dimostrato che in seguito alla esposizione a un basso inoculo di *M. marinum* il batterio replica nei macrofagi e molti macrofagi non infettati sono reclutati nell'area dell'iniziale infezione. Il reclutamento di altri macrofagi e la loro aggregazione e organizzazione rappresenta la fase iniziale della formazione del granuloma.

Questi dati dimostrano che il granuloma si forma anche in assenza della risposta immune adattativa.



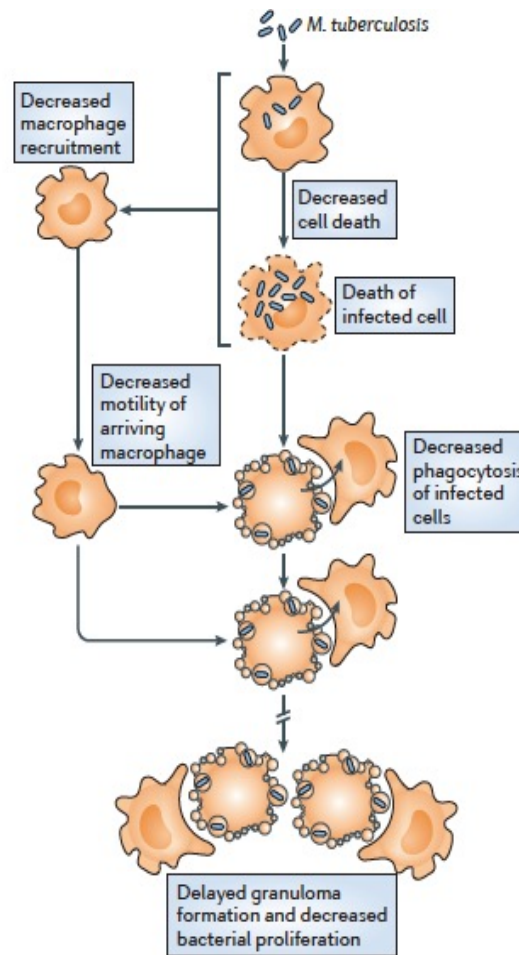
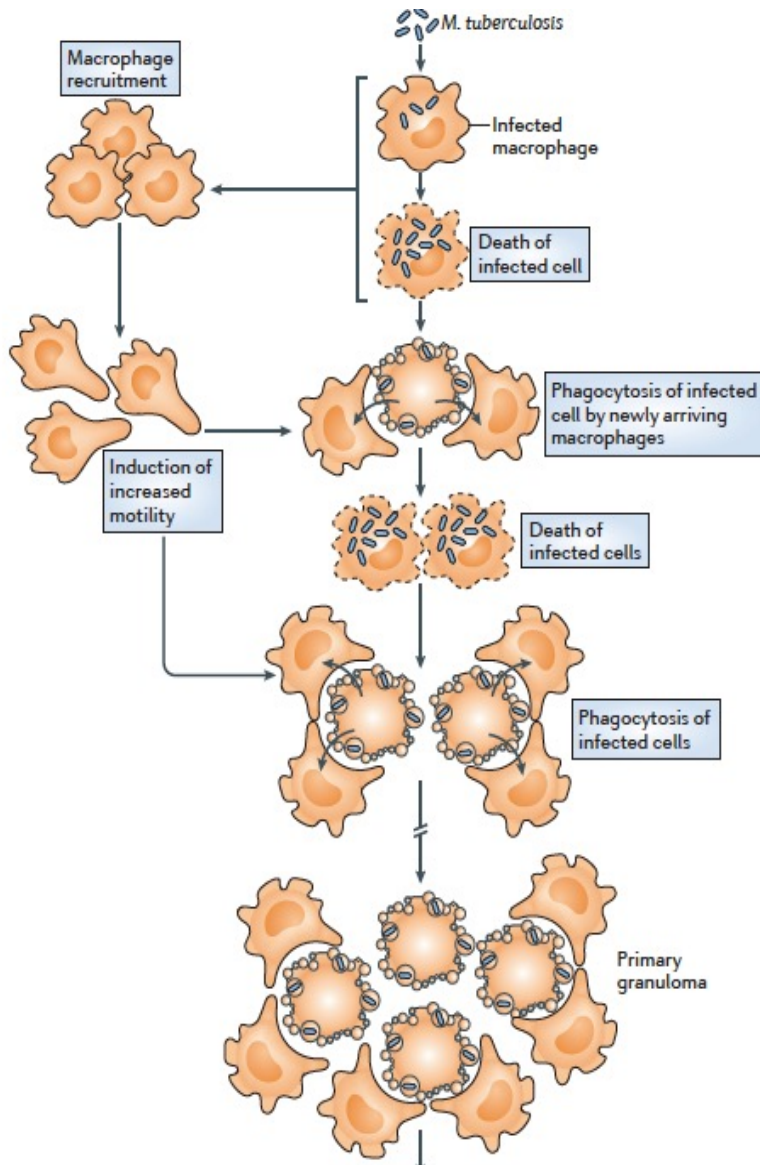
Proliferazione e diffusione del batterio attraverso il granuloma



Immagini dinamiche nelle larve di zebrafish hanno dimostrato che i macrofagi si muovono attivamente attorno al granuloma in formazione. Inizialmente i macrofagi infettati dai *M. tuberculosis* reclutano nuovi macrofagi.

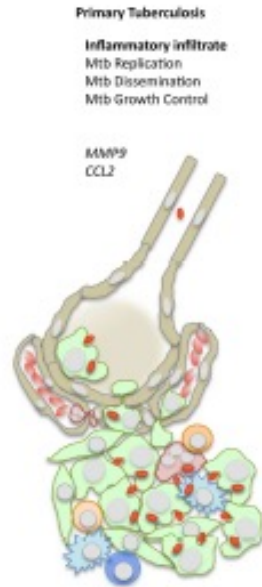
Le cellule infettate vanno incontro a morte e sono fagocitate dai macrofagi neoreclutati. Dopo una ulteriore crescita batterica anche queste cellule andranno incontro a morte e saranno fagocitate da altri macrofagi. Nella formazione del granuloma i macrofagi infettati vanno incontro ad apoptosi.

L'assenza del fattore di virulenza RD1 in *M. tuberculosis* ritarda la formazione del granuloma e riduce la proliferazione del batterio nell'ospite

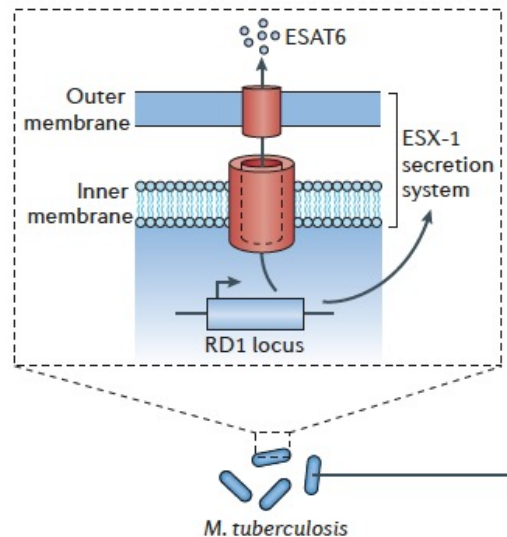


La regione di differenza RD1 è un locus che è presente in *M. tuberculosis* ma non nel genoma di *M. Bovis* (BCG).

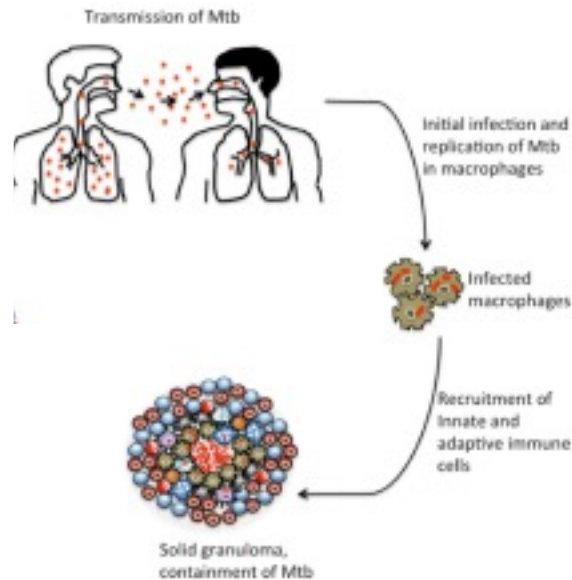
Formazione del granuloma



Il richiamo dei macrofagi non infettati è dettato dalla presenza del locus di virulenza RD1. La proteina ESAT-6 secreta dal sistema di secrezione ESX-1 codificato dal locus di virulenza RD1, agisce sulle cellule epiteliali per indurre l'espressione della metalloproteasi MMP9 per ottimizzare il reclutamento di macrofagi non infettati.



Funzioni del granuloma



La formazione del granuloma avviene sin dall'inizio dell'infezione da parte di *M. tuberculosis*. Tale struttura è costituita inizialmente da un aggregato di macrofagi infetti che il batterio sfrutta per poter proliferare nell'ospite. In seguito all'induzione della risposta adattativa il granuloma acquisisce l'azione di contenimento.

Ciclo vitale patogenico di *M. tuberculosis*

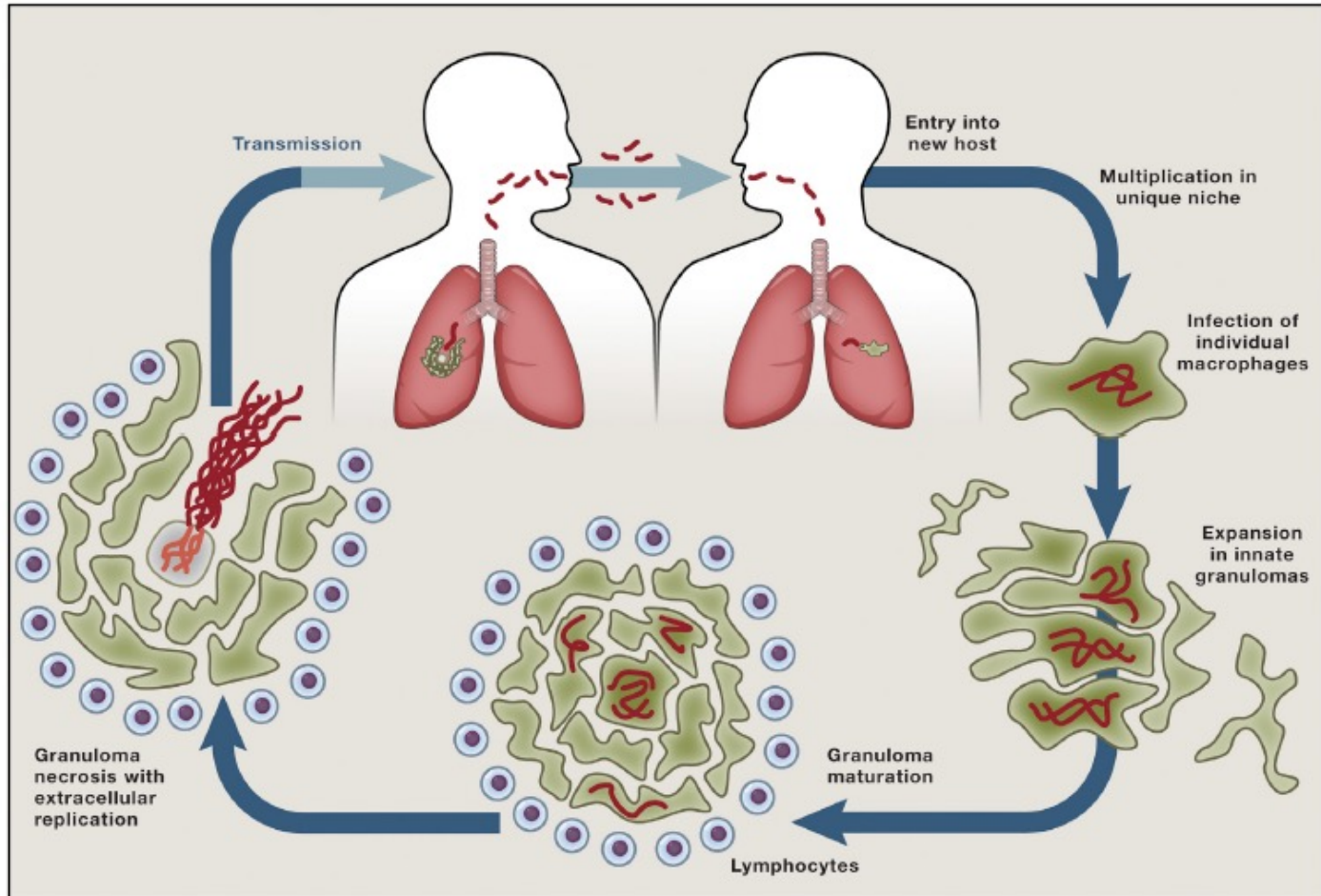
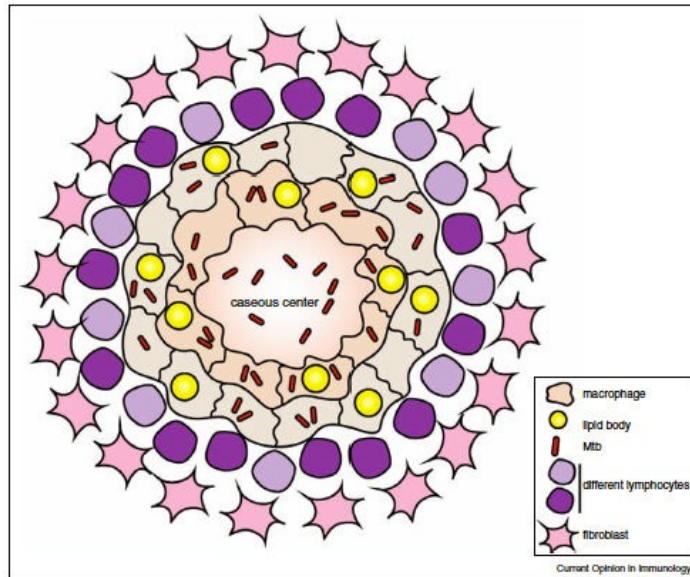


Figure 1. Pathogenic Life Cycle of *M. tuberculosis*

M. tuberculosis infection initiates when fine aerosol particles containing the bacteria coughed up by an individual with active disease are deposited in the lower lungs of a new host. The bacteria recruit macrophages to the surface of the lung, which become infected, and serve to transport the bacteria across the lung epithelium to deeper tissues. A new round of macrophage recruitment to the original infected macrophage is initiated, forming the granuloma, an organized aggregate of differentiated macrophages and other immune cells. The granuloma in its early stages expands infection by allowing bacteria to spread to the newly arriving macrophages. As adaptive immunity develops, the granuloma can restrict bacterial growth. However, under many circumstances, the infected granuloma macrophages can undergo necrosis, forming a necrotic core that supports bacterial growth and transmission to the next host.

Beneficio biologico del granuloma

Figure 3

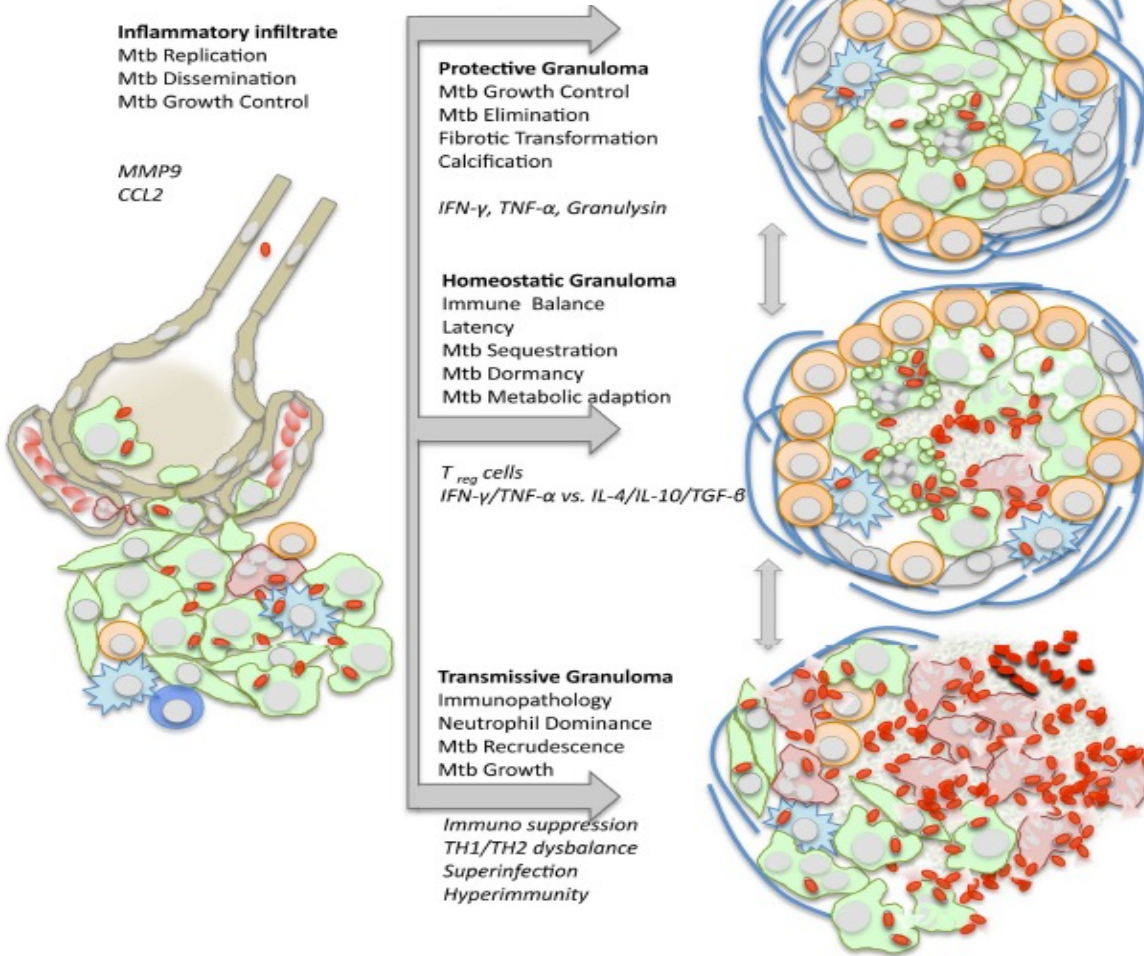


Complex granulomas contain mycobacteria long term. Mature mycobacterial granulomas in many hosts contain rings of macrophages around a necrotic caseous center. Foam cells, which contain large lipid bodies (shown in yellow), as well as multinucleated giant cells and epithelioid-like macrophages are some of the specialized macrophages in these regions. Multiple kinds of lymphocytes are present in an outer boundary, and fibroblasts are also present in mature granulomas.

Il granuloma beneficia sia il batterio garantendo l'infezione persistente sia l'ospite perché permette il contatto fra cellule presentanti l'antigene infettate (macrofagi e DC) e cellule immuni che possono controllare l'infezione.

Il primo stadio nella formazione del granuloma non è di per sé protettivo anzi si pensa possa favorire la diffusione del batterio. Il granuloma tardivo diventa protettivo per l'ospite.

Possibili evoluzioni del granuloma tubercolare

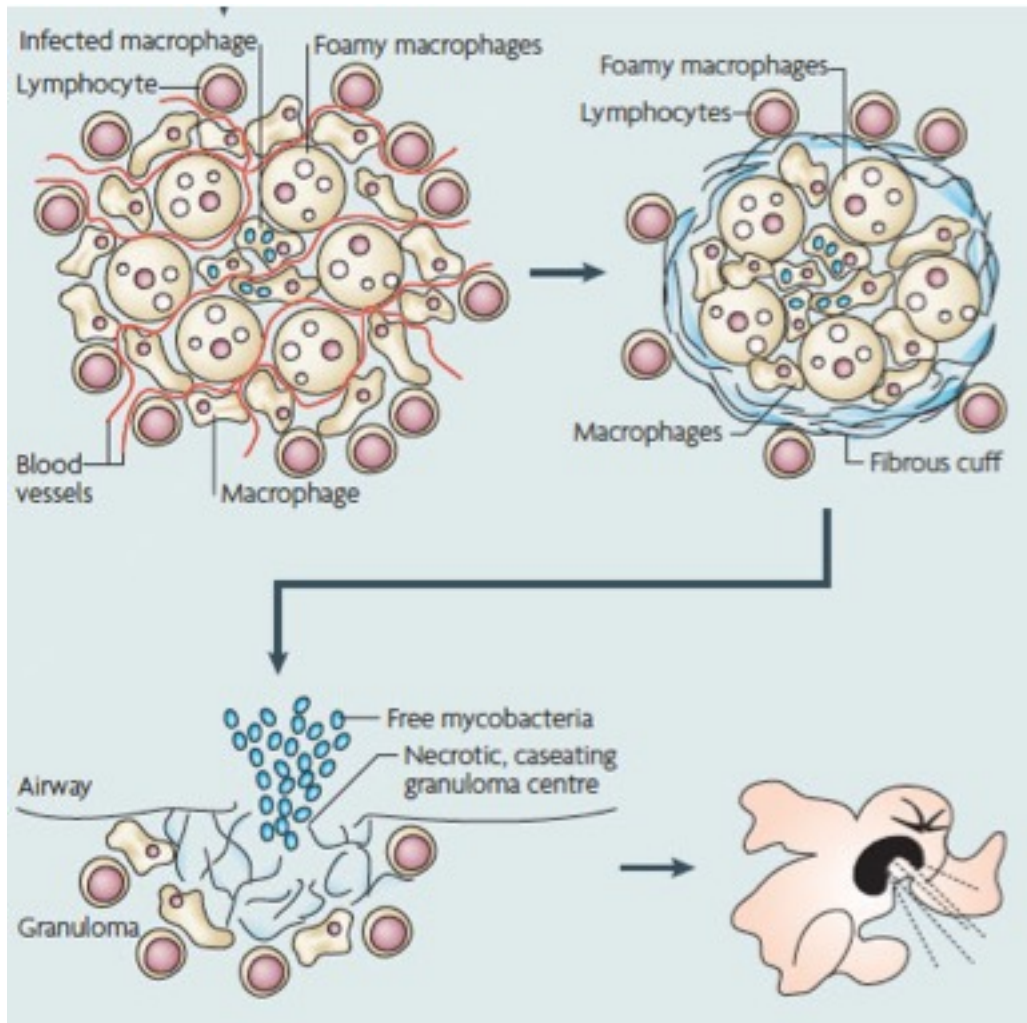


Dati epidemiologici indicano che in seguito allo sviluppo della risposta T questa possa in alcuni casi determinare l'eliminazione del micobatterio nel granuloma (protective granuloma).

In altri casi il batterio può persistere in uno stato dormiente (homeostatic granuloma).

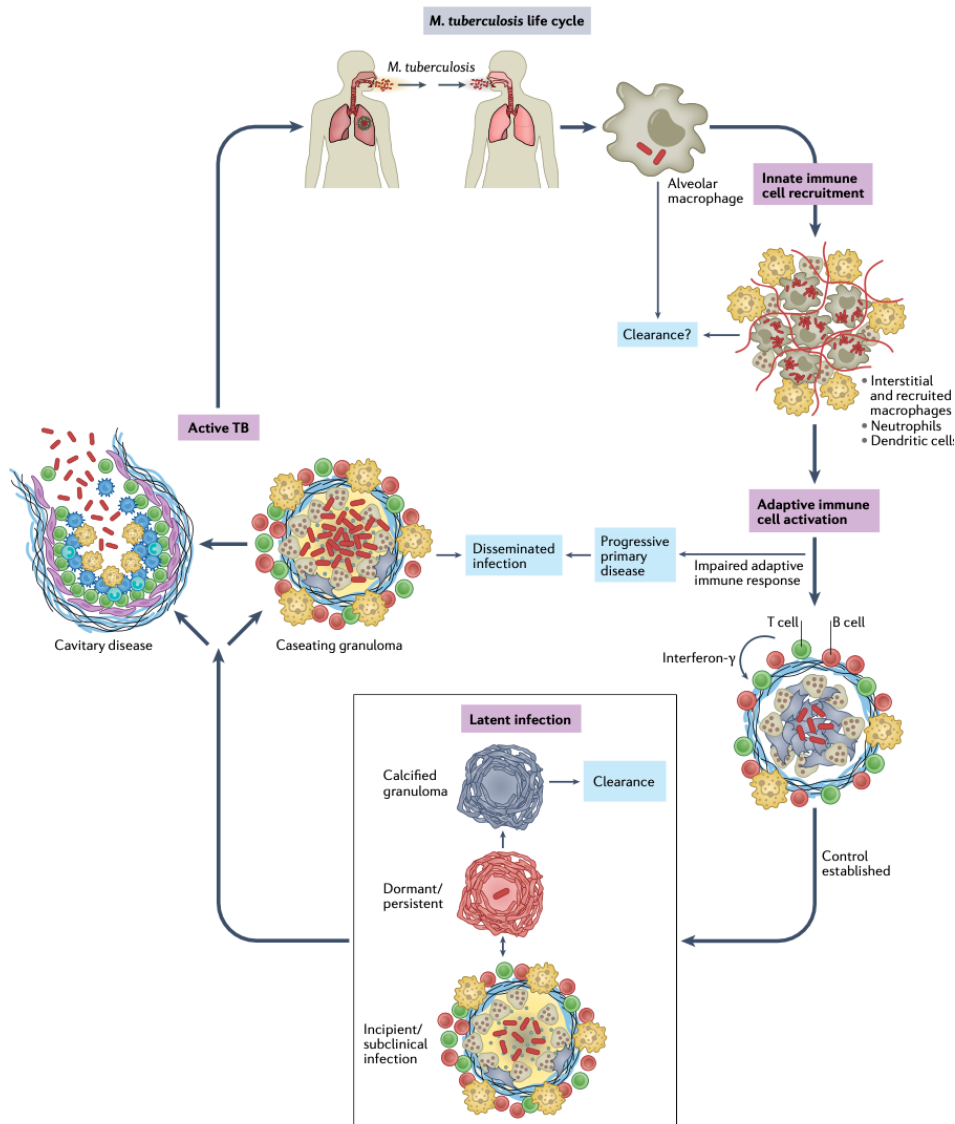
L'infezione nella tubercolosi latente può riattivarsi e progredire in TB attiva. Dati epidemiologici indicano che la trasmissione del micobatterio della tubercolosi avviene più frequentemente negli individui con granulomi organizzati che presentano una necrosi all'interno (trasmissive granuloma).

La rottura del granuloma in seguito a qualsiasi condizione che riduce le cellule T CD4+ facilita la diffusione aerea del batterio



L'azione di contenimento svolta dal granuloma tubercolare fallisce in quelle condizioni che riducono o alterano le funzioni delle cellule T CD4+ (malnutrizione, invecchiamento, infezione da HIV). In seguito a tali cambiamenti dello stato del sistema immune il granuloma va incontro a caseazione si rompe e libera migliaia di batteri vivi nelle vie aeree dell'individuo infetto.

Ciclo vitale *M. tuberculosis*



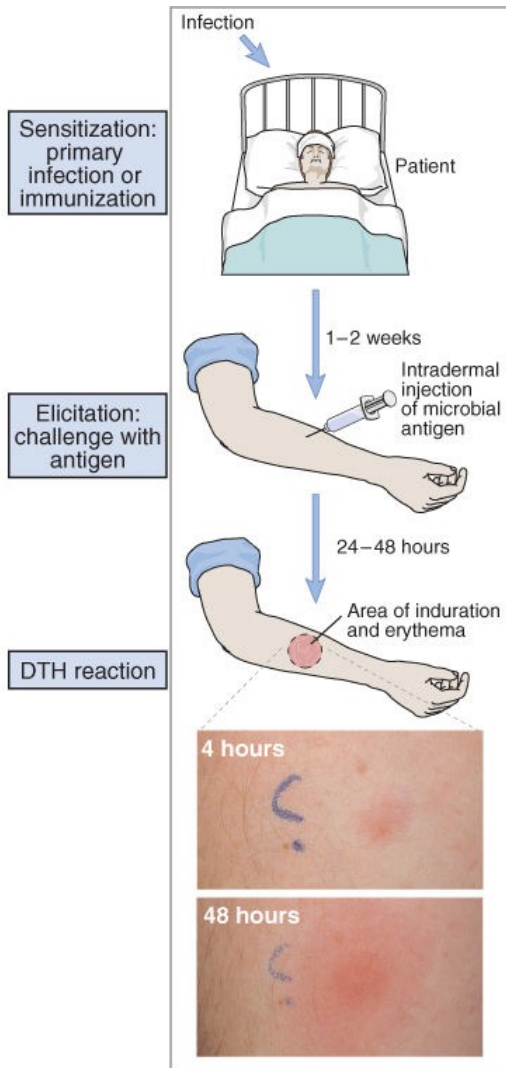
M. tuberculosis viene trasmesso via aerosol da un individuo con la forma attiva della tubercolosi. Le prime cellule ad essere infettate sono i macrofagi alveolari che dopo essere stati infettati migrano nell'interstizio polmonare. Il micobatterio infetta diversi tipi di macrofagi, i neutrofili e cellule dendritiche.

Non è chiaro se in alcuni individui la risposta immune innata elimina il batterio. Le cellule dendritiche migrano nei linfonodi dove sono attivati i linfociti T specifici per il micobatterio.

I linfociti T migrano nel punto dell'infezione e sono necessari per il contenimento dell'infezione e per prevenire l'infezione disseminata. Si sviluppa il granuloma maturo.

In presenza di un sistema immune efficiente la maggior parte degli individui sviluppa una infezione latente. Il 5-10% degli individui infetti può sviluppare infezione attiva.

Sequenza di eventi delle reazioni DTH



La reazione di ipersensibilità ritardata (DTH) indotta dall' inoculo intradermico del PPD in un individuo sensibilizzato si sviluppa in 24-48 ore.

Viene utilizzata per verificare se un individuo ha sviluppato una risposta immune contro il Micobatterio della tubercolosi (Skin test; tuberculin test).

Nelle prime 4 ore si accumulano nelle venule post capillari del sito di inoculo i neutrofili.

Dopo 12 ore compare un infiltrato linfo monocitario in sede perivasale. Le cellule endoteliali che rivestono i capillari si rigonfiano e diventano più permeabili alle macromolecole presenti nel plasma. In seguito alla fuoriuscita del fibrinogeno si avrà la sua conversione in fibrina. L'infiltrato e la deposizione di fibrina determinano il rigonfiamento e l'indurimento del tessuto. Il TNF e l'IFN- γ provocano alterazioni morfologiche nelle cellule endoteliali favorendo la fuoriuscita dal letto capillare di macromolecole quali il fibrinogeno.

Nuovi saggi per la diagnosi dell'infezione da *M. tuberculosis*

Table1: Differences in Currently Available IGRAs

	QFT-GIT	T-Spot
Initial Process	Process whole blood within 16 hours	Process peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) within 8 hours, or if T-Cell Xtend [®] is used, within 30 hours.
<i>M. tuberculosis</i> Antigen	Single mixture of synthetic peptides representing ESAT-6, CFP-10 and TB7.7	Separate mixtures of synthetic peptides representing ESAT-6 and CFP-10
Measurement	IFN-g concentration	Number of IFN-g producing cells (spots)
Possible Results	Positive, negative, indeterminate	Positive, negative, indeterminate, borderline

Più recentemente sono stati sviluppati saggi (IGRA test=test di rilascio dell'IFN-gamma) che utilizzano antigeni specifici di *M. tuberculosis* (ESAT-6).

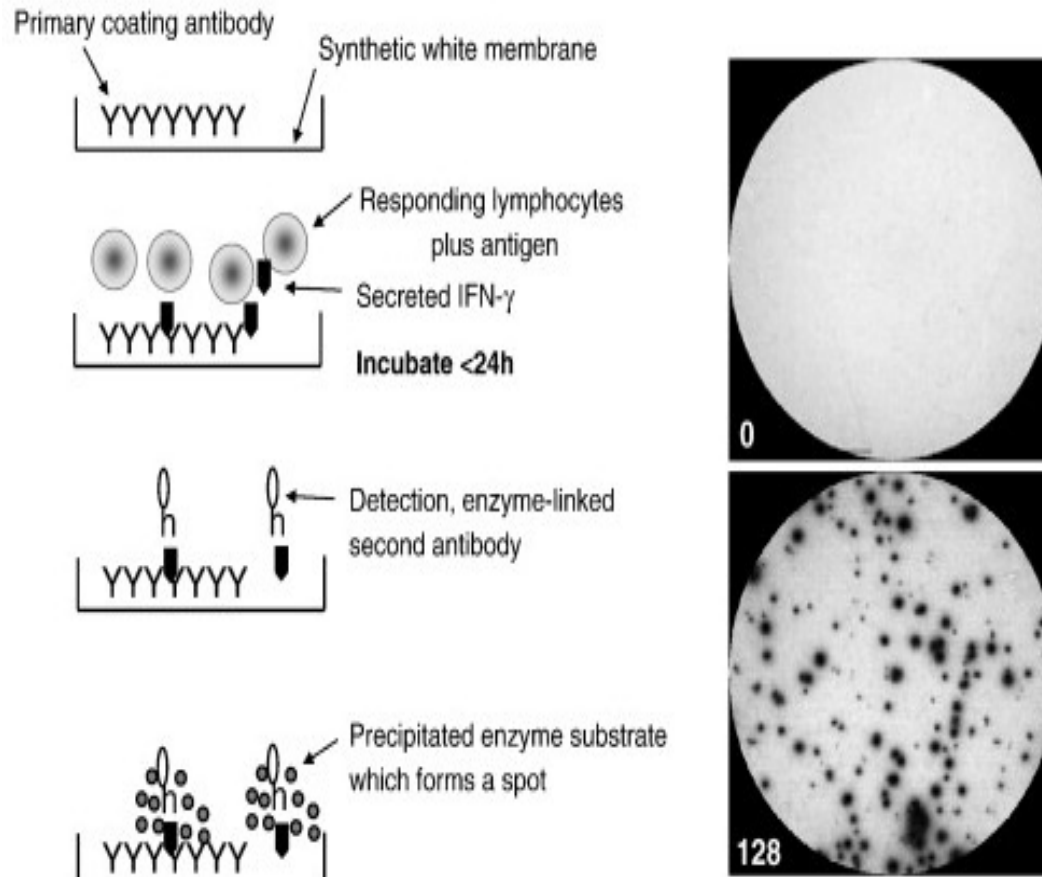
La reattività a questi antigeni è valutata in termini di produzione dell'IFN- γ da parte dei linfociti T dell'individuo.

L'unico vaccino autorizzato contro la tubercolosi è il Bacillo di Calmette-Guérin che è un ceppo attenuato di *M. bovis* che protegge dalle forme gravi quali la forma disseminata e dalla meningite tubercolare, ma non protegge dalle forme polmonari dell'adulto e del bambino.

Il TST (tuberculin skin test) è stato inizialmente effettuato utilizzando un estratto di *M. tuberculosis*, successivamente l'estratto è stato sostituito con il protein purified derivative (PPD) di *M. tuberculosis*. Tuttavia poiché il PPD contiene più di 200 antigeni che sono in comune con molti micobatteri ambientali e non tubercolari questo saggio ha una bassa specificità.

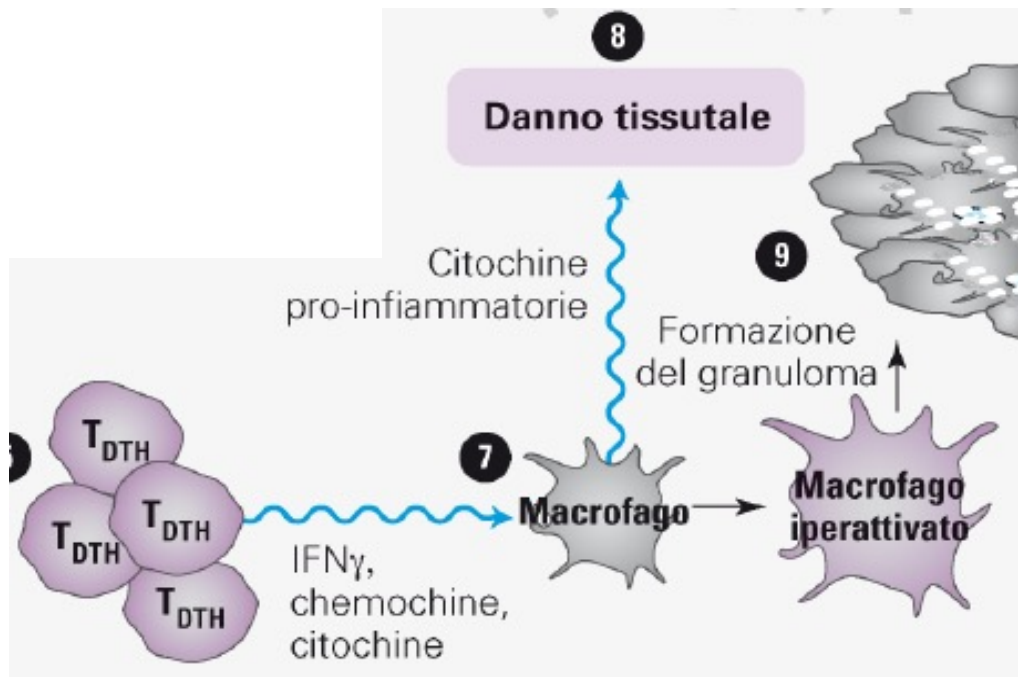
Il saggio Elispot permette di quantificare i linfociti T specifici per l'antigene produttori IFN- γ

ELISPOT Assay



La reazione DTH rappresenta il danno tissutale scatenato dai macrofagi attivati in risposta ai microrganismi intracellulari

I macrofagi attivati innescano il processo infiammatorio attraverso la produzione di IL-1, TNF- α prostaglandine, leucotrieni. Essi mediano anche il rimodellamento tissutale.



Dermatite da contatto

La dermatite allergica da contatto è una comune patologia della pelle causata dalla risposta di ipersensibilità ritardata diretta contro antigeni che entrano in contatto con la pelle.



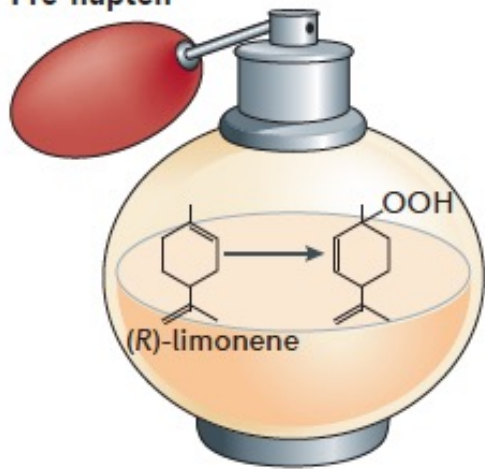
Dermatitis on arm

La dermatite allergica da contatto è caratterizzata da una reazione infiammatoria (dermatite) con un intenso eritema, edema e vesciche.

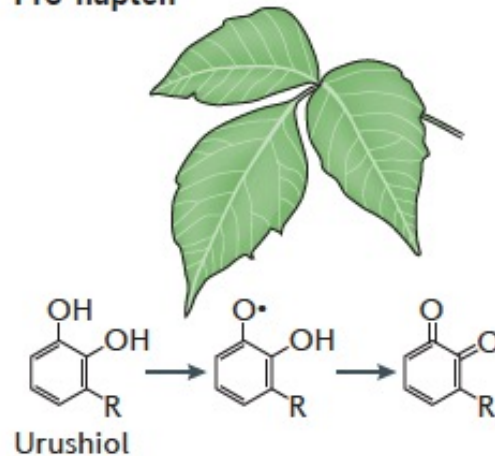
Fra le malattie professionali è la patologia della pelle più frequente (20%) ed è responsabile della perdita di 4 milioni di giorni di lavoro ed ha un costo di 400 milioni di dollari all'anno.

La maggior parte dei composti che causano dermatite da contatto con una rilevanza clinica sono piccole molecole con un $PM < 500$ Dalton chimicamente reattive. Queste molecole reagiscono con proteine autologhe per generare neo-antigeni (haptens).

Pre-hapten



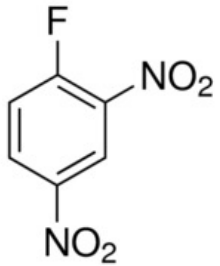
Pro-hapten



Gli allergeni da contatto sono comunemente presenti nei cosmetici, nella gioielleria, nei prodotti per l'igiene personale, ma anche nelle piante e nell'ambiente. Possono essere composti inorganici come il Nickel o organici come alcuni coloranti o fragranze.

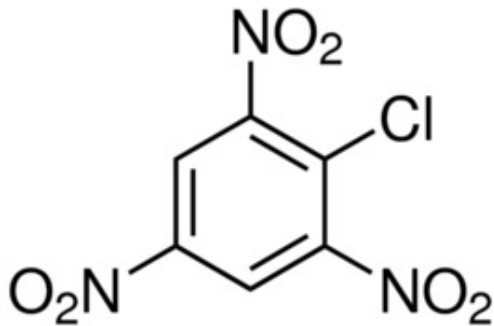
Caratteristiche degli apteni

sensibilizzanti utilizzati nel modello animale



DNFB

TNCB

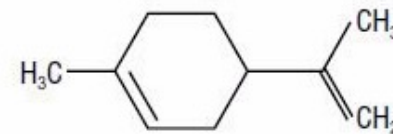


sensibilizzanti nell'uomo

Nickel

Cromo

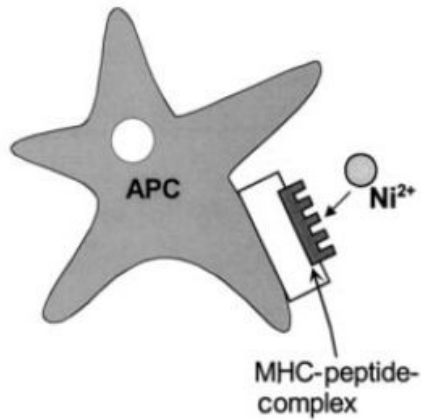
limonene



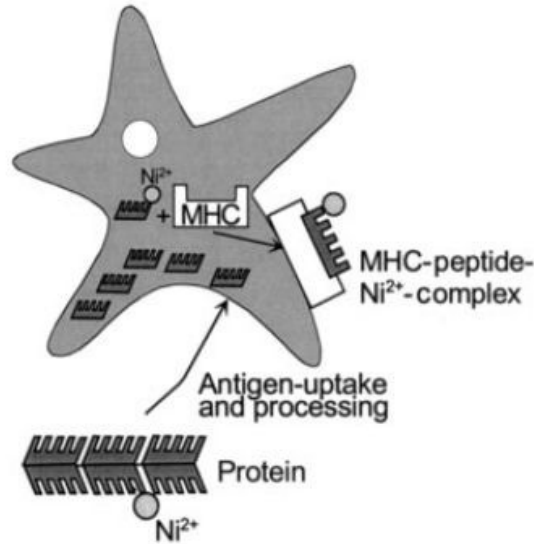
Gli apteni sono piccoli composti in grado di penetrare nella pelle e di reagire con proteine self sia attraverso modificazioni covalenti che non.

Generazione di neo antigeni

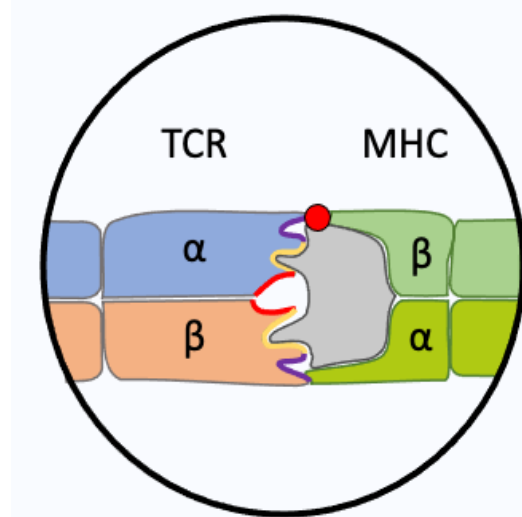
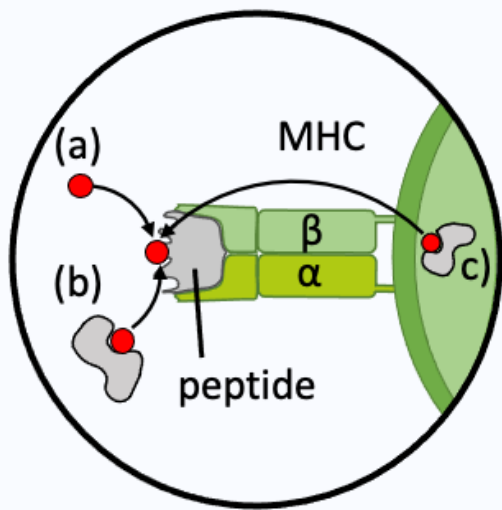
A Processing independent

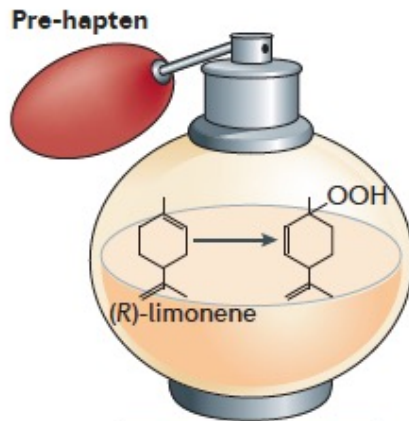


B Processing dependent

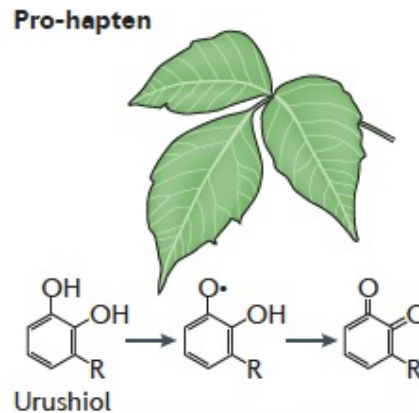


La maggior parte dei sensibilizzanti da contatto sono piccole molecole che da sole non sono immunogeniche. Nel processo di aptenizzazione i sensibilizzanti reagiscono con proteine cellulari dando origine a antigeni in grado di attivare linfociti T. Le molecole cellulari che formano legami con gli apteni possono essere le molecole MHC o proteine cellulari che devono essere processate.

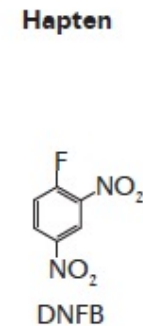




Pre-haptens oxidize before skin contact



Pro-haptens are oxidized by the host after contact

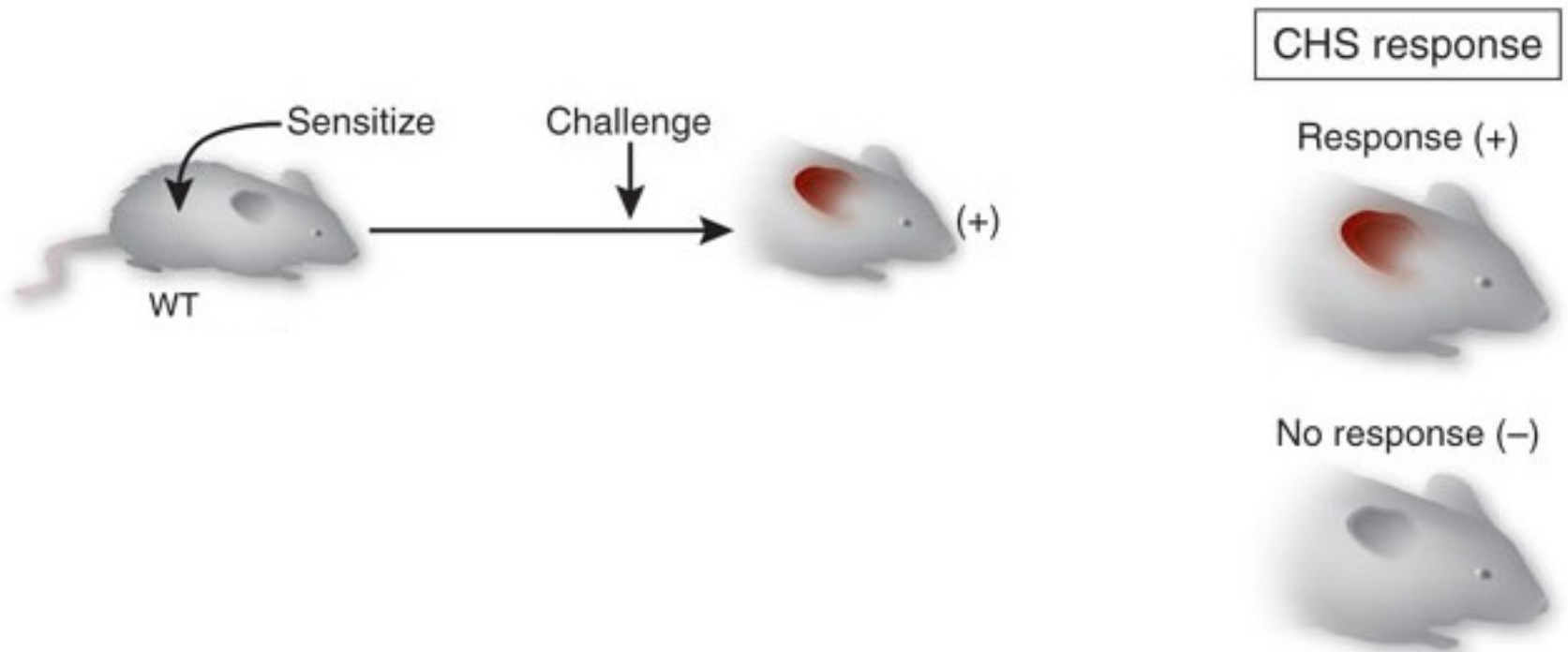


Complete haptens are directly reactive

Gli apteni sono composti in grado di formare legami con proteine dell'ospite. I pro-apteni non sono chimicamente reattivi ma devono essere convertiti da enzimi dell'ospite per diventare chimicamente reattivi (citocromo P450, alcol deidrogenasi). I pre-apteni sono trasformati in apteni attraverso una semplice trasformazione chimica (es: ossidazione dell'aria).

Contact hypersensitivity

L'ipersensibilità da contatto è un sistema sperimentale utilizzato per studiare la dermatite allergica da contatto umana. Questo modello utilizza i topi e consiste nell'applicazione sull'addome di apteni che sono composti lipofilici (es: dinitrofluorobenzene) in solventi organici. Dopo 5-7 giorni lo stesso composto viene applicato sull'orecchio o sulla zampa dell'animale. Il rigonfiamento che si osserva è indice della risposta effettrice generata.

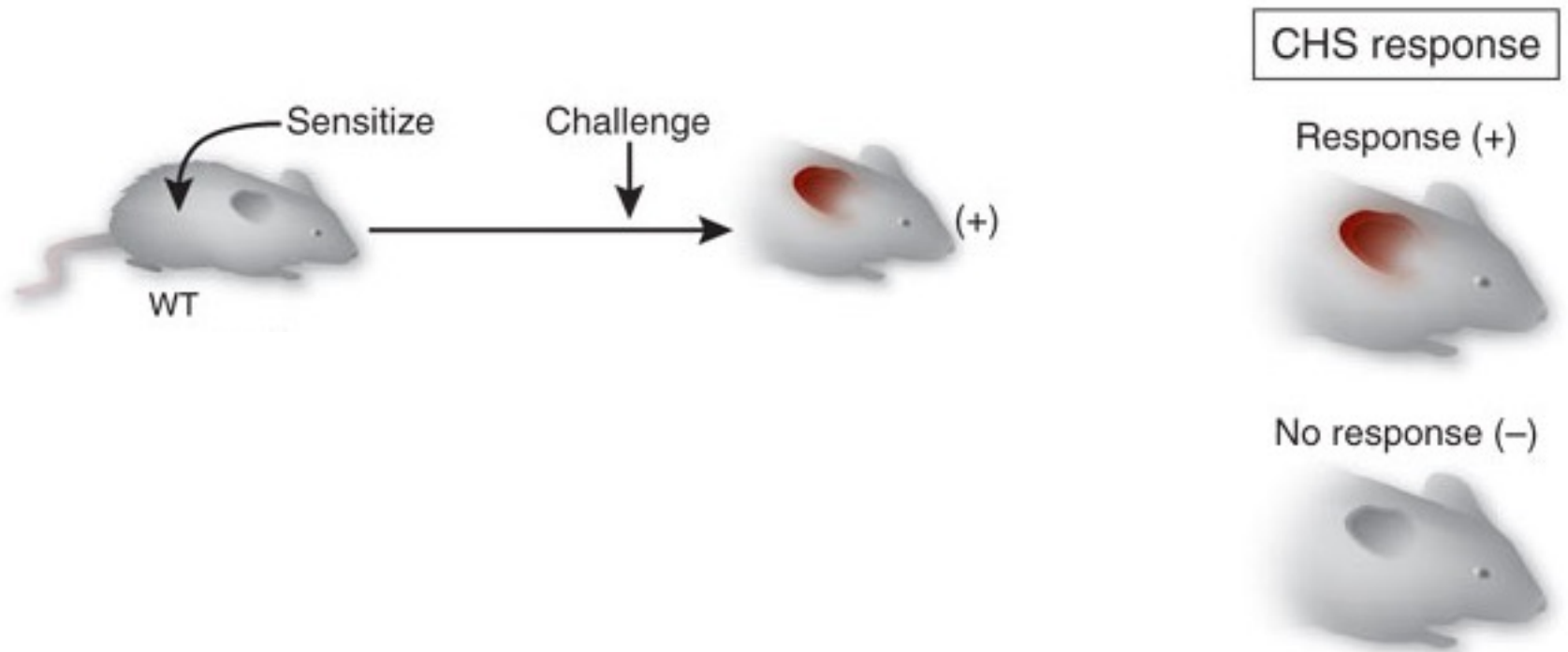


Allergen	Allergic response	Mechanism(s) of recognition	Comment
Dinitrofluorobenzene (DNFB), trinitrochlorobenzene (TNCB)	Contact hypersensitivity in mice	Induce hyaluronic acid degradation products that activate TLR2 and TLR4, and induce ATP release that leads to inflammasome activation ^{20,29}	Commonly used experimental haptens

Contact hypersensitivity

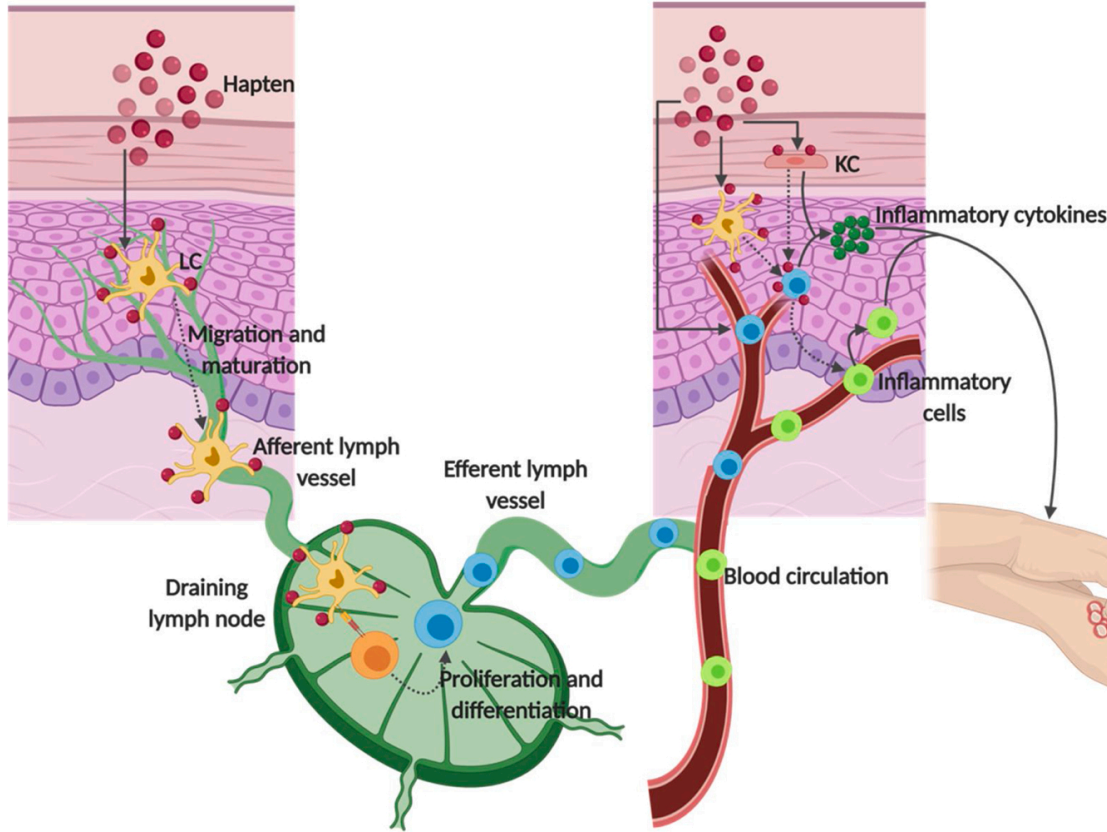
Nell'uomo la dermatite allergica da contatto si sviluppa dopo ripetute esposizioni al composto sensibilizzante. Nel modello animale sono applicati composti lipofilici per 1-2 giorni e a distanza di 5 giorni viene ri-applicato il composto.

L'ipersensibilità da contatto è considerato un esempio di risposta di ipersensibilità di tipo IV e rappresenta un modello di studio appropriato di dermatite allergica da contatto.



Allergen	Allergic response	Mechanism(s) of recognition	Comment
Dinitrofluorobenzene (DNFB), trinitrochlorobenzene (TNCB)	Contact hypersensitivity in mice	Induce hyaluronic acid degradation products that activate TLR2 and TLR4, and induce ATP release that leads to inflammasome activation ^{20,29}	Commonly used experimental haptens

Fasi che caratterizzano lo sviluppo della dermatite allergica da contatto: i) fase di sensibilizzazione e ii) fase effettrice



Fase di sensibilizzazione (induzione, fase afferente):

In questa fase avviene il riconoscimento del complesso aptene-proteina autologa da parte del sistema immune dell'individuo e questa fase determina la generazione di linfociti T CD4+ e T CD8+ specifici per il complesso aptene-proteina nei linfonodi.

Fase effettrice (fase efferente) in questa fase il contatto con il complesso aptene-proteina autologa favorisce la migrazione dei linfociti T nella pelle inducendo la morte dei cheratinociti e promuovendo il processo infiammatorio.

Fase di sensibilizzazione

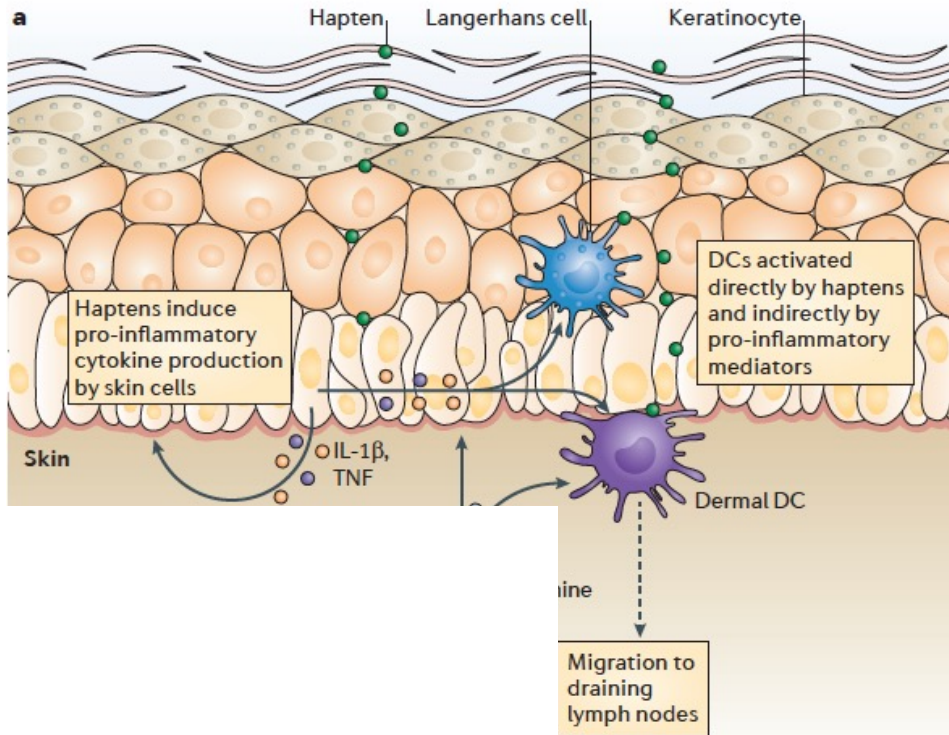
Questa fase ha luogo al primo contatto dell'aptene con la pelle.

La capacità dell'aptene di indurre sensibilizzazione dipende da due caratteristiche:

i) capacità di attivare le cellule dendritiche.

ii) capacità di generare nuovi antigeni interagendo con molecole autologhe.

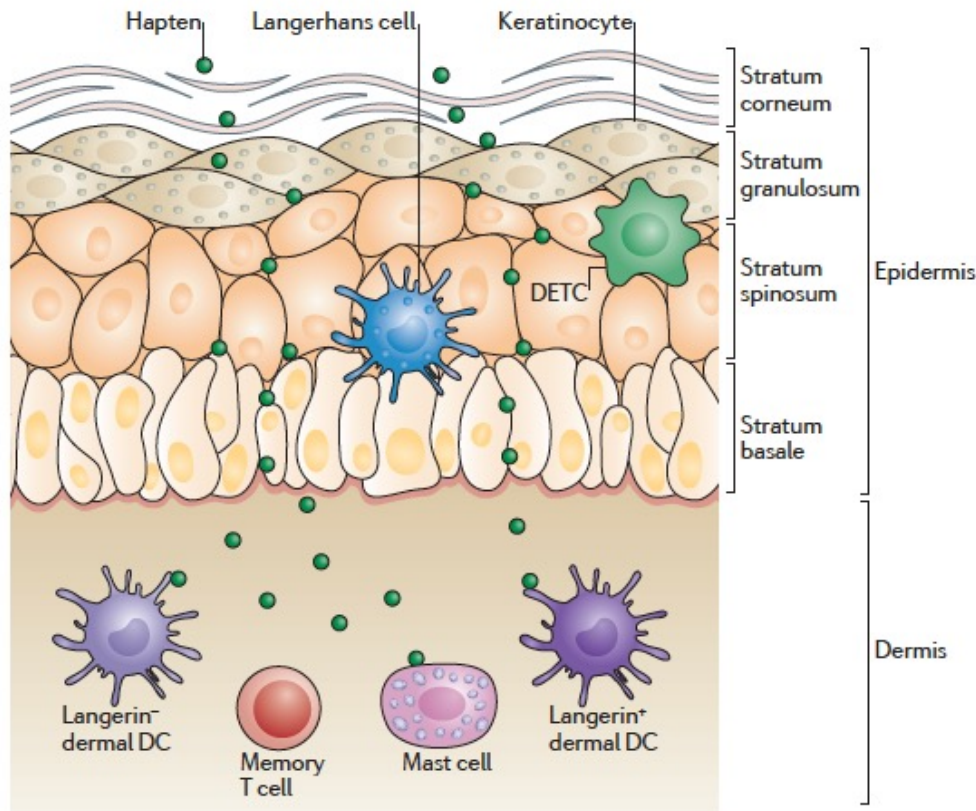
gli apteni devono attraversare lo strato corneo della pelle per poter reagire con le cellule dell'immunità innata e con le proteine cellulari



Box 2 | Essential steps for the induction of allergic contact dermatitis

- Percutaneous penetration of the hapten
- Haptenization of self proteins
- Epidermal and dermal inflammation
- Dendritic cell activation and migration from the skin to local lymph nodes

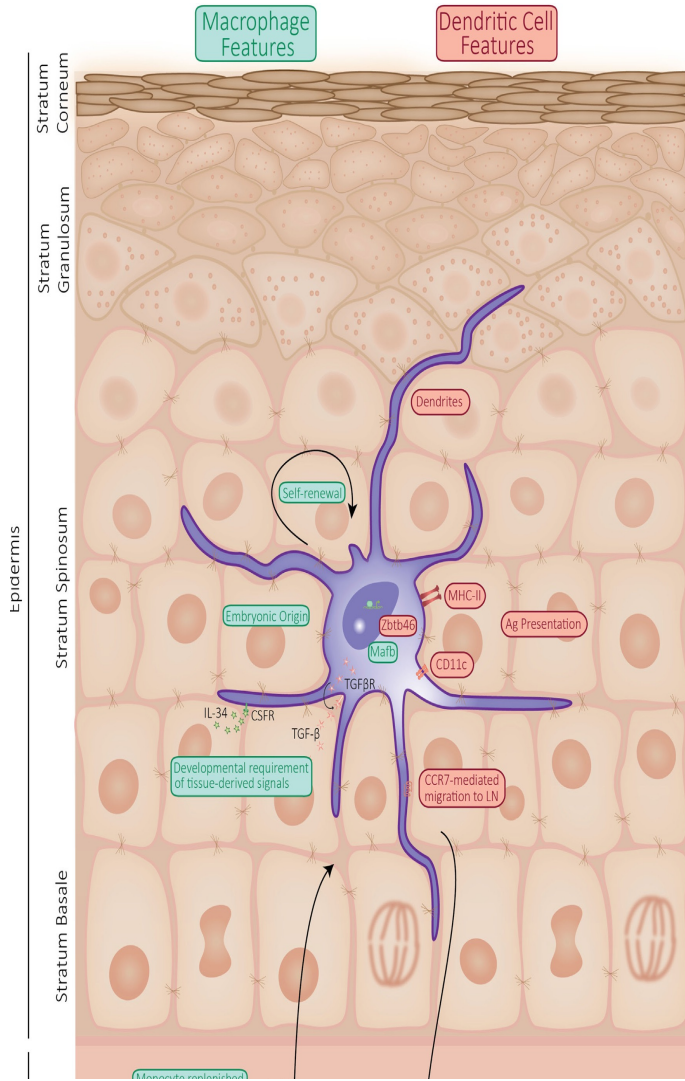
Sottopopolazioni di cellule dendritiche nella dermatite da contatto



L'evento fondamentale nell'inizio della dermatite da contatto è il priming dei linfociti T CD4+ e CD8+ specifici per l'aptene che in seguito ad attivazione proliferano e si differenziano in cellule effettrici.

Nell'epidermide sono presenti le cellule dei Langerhans mentre nel derma sono presenti le cellule dendritiche del derma che possono essere distinte in base all'espressione della molecola Langerin.

Caratteristiche delle cellule di Langerhans



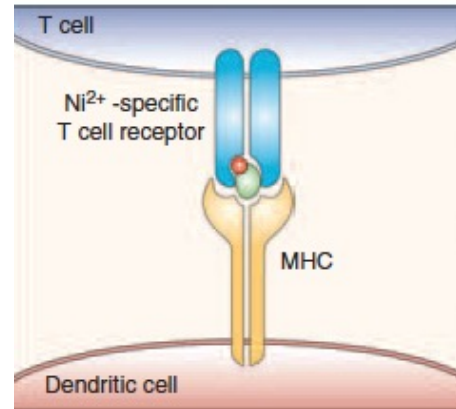
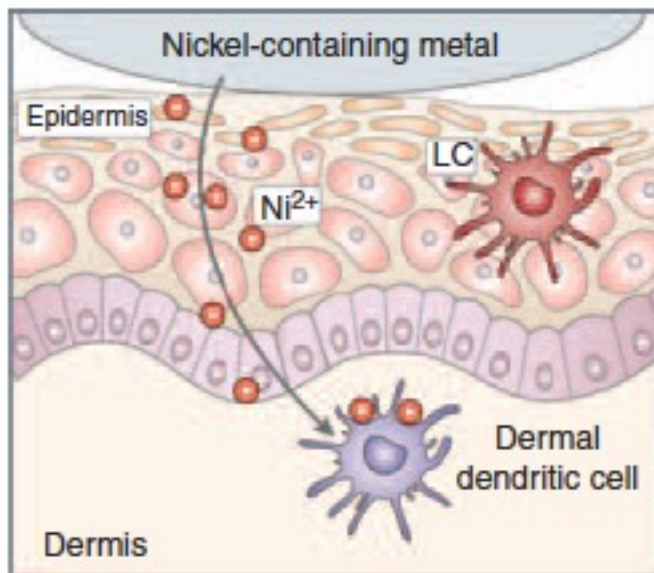
Le cellule di Langerhans (LC) presentano caratteristiche comuni ai macrofagi e alle cellule dendritiche.

Similmente ai macrofagi le LC originano da un precursore comune ai macrofagi e di origine embrionaria e si autorinnovano al livello dell'epidermide.

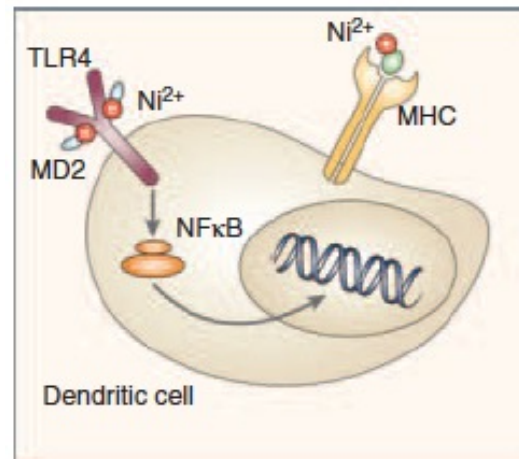
Le LC, in comune con le cellule dendritiche, sono in grado di captare e processare gli antigeni e di migrare nei linfonodi dove attivano i linfociti T naive.

Fase di sensibilizzazione

1) Nella fase di sensibilizzazione l'aptene penetra nella pelle.

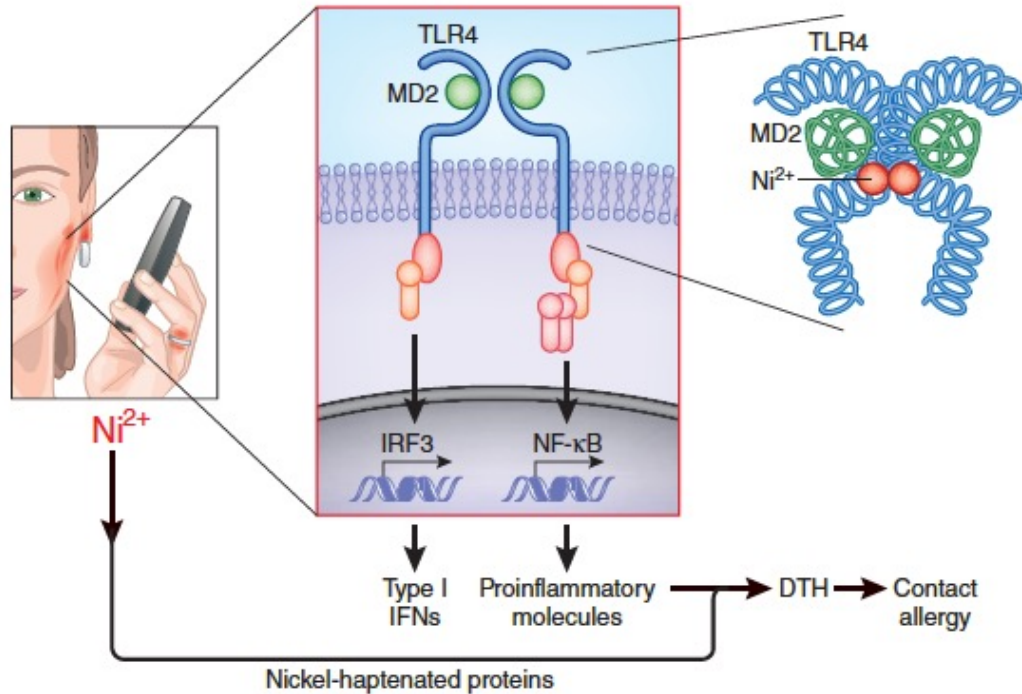


2) L'aptene reagisce con le molecole MHC o con altre proteine dell'individuo modificando il "self" in "non self"



3) L'aptene attiva le cellule dendritiche condizione necessaria affinché le DC possano attivare i linfociti T specifici per i complessi proteina-aptene.

Attivazione delle cellule presentanti l'antigene da parte del Nickel

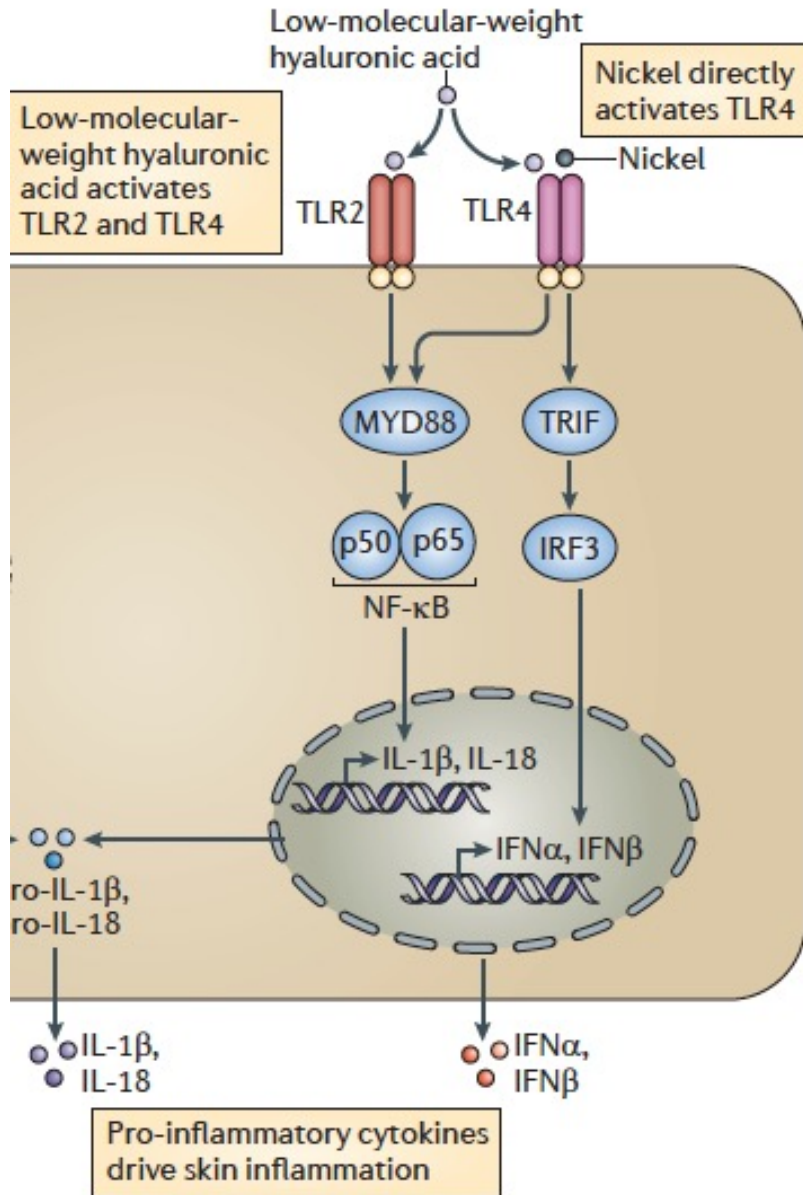


Alcuni sensibilizzanti sono in grado di attivare le cellule dendritiche stimolando direttamente i TLR. Il Nickel lega il TLR4 attivando le DC che migreranno nei linfonodi dove presenteranno i nuovi antigeni, generati dal legame fra l' Ni^{2+} con le proteine cellulari, ai linfociti T.

I Toll like receptor sono una famiglia di recettori espressi dalle cellule dell'immunità innata (epiteliali, DC monociti, macrofagi, neutrofili) che riconoscono i pathogen associated molecular patterns (PAMPs). La stimolazione dei TLR induce la maturazione delle DC e la secrezione di citochine pro-infiammatorie.

Figure 1 Contact allergy, shown as erythema in this figure, is commonly induced by nickel ions present in nickel-containing jewelry such as rings and earrings, as well as in nickel-containing cellular telephones. Nickel ion (Ni^{2+}) is shown to bind directly to TLR4, particularly at histidine residues located in the region of interaction where TLR4-MD2 molecules form homodimers with one another. This binding is sufficient for activation of TLR4 (in the absence of LPS) and the subsequent transcription of IRF3 and NF- κ B. The later production of type I interferons (IFN) and proinflammatory molecules provides a necessary and cooperative signal that synergizes with delayed-type hypersensitivity (DTH) responses triggered by nickel-haptenated proteins, leading to contact allergy.

Gli apteni attivano i Toll like receptors

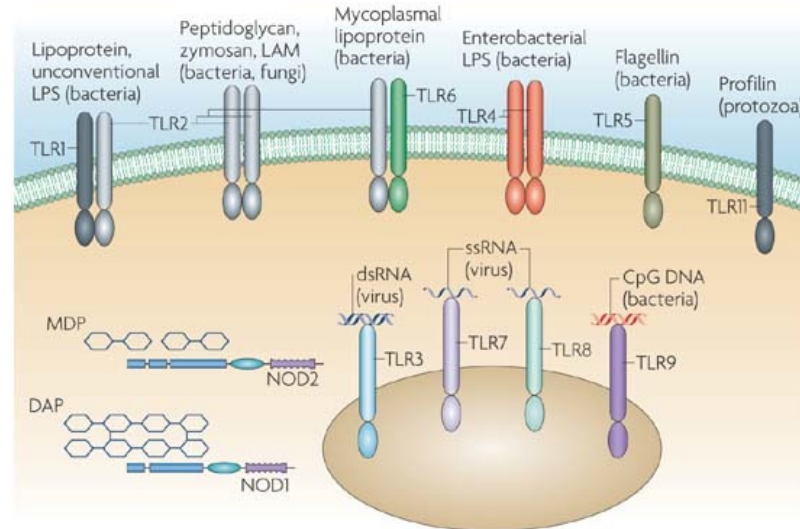
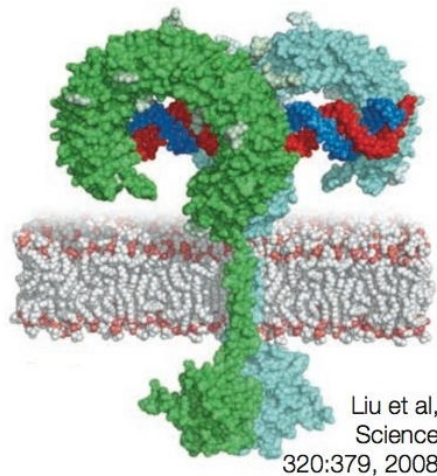


Non tutti i composti che causano dermatite da contatto attivano direttamente i TLR. Nel modello murino è stato dimostrato che in assenza di TLR2 e TLR4 gli animali non sono sensibilizzati e non sviluppano la reazione al TNCB. I TLR2 e TLR4 riconoscono derivati a basso peso molecolare dell'acido ialuronico che sono formati in seguito alla produzione di specie reattive dell'ossigeno indotte dall'aptene sulle cellule della pelle.

Struttura e localizzazione dei TLR

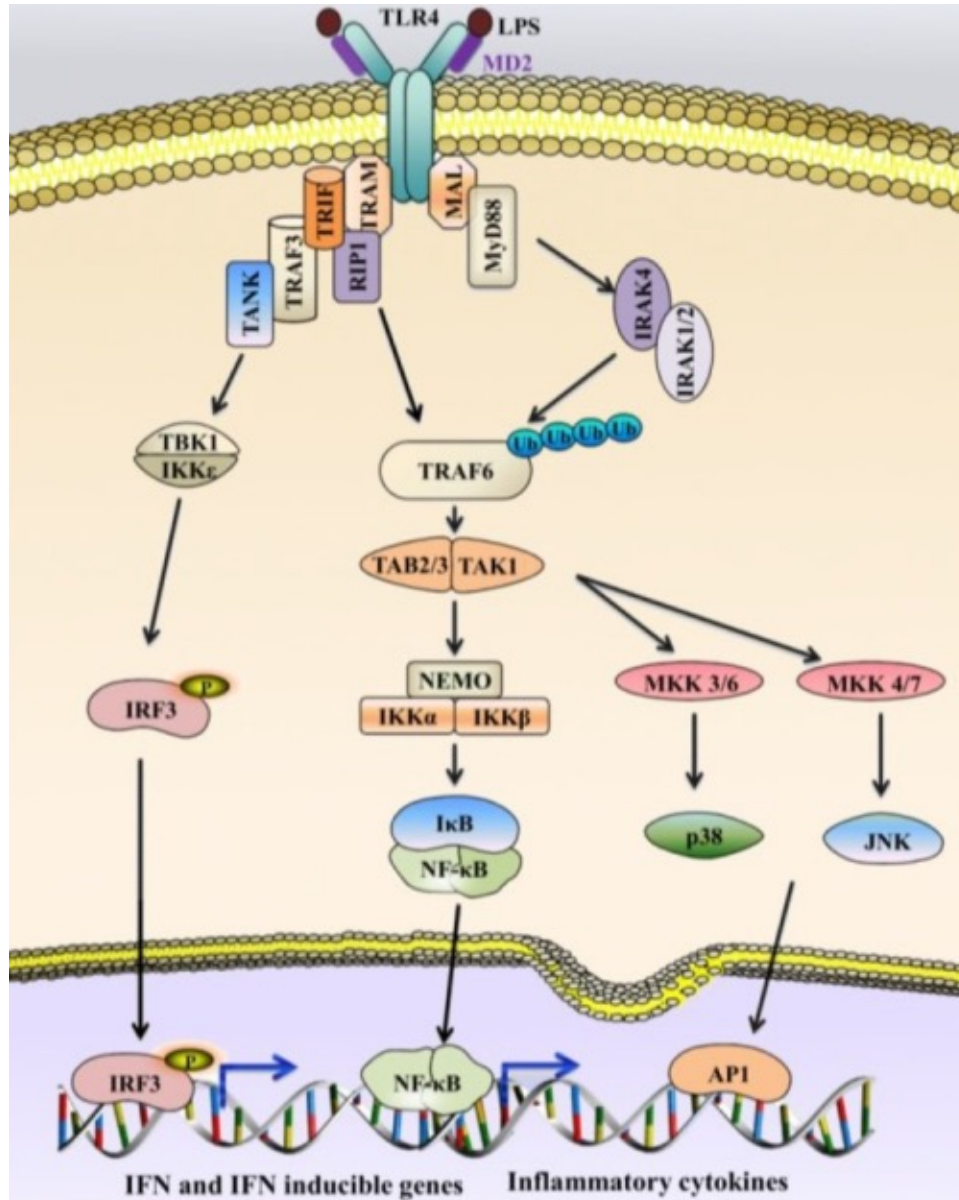
I toll like receptors sono glicoproteine integrali di membrana contenenti nella regione extracellulare ripetizioni di sequenze ricche in leucina definite Leucin Rich Domain (LRC).

La regione intracitoplasmatica contiene un dominio responsabile dell'attivazione cellulare definito TIR (Toll/IL-1 receptor homology domain).



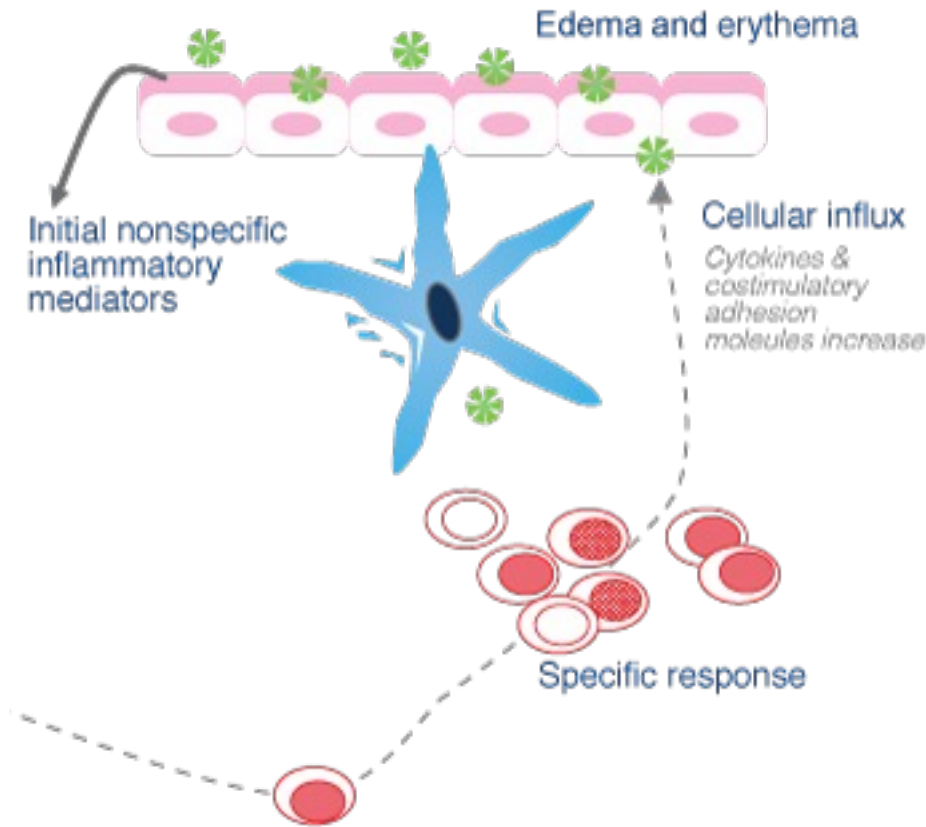
In base alla localizzazione i TLRs possono essere distinti in TLRs di membrana e TLRs presenti nelle vescicole intracitoplasmatiche quali RE, endosomi e lisosomi.

Il TLR4 è stato il primo TLR descritto e si lega al LPS una componente della membrana esterna dei batteri Gram-negativi. **TLR1-10** nell'uomo



Fase effettrice

Elicitation Phase

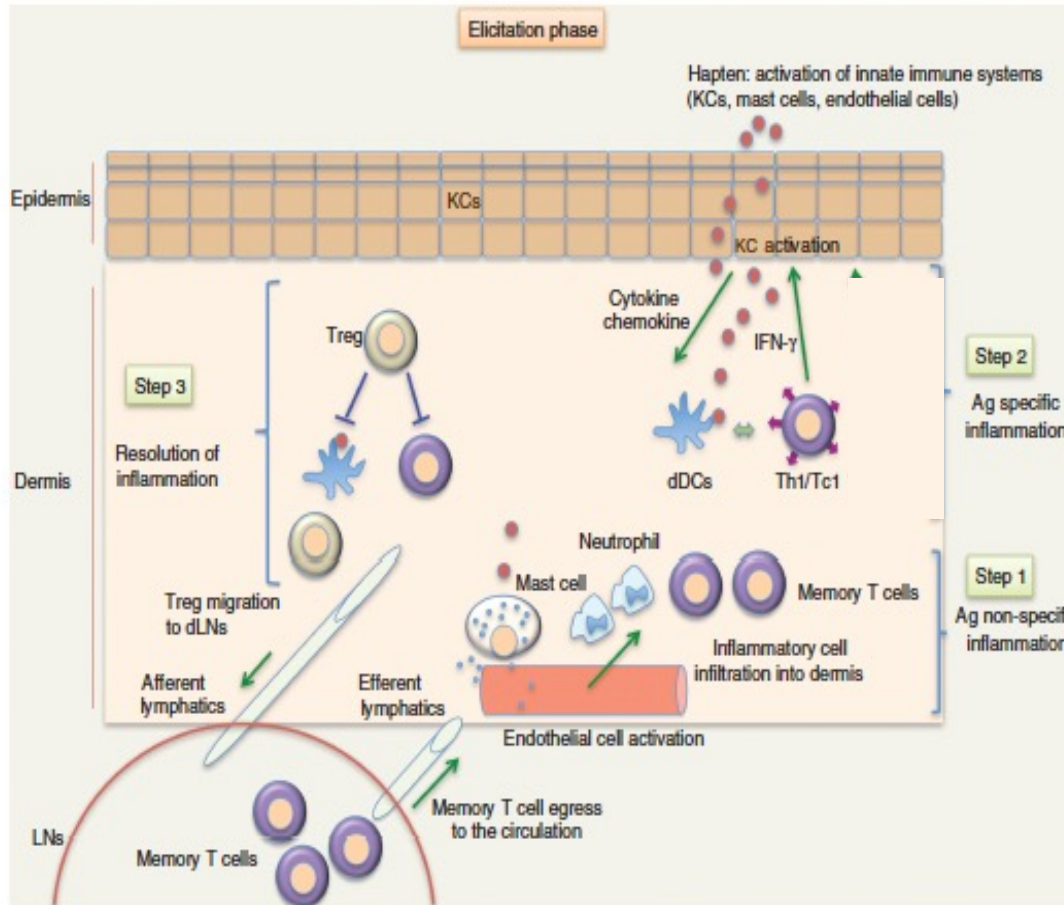


Il danno tissutale nella dermatite allergica da contatto o ipersensibilità da contatto è tipicamente mediato dai linfociti T CD8+.

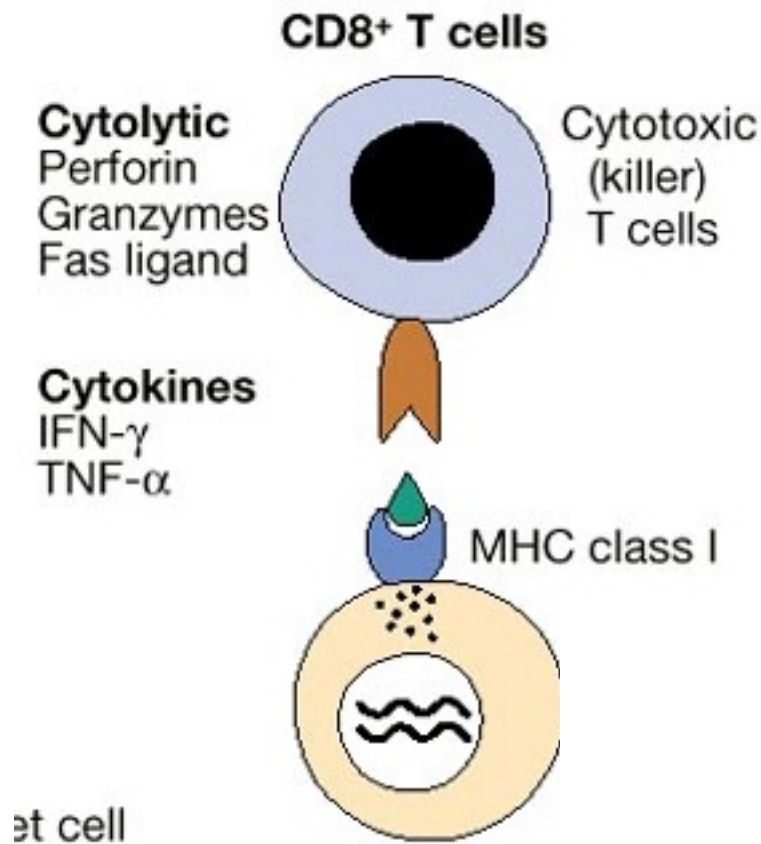
Nel modello murino è stato dimostrato che:

- i) i topi KO per le molecole MHC di classe I non sviluppano ipersensibilità da contatto
- ii) i topi deficienti nelle molecole MHC di classe II sviluppano ipersensibilità da contatto in modo più pronunciato.

L'infiammazione nella fase effettrice



Il processo infiammatorio all'inizio della fase effettrice è mediato dall'azione dell'aptene sulle cellule dell'immunità innata in particolare sui cheratinociti, i neutrofili e i mastociti. Tali cellule rilasciano citochine quali il $TNF-\alpha$ e l' $IL-1\beta$ che agiscono sulle cellule endoteliali inducendo l'espressione di molecole d'adesione come ICAM e le P/E selettine. Le modificazioni dell'endotelio guidano i linfociti T circolanti e specifici per i neo-antigeni a trasmigrare nel tessuto.

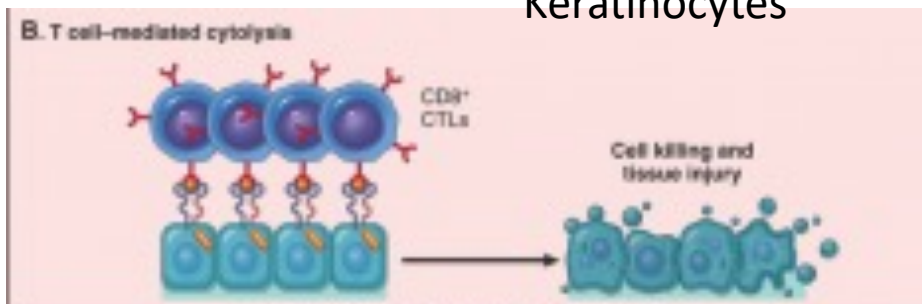


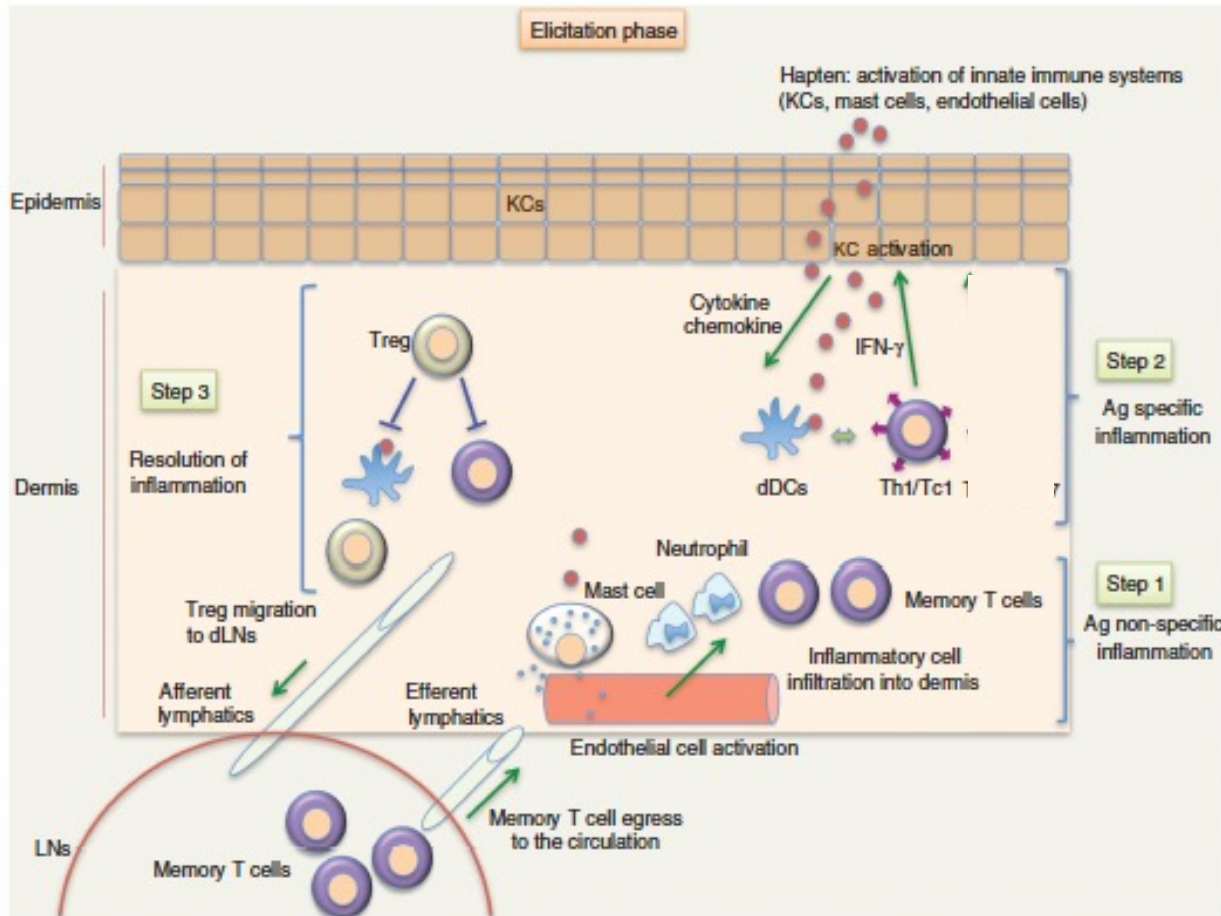
I linfociti T CD8⁺ mediano il danno tissutale nella ipersensibilità da contatto mediante la distruzione dei cheratinociti attraverso l'interazione FAS-FASL.

Inoltre i linfociti T CD8⁺ contribuiscono insieme ai linfociti T CD4⁺ alla produzione di citochine quali TNF- α , IFN- γ .

L'IFN- γ è un attivatore dei cheratinociti nei quali induce l'espressione delle molecole HLA di classe II, molecole di adesione ed il rilascio di citochine pro-infiammatorie.

Keratinocytes





In seguito alla migrazione dei linfociti T nel tessuto, ha inizio l'infiammazione mediata dai linfociti T. In particolare i linfociti helper che infiltrano il tessuto in seguito all'interazione con le cellule presentanti l'antigene secernono IFN- γ stimolando i cheratinociti a produrre chemochine che richiamano altri linfociti T.

Anche i linfociti T regolatori infiltrano i siti infiammati.

I Treg sopprimono la risposta infiammatoria nel modello murino attraverso la produzione di IL-10 e attraverso la generazione di adenosina che sopprime l'attivazione dei leucociti.

Dermatite da contatto indotta dal Nickel

La dermatite da contatto è una malattia infiammatoria della pelle caratterizzata da lesioni eczematose. Il Nickel rappresenta il più comune allergene da contatto con più del 10% di individui positivi allo skin test. Il Nickel induce una dermatite da contatto causata da una reazione di ipersensibilità ritardata. Nelle reazioni di ipersensibilità da contatto causate da composti chimici applicati alla pelle, il danno tissutale è mediato dall'azione litica dei linfociti T CD8+ e dalla amplificazione del processo infiammatorio attraverso la produzione di IFN- γ e TNF- α da parte dei linfociti T CD4+ e CD8+.

Allergen	Allergic response	Mechanism(s) of recognition	Comment
Nickel	Allergic contact dermatitis in humans	Engages two histidine residues in human TLR4; does not bind to mouse TLR4 (REF. 32)	Most common contact allergen; barrier disruption increases the rate of sensitization ³⁶

Meccanismo di presentazione del Nickel

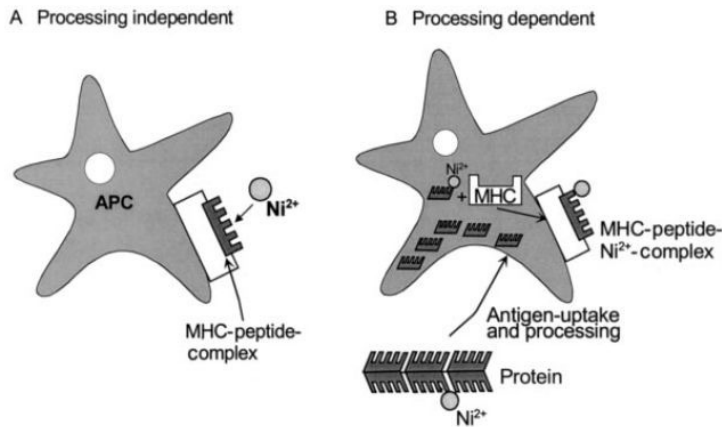


Figure 1. Mechanisms of metal ion (e.g., Ni²⁺) presentation. Two pathways of metal ion presentation are outlined: A) To become a complete antigen, the metal ion binds directly to a MHC-bound peptide (processing-independent presentation). B) The metal ions form coordinative bonds to cysteine or histidine residues of soluble or membrane-bound proteins. The modified proteins are taken up by antigen-presenting cells (APC), and are processed and presented to T cells as metal-peptide complexes on MHC molecules.

Il nickel è un metallo ampiamente presente in natura che deve legarsi a proteine per diventare immunogenico. I meccanismi attraverso i quali l' Ni^{2+} viene presentato includono il legame dell' Ni^{2+} alla molecola MHC o il legame a proteine cellulari che sono processate e presentate in associazione alle molecole MHC.

Dermatite da contatto causata dal Nickel

Le DC della pelle sono attivate dal Nickel attraverso la stimolazione del TLR e presentano proteine modificate dal legame con il Nickel.

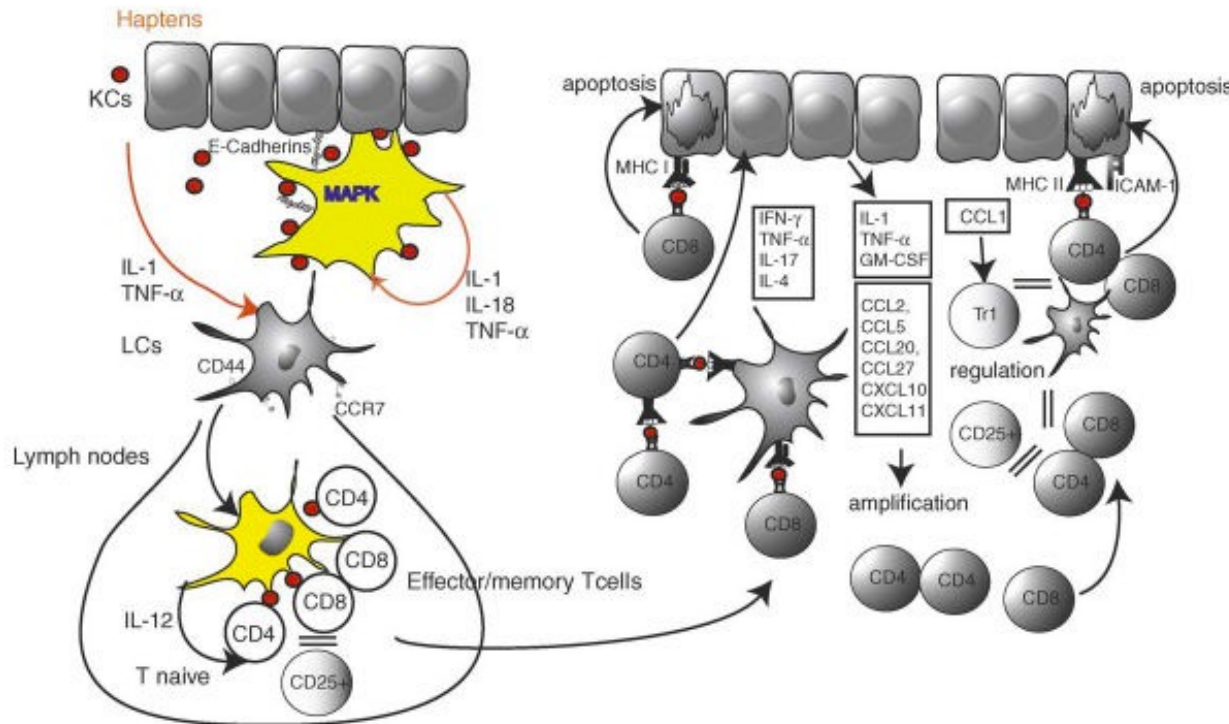
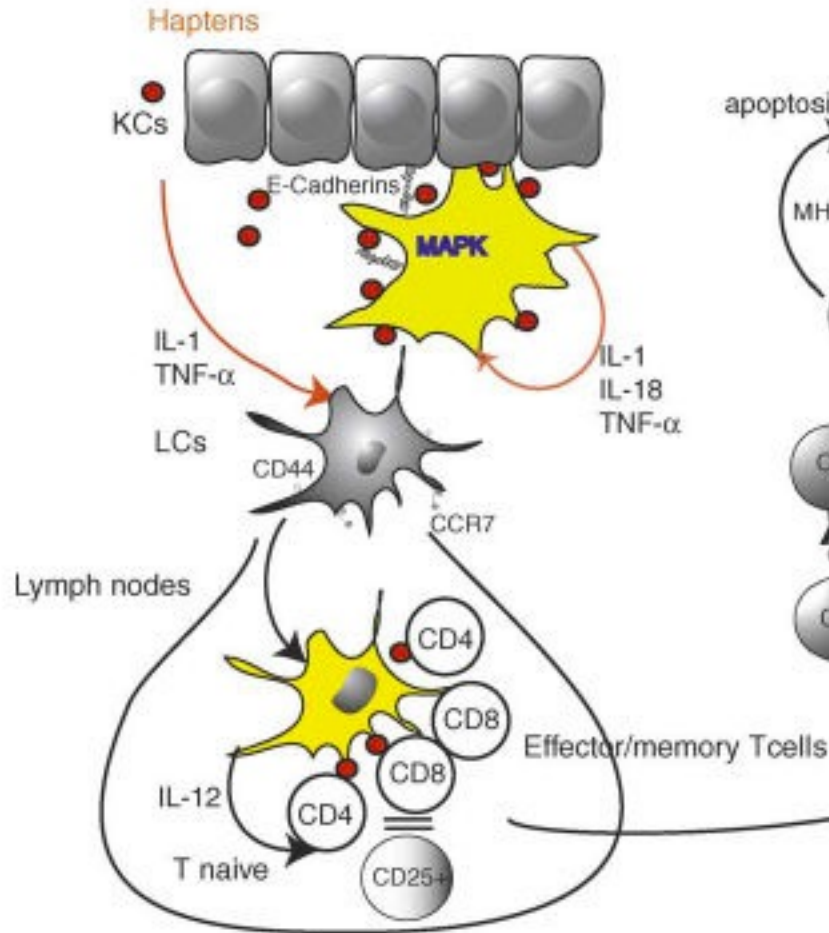
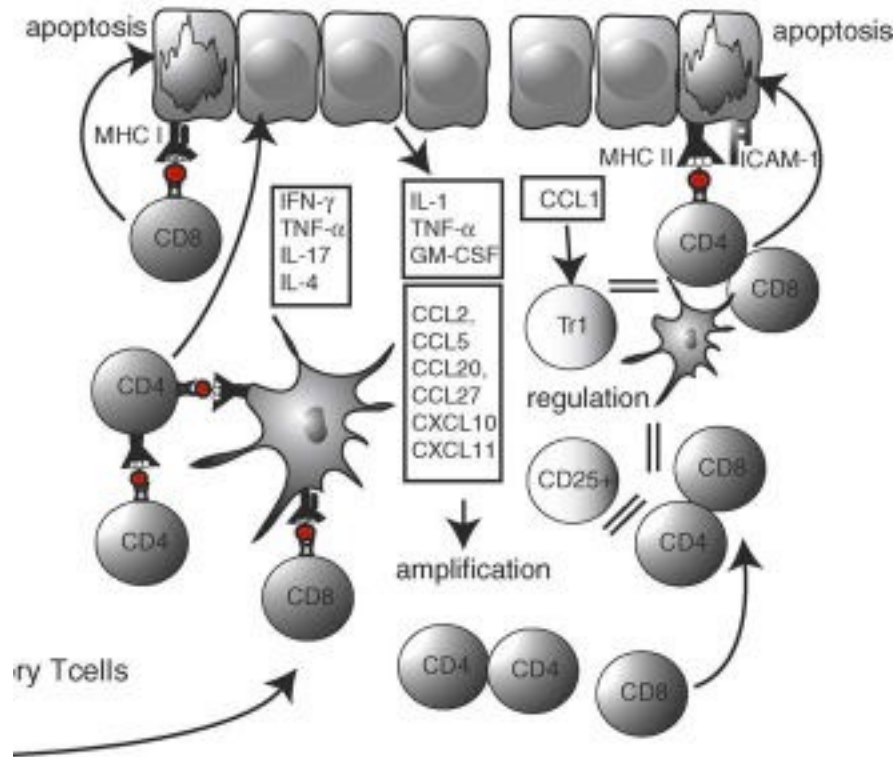


Fig. 1. Expression and regulation of allergic contact dermatitis to nickel. Nickel activates skin dendritic cells promoting their migration to regional lymph nodes, where T cell priming occurs. Memory/effector T cells, thanks to the expression of skin homing receptors, are rapidly recruited at the site of nickel challenge. Keratinocyte apoptosis is mostly due to the intervention of nickel-specific CD8⁺ T cells. Type 1 cytokines released by activated CD4⁺ and CD8⁺ T cells activate keratinocytes and other resident cells, which in turn release cytokines and chemokines for the amplification of the inflammatory reaction. CCL1, produced by keratinocytes, dendritic cells and activated T cells is critical for the recruitment of regulatory T cell subsets. Tr1, through the release of IL-10 blocks the activation of T cells by impairing the antigen presenting function of dendritic cells. CD25⁺ T cells inhibit the activation of both effector and naïve T cells through a cell-to-cell contact mechanism.

Fase di sensibilizzazione



Le cellule DC della cute sono attivate dal nickel e migrano nei linfonodi dove attivano le cellule Th1 e i linfociti T CD8+.



I linfociti T CD8+ e Th1 specifici per i complessi Nickel proteina autologa migrano nella zona dove è penetrato il Nickel e causano lisi dei cheratinociti che hanno legato il nickel.

I linfociti T CD4+ e CD8+ attraverso la produzione di citochine attivano i cheratinociti e altre cellule dell'immunità innata che a loro volta attraverso la produzione di citochine sostengono il processo infiammatorio.

Nel modello murino è stato dimostrato che nelle reazioni allergiche da contatto il danno tissutale è mediato principalmente dalle cellule T CD8+ che sono in grado di lisare i cheratinociti che presentano il metallo in associazione alle molecole di classe I del MHC.

Anche nell'uomo un accumulo di cellule T CD8+ è stato dimostrato in reazioni di ipersensibilità da contatto. Le citochine Th1 rilasciate dai linfociti T CD4+ e CD8+ sono coinvolte nell'amplificazione del processo infiammatorio.

In particolare l'IFN- γ attiva i cheratinociti che a loro volta producono citochine e chemochine responsabili del reclutamento di linfociti T.

Malgrado il ripetuto contatto con il metallo la maggior parte degli individui non sviluppa risposte immuni clinicamente evidenti.

- Negli individui non allergici linfociti T CD4+ specifici per il metallo sono facilmente isolati.
- Linfociti T CD8+ sono rari negli individui non allergici.
- Circa il 20% delle cellule Nickel specifiche negli individui non allergici produce IL-10 che è in grado di bloccare la maturazione delle cellule dendritiche.
- Cellule T regolatorie CD4+ CD25+ potrebbero modulare la risposta al Nickel negli individui non allergici.

Patch test



Il patch test è una procedura diagnostica standardizzata necessaria per confermare la dermatite da contatto.

In questo test i potenziali sensibilizzanti sono applicati sulla schiena del paziente. Dopo 2 giorni il sito di applicazione di ciascun sensibilizzante viene valutato.

Un patch test positivo è indicato dalla presenza di dermatite che ricapitola la fase effettrice della dermatite da contatto.

Questo test permette di identificare il sensibilizzante.

Il trattamento della dermatite da contatto consiste nell'evitare il sensibilizzante. La dermatite viene trattata con corticosteroidi.