

PATOLOGIA GENERALE

Basi immunopatologiche delle malattie

Docente Ricciarda Galandrini

- **IMMUNOLOGIA - EdiSES**

Richard Coico, Geoffrey Sunshine, Eli Benjamini

- **LE BASI DELL'IMMUNOLOGIA-Zanichelli**

Thao Doan, Roger Melvold, Susan Viselli, Carl Waltenbaugh

- **Materiale lezioni**

contatti:

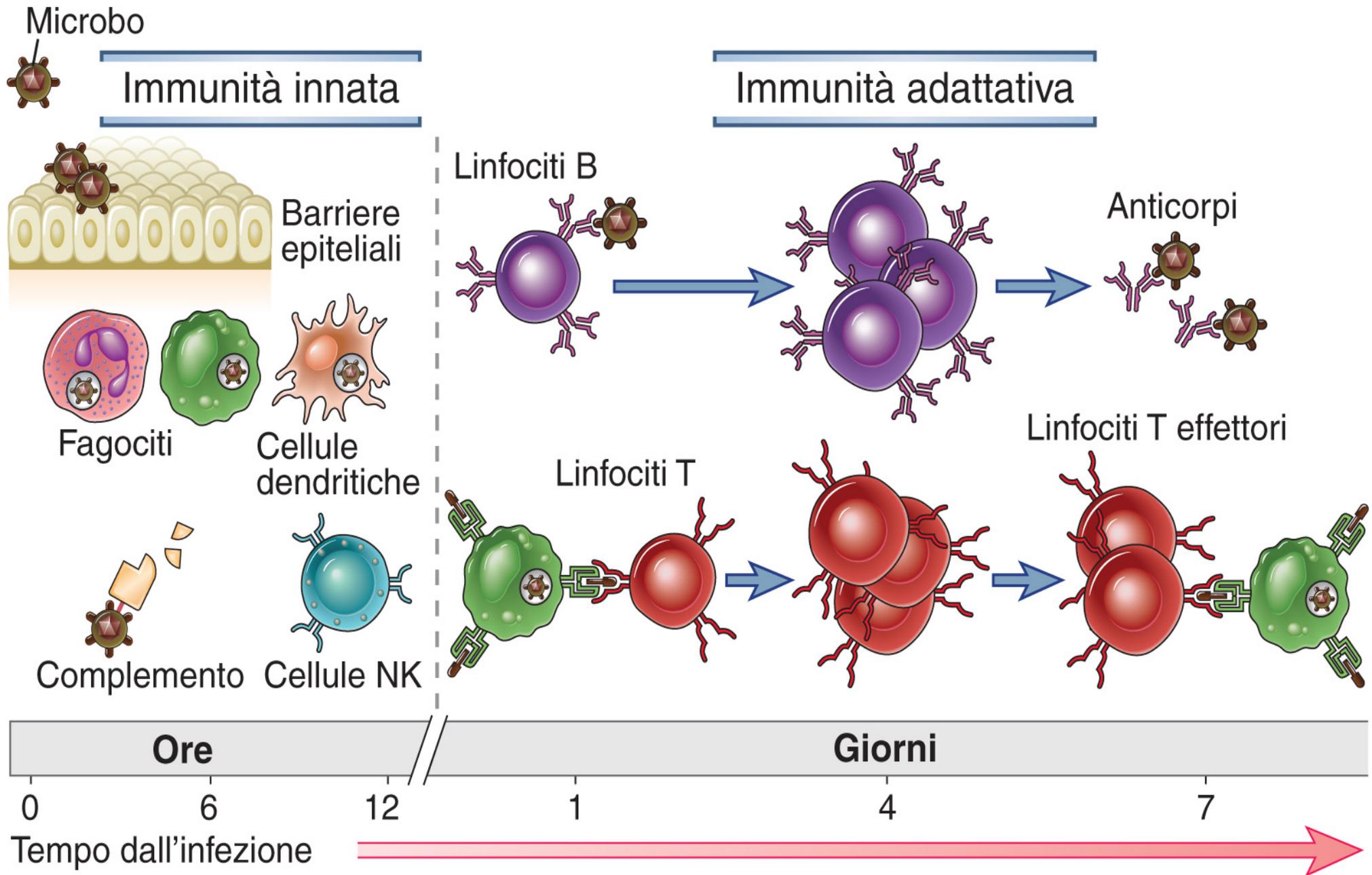
E-mail: ricciarda.galandrini@uniroma1.it

OBIETTIVI DEL MODULO DI PATOLOGIA GENERALE

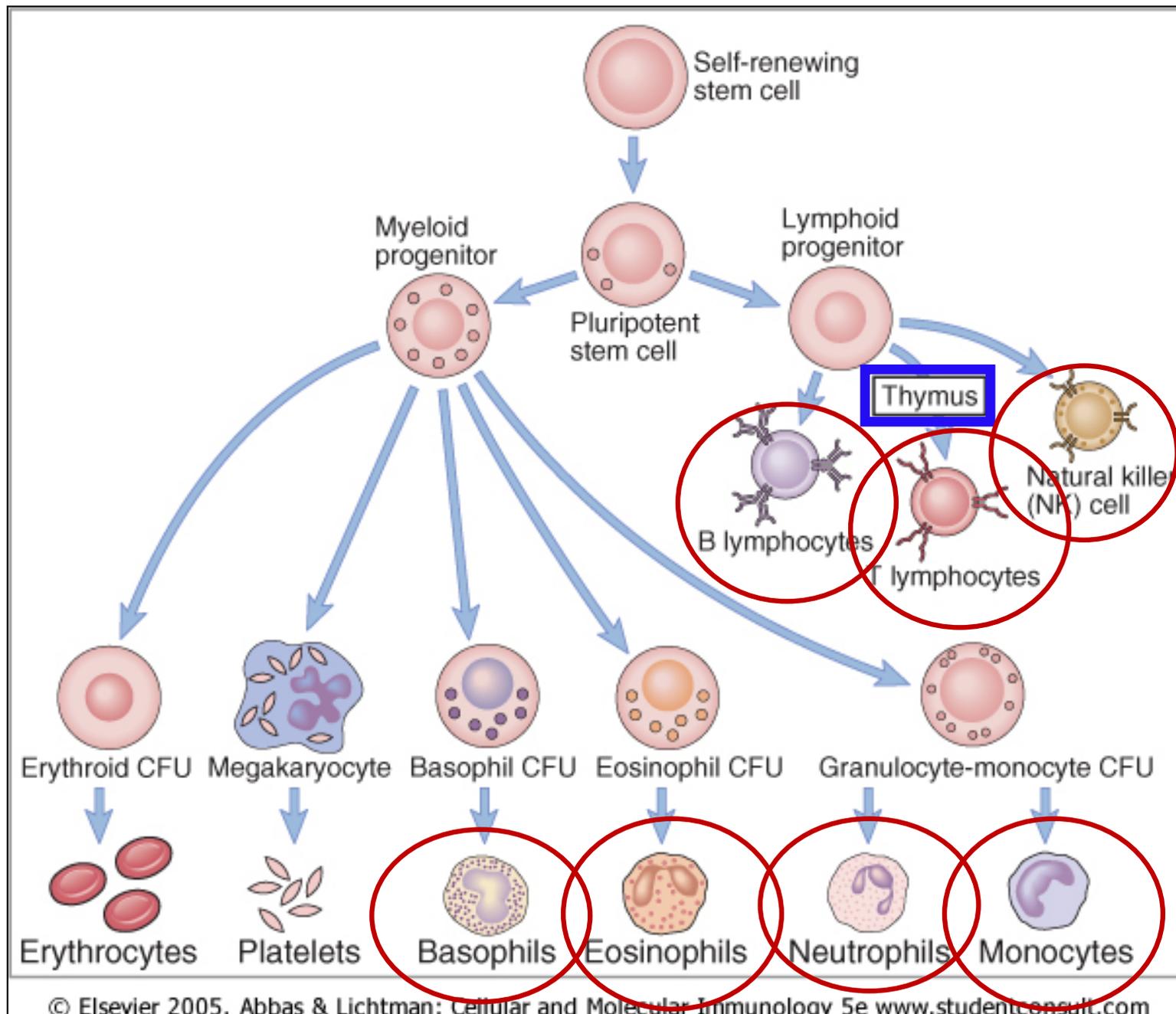
- **Anticorpi monoclonali e loro utilizzo in ambito diagnostico e terapeutico.**
- **Malattie autoimmuni, malattie allergiche, immunodeficienze: patogenesi e aspetti diagnostici.**

“Gli anticorpi: struttura e funzioni effettrici”

La risposta immunitaria innata e adattativa

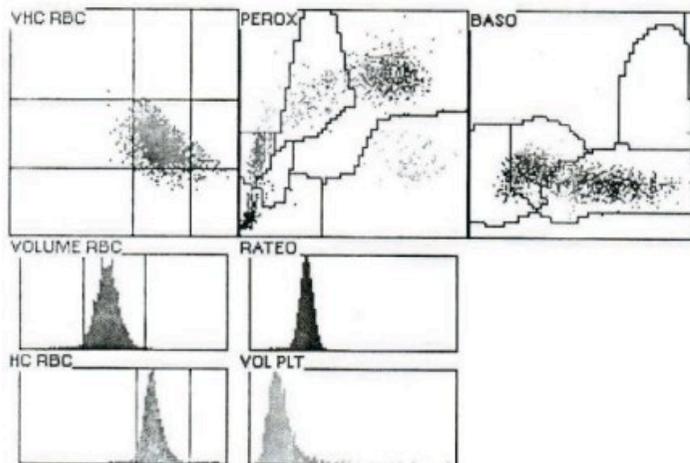


Tutte le cellule del sistema immunitario hanno una derivazione emopoietica

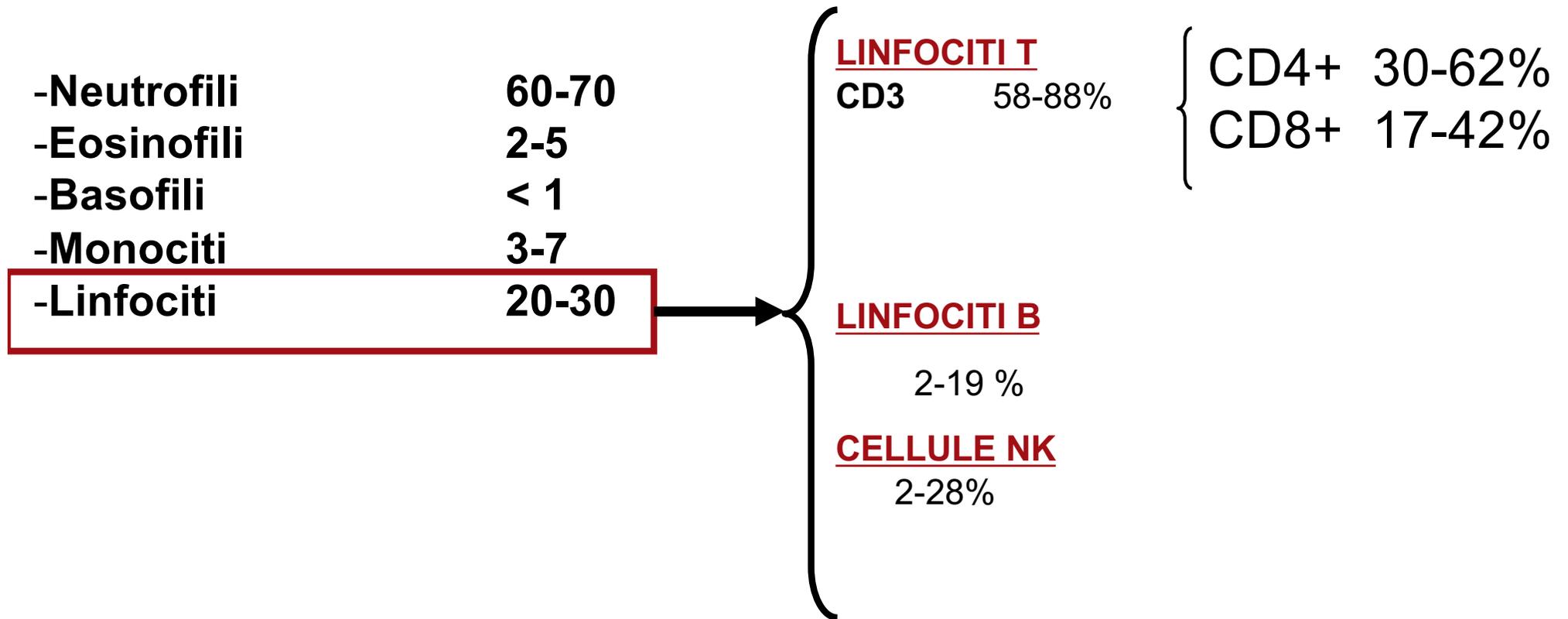


ESAME EMOCROMOCITOMETRICO

ESAME EMOCROMOCITOMETRICO					
TEST		RISULTATI	ABN	Valori normali	UNITA'
G. BIANCHI	(WBC)	6,87		(4,20 - 10,80)	10e3 μ L
G. ROSSI	(RBC)	4,83		(4,70 - 6,10)	10e6/ μ L
EMOGLOBINA	(HGB)	13,6		(13,5 - 18,0)	g/dL
EMATOCRITO	(HCT)		40,7	(41,0 - 52,0)	%
VOL. MED. CELL.		84,4		(80,0 - 99,0)	fL
MCH		28,2		(26,0 - 32,0)	pg
MCHC		33,4		(32,0 - 36,0)	g/dL
RDW		12,6		(11,5 - 14,5)	%
HDW		2,41		(2,20 - 3,20)	g/dL
PIASTRINE	(PLT)	295		(130 - 400)	10e3/ μ L
VOL. PIAST.	(MPV)	9,1		(7,2 - 11,1)	fL
PDW		51,6		(25,0 - 65,0)	%
%NEUTROFILI		48,0		(40,0 - 70,0)	%
%LINFOCITI		38,8		(20,0 - 45,0)	%
%MONOCITI		6,8		(3,0 - 9,0)	%
%EOSINOFILI		4,1		(0,0 - 7,0)	%
%BASOFILI		0,3		(0,0 - 1,5)	%
%LUC		1,9		(0,0 - 4,0)	%
#NEUTROFILI		3,30		(1,90 - 8,00)	10e3 μ L
#LINFOCITI		2,67		(0,90 - 5,20)	10e3 μ L
#MONOCITI		0,47		(0,16 - 1,00)	10e3 μ L
#EOSINOFILI		0,28		(0,00 - 0,80)	10e3 μ L
#BASOFILI		0,02		(0,00 - 0,20)	10e3 μ L
#LUC		0,13		(0,00 - 0,40)	10e3 μ L



PERCENTUALE DI LEUCOCITI NEL SANGUE

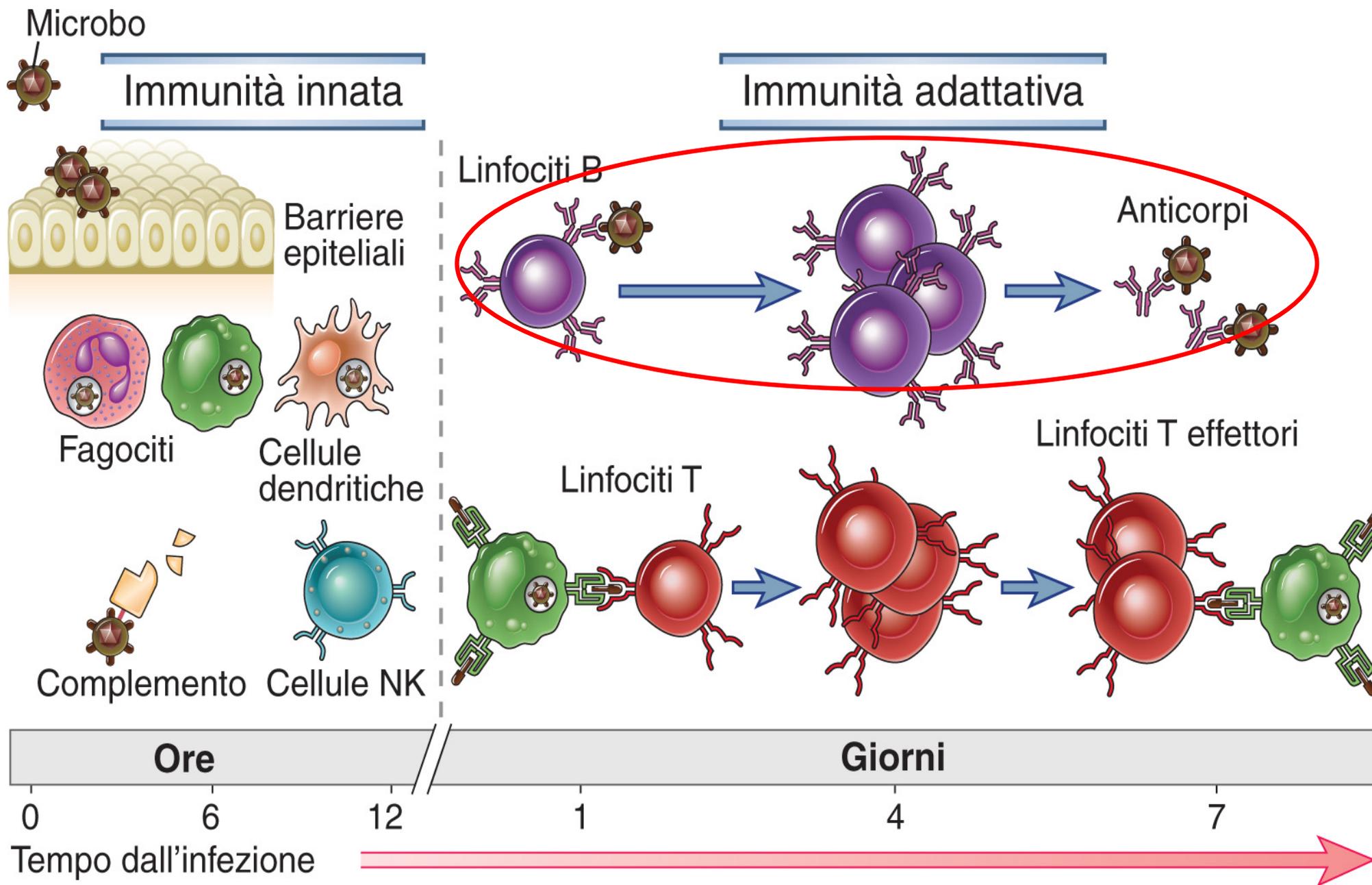


FORMULA LEUCOCITARIA

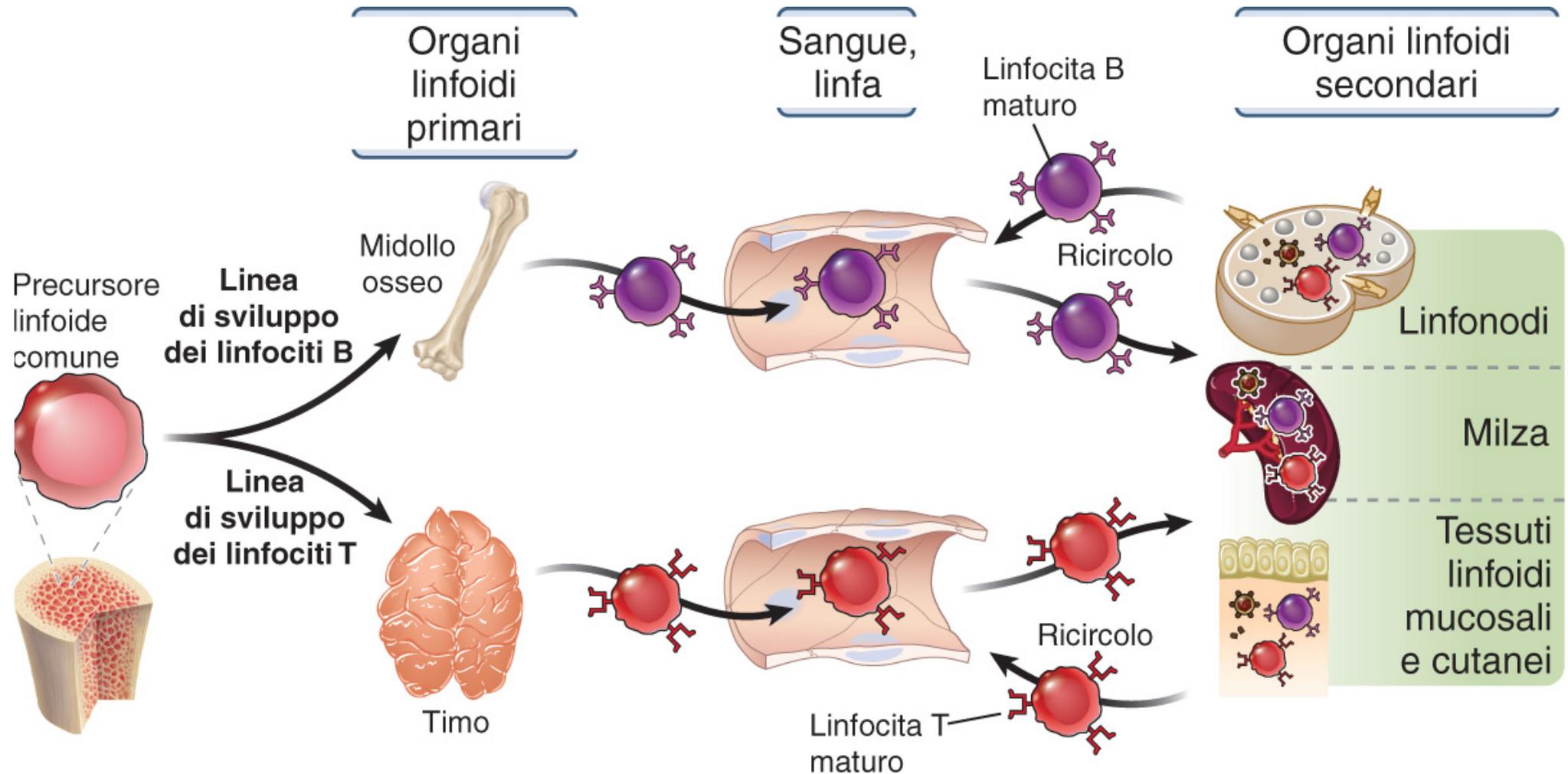
fornisce la distribuzione percentuale dei diversi tipi di leucociti

Si determina con contaglobuli automatici o con lo striscio di sangue periferico

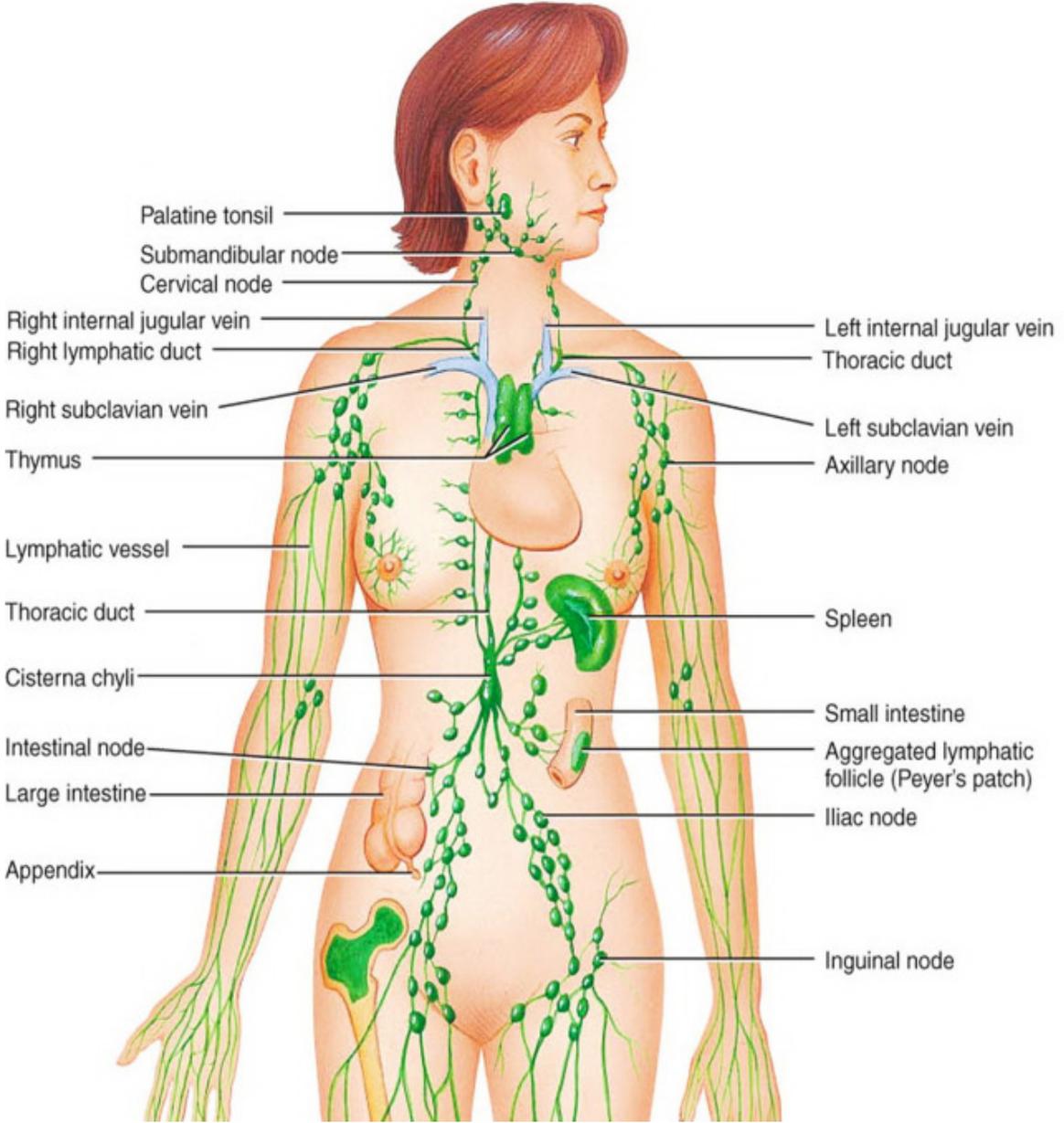
LE FASI DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA



I linfociti T e B maturano negli organi linfoidi primari



*Anatomia
funzionale del SI:
gli organi linfoidi*



Tessuto	Numero di linfociti
---------	---------------------

Distribuzione dei linfociti MATURI

Milza	70×10^9
Linfonodi	190×10^9
Midollo	50×10^9
Sangue	10×10^9
Cute	20×10^9
Intestino	50×10^9
Fegato	10×10^9
Polmoni	30×10^9

Il recettore per l'antigene dei linfociti B

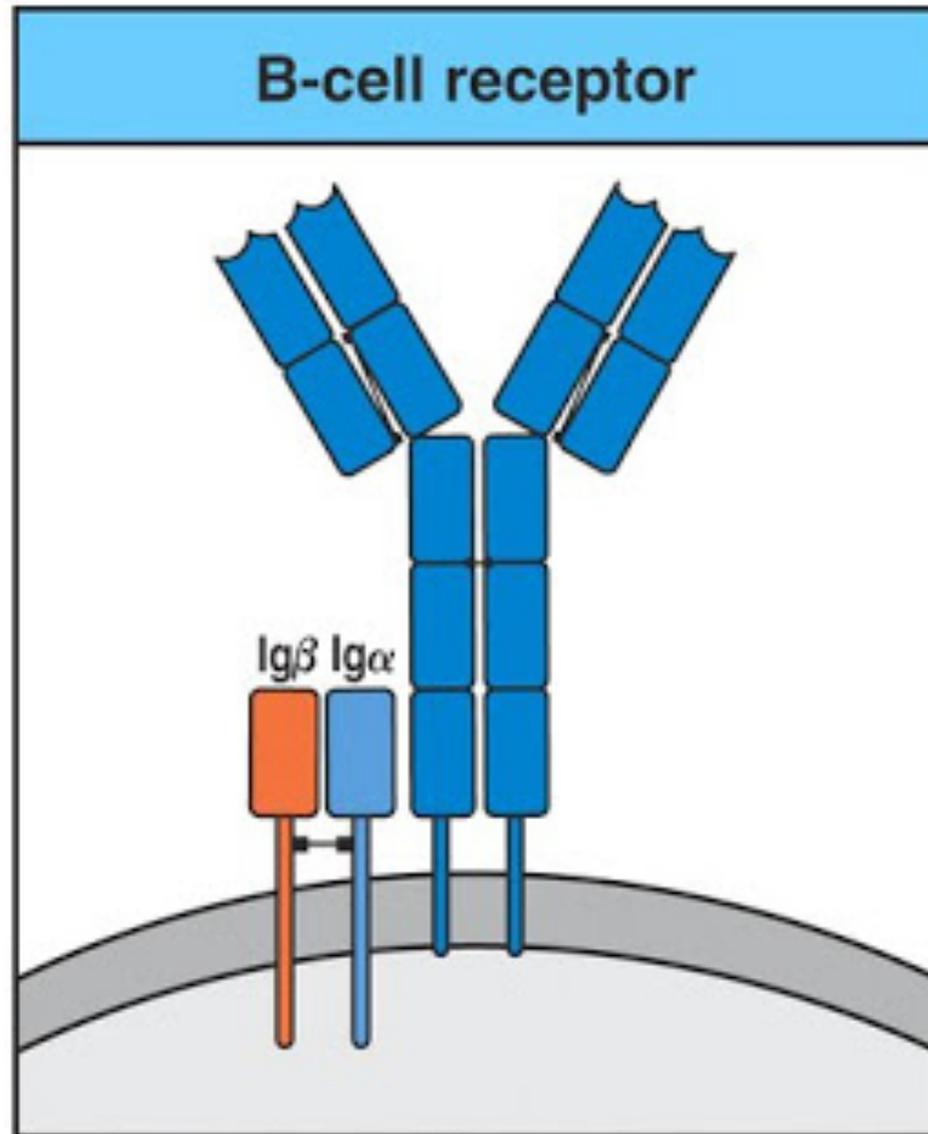
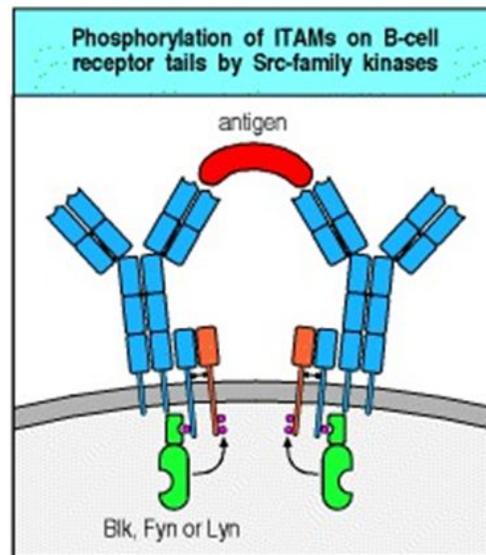


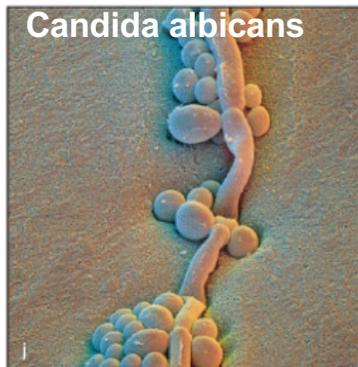
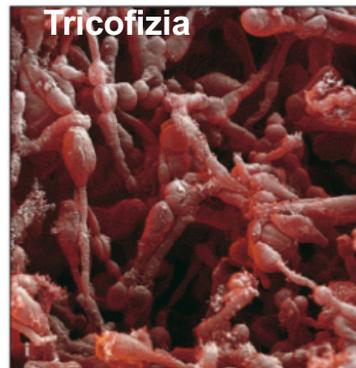
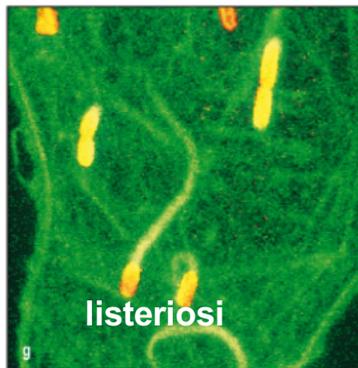
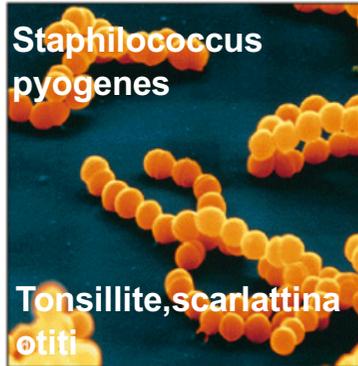
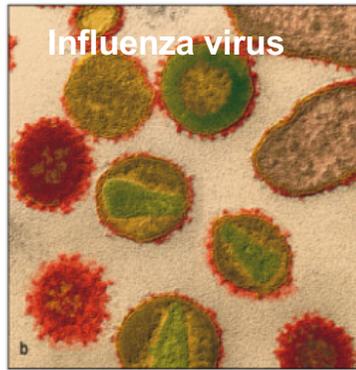
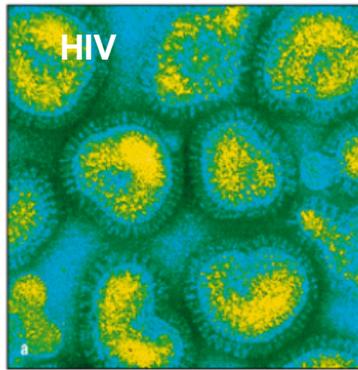
Figure 2-23 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

I **linfociti B** e i linfociti T riconoscono e legano l'**antigene** attraverso specifici **RETTORI PER L'ANTIGENE** (BCR E TCR)

ANTIGENE:

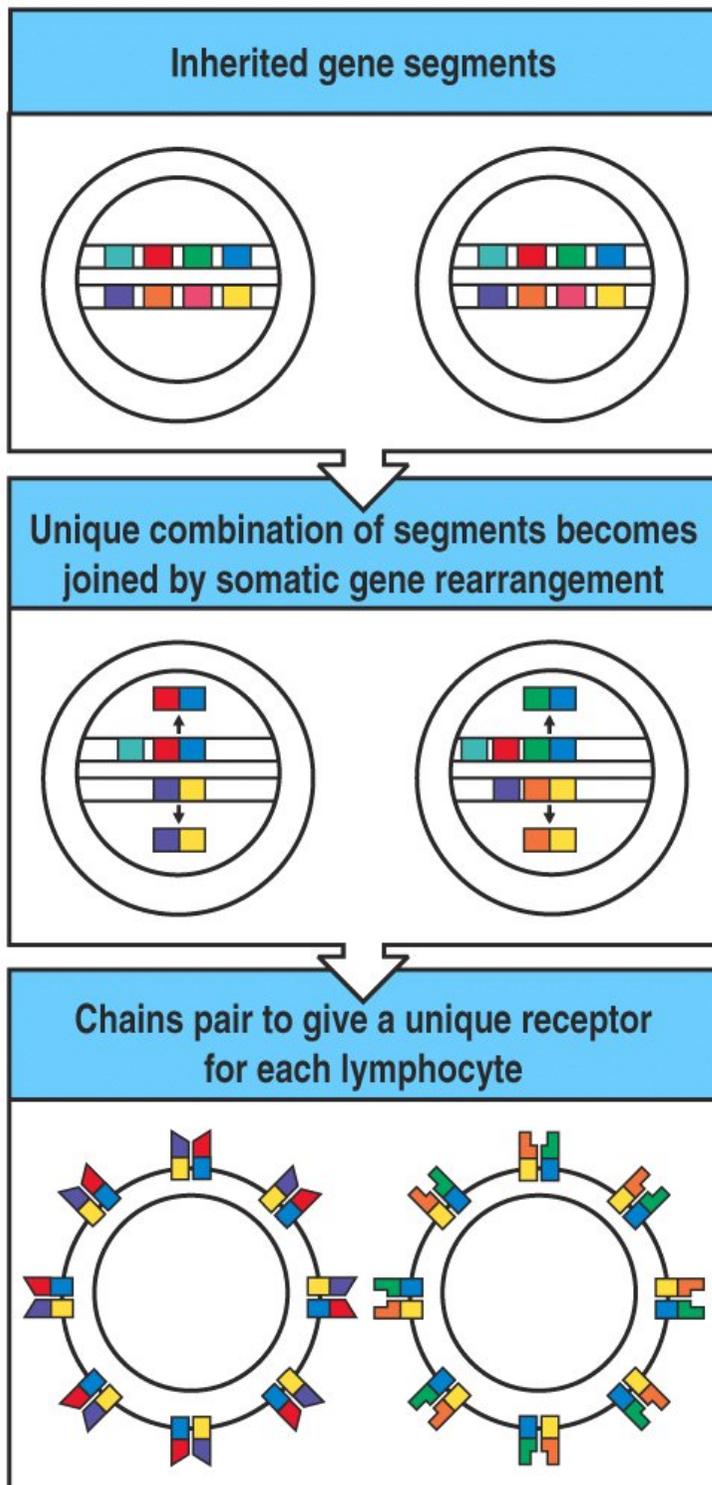
qualunque molecola sia riconosciuta dai recettori per l'antigene dei linfociti T e B





I microrganismi patogeni sono fonte di antigeni
ELEVATA DIVERSIFICAZIONE

- ❖ Virus
- ❖ Batteri
- ❖ Funghi
- ❖ parassiti



I linfociti B esprimono recettori specifici per milioni di antigeni differenti!

❖ ricombinazione somatica

Figure 1-18 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

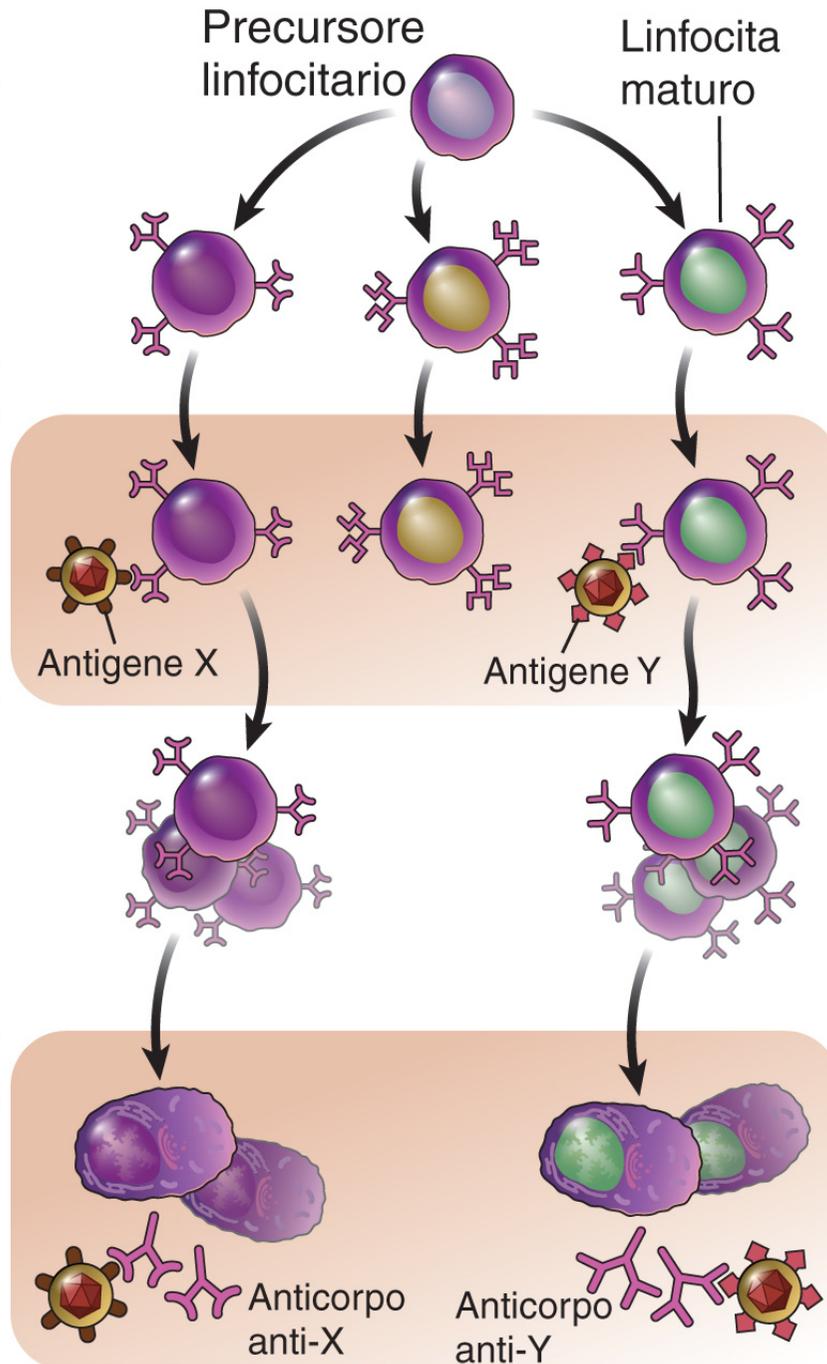
Il BCR ha una distribuzione clonale

Negli organi linfoidi primari si sviluppano cloni linfocitari con recettori vari

I cloni di linfociti maturi, specifici per molti antigeni, entrano nei tessuti linfoidi

I cloni antigene-specifici vengono attivati ("selezionati") dagli antigeni

Si attivano le risposte immunitarie antigene-specifiche



Antigene=Ag

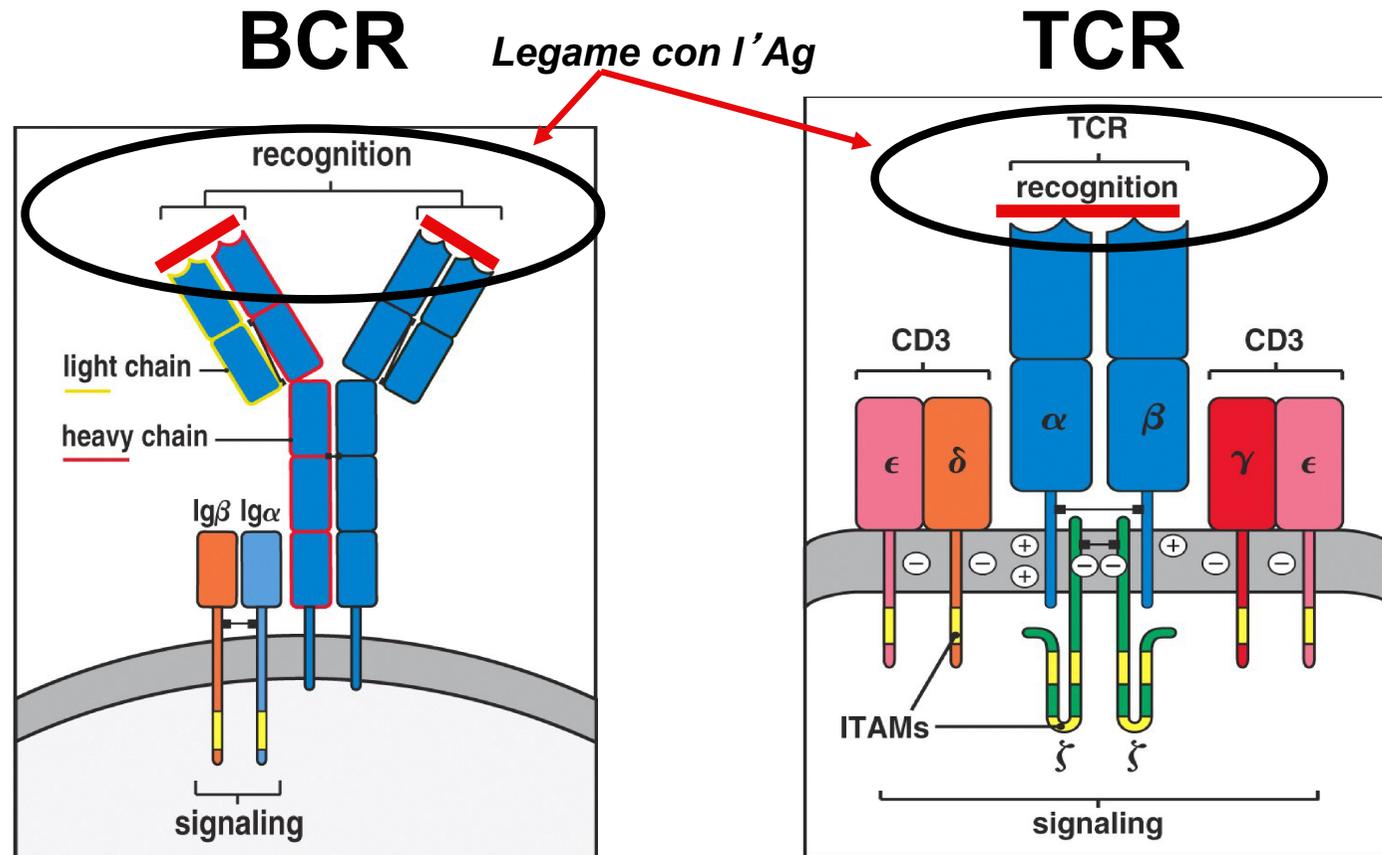


Figure 6-8 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

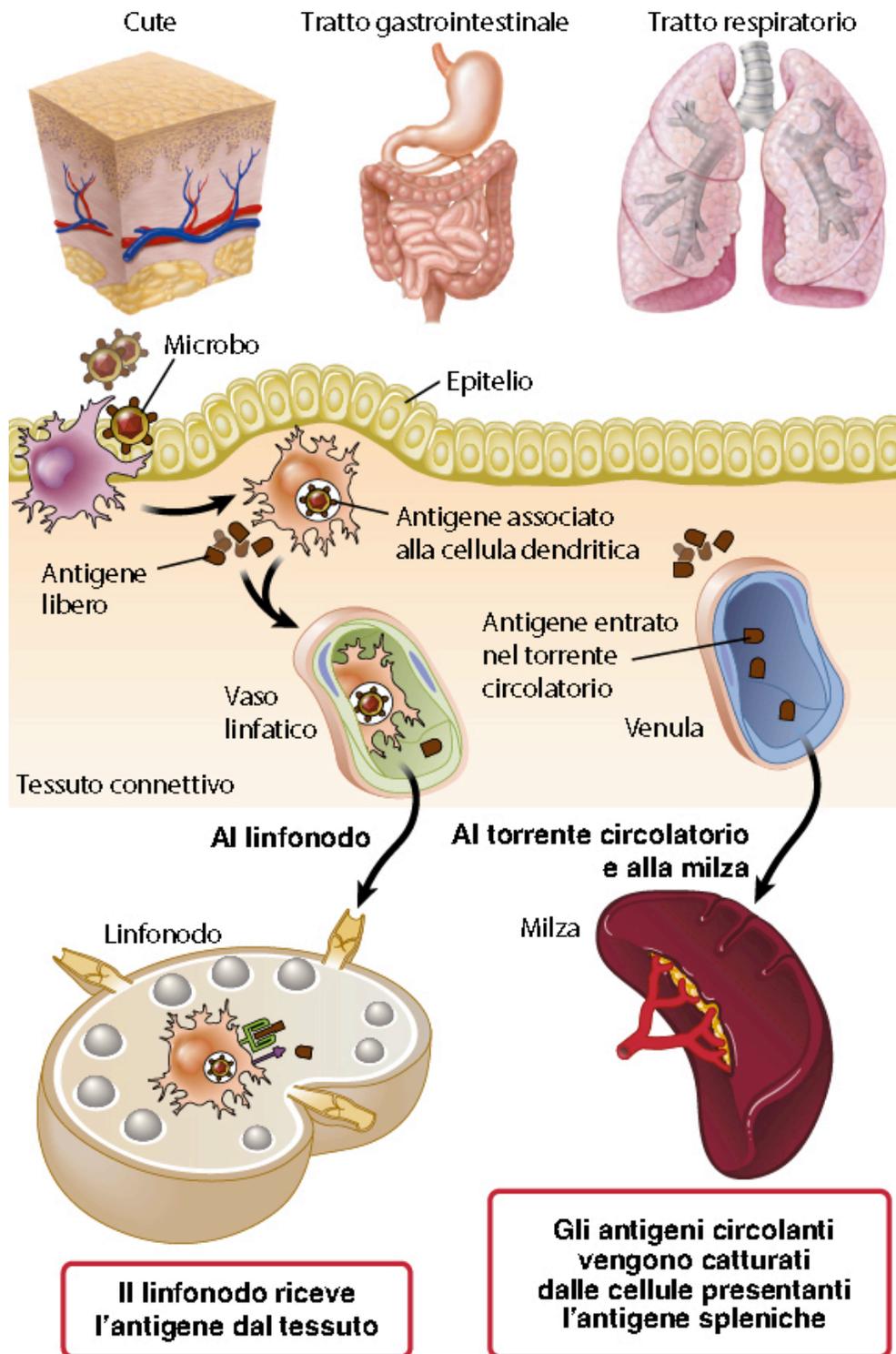
Linfociti B

Linfociti T

Interazione con l' Ag	Ag solubile/BCR (binaria)	Ag/TCR/MHC (ternaria)
Natura dell' Ag	proteine, polisaccaridi lipidi	proteine
Caratteristiche dell' epitopo	accessibile, idrofilo, conformazionale	In grado di legare l' MHC

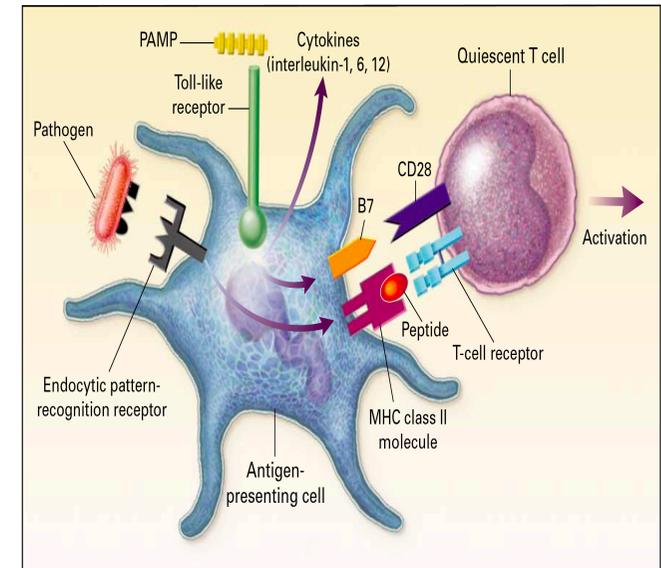
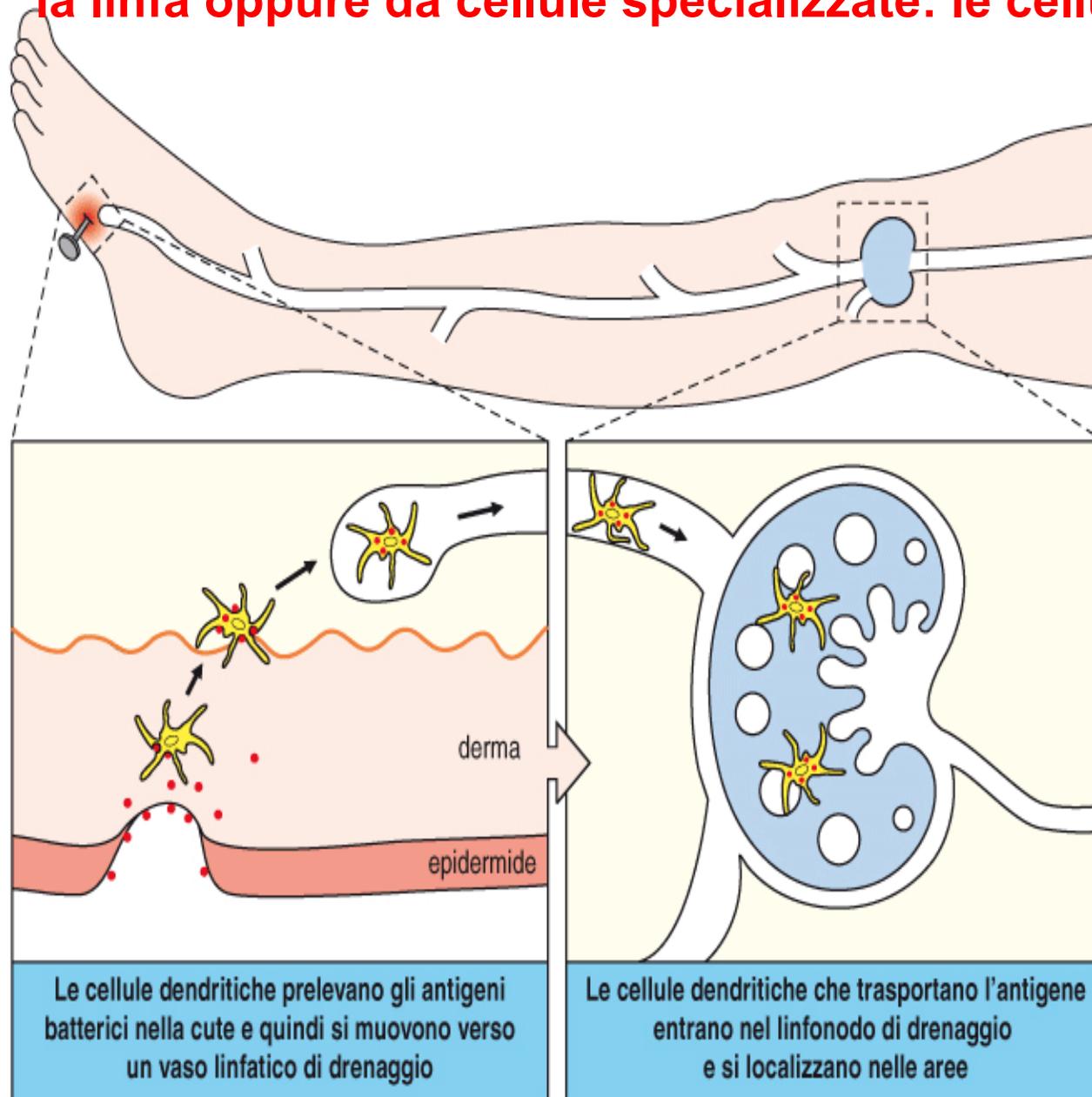
L'antigene penetra nel nostro organismo attraverso:

1. Le mucose gastro-enteriche (alimenti)
 respiratorie (aria inspirata)
 genitali (contatto fisico)
 congiuntivali (contatto fisico)
2. La cute (ferite, abrasioni, punture d'insetto)
3. Per via ematica



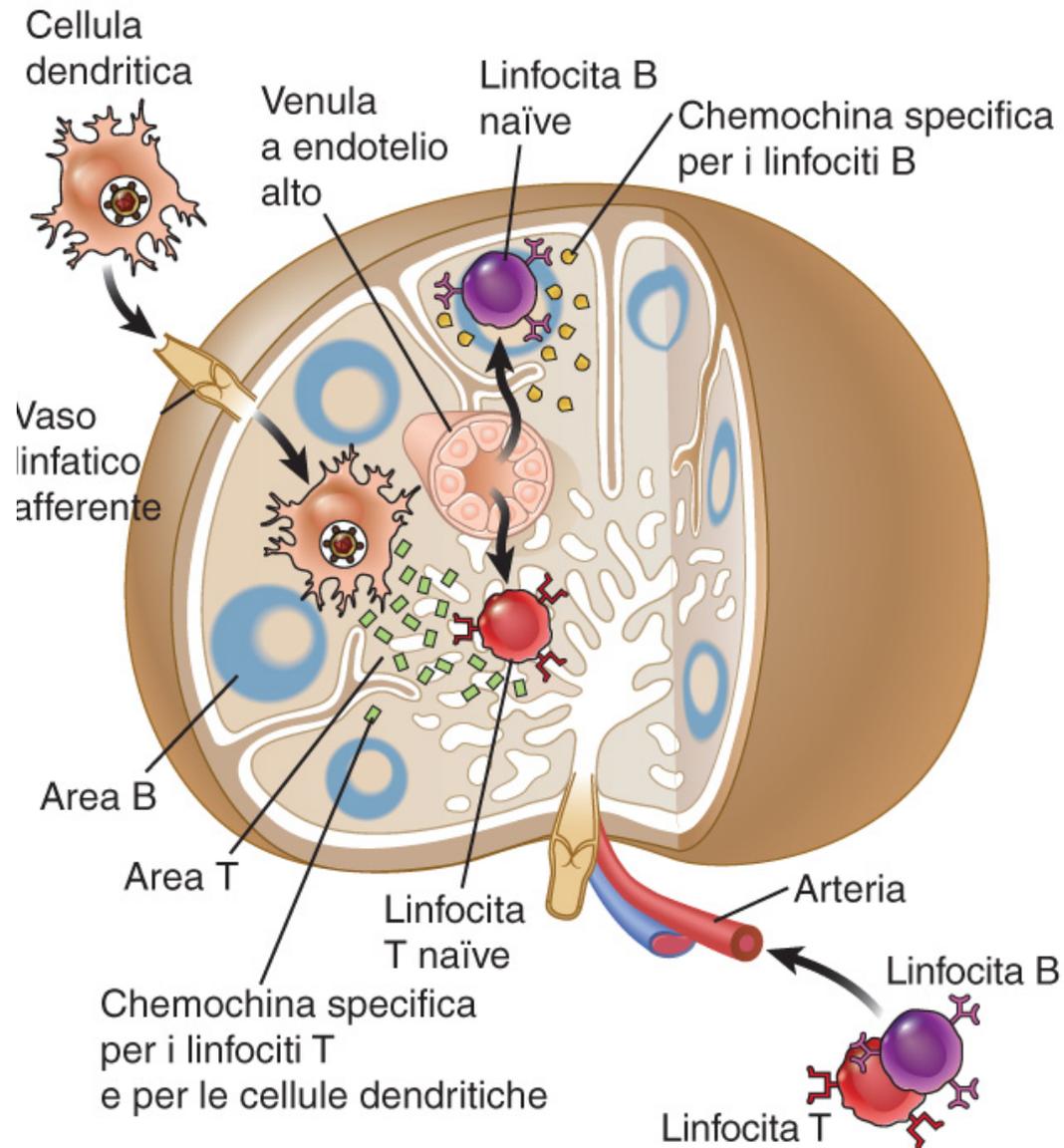
L'antigene viene trasportato negli organi linfoidi periferici attraverso il circolo linfatico o ematico

L'antigene viene trasportato ai linfonodi locoregionali attraverso la linfa oppure da cellule specializzate: le cellule dendritiche (DC)

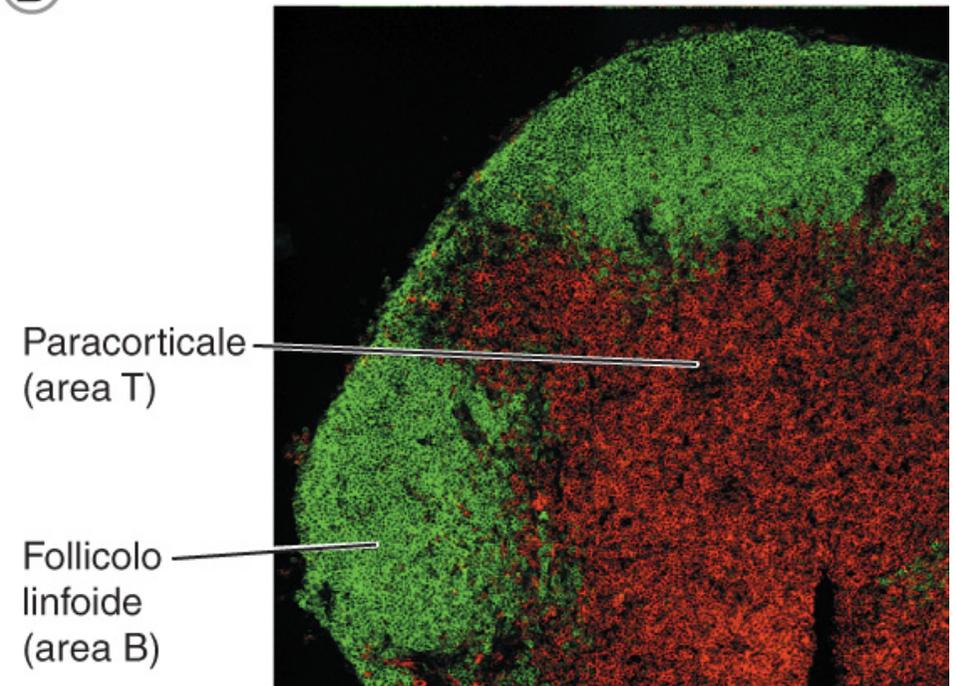


.....dove viene riconosciuto dal linfocita esprimente lo specifico recettore

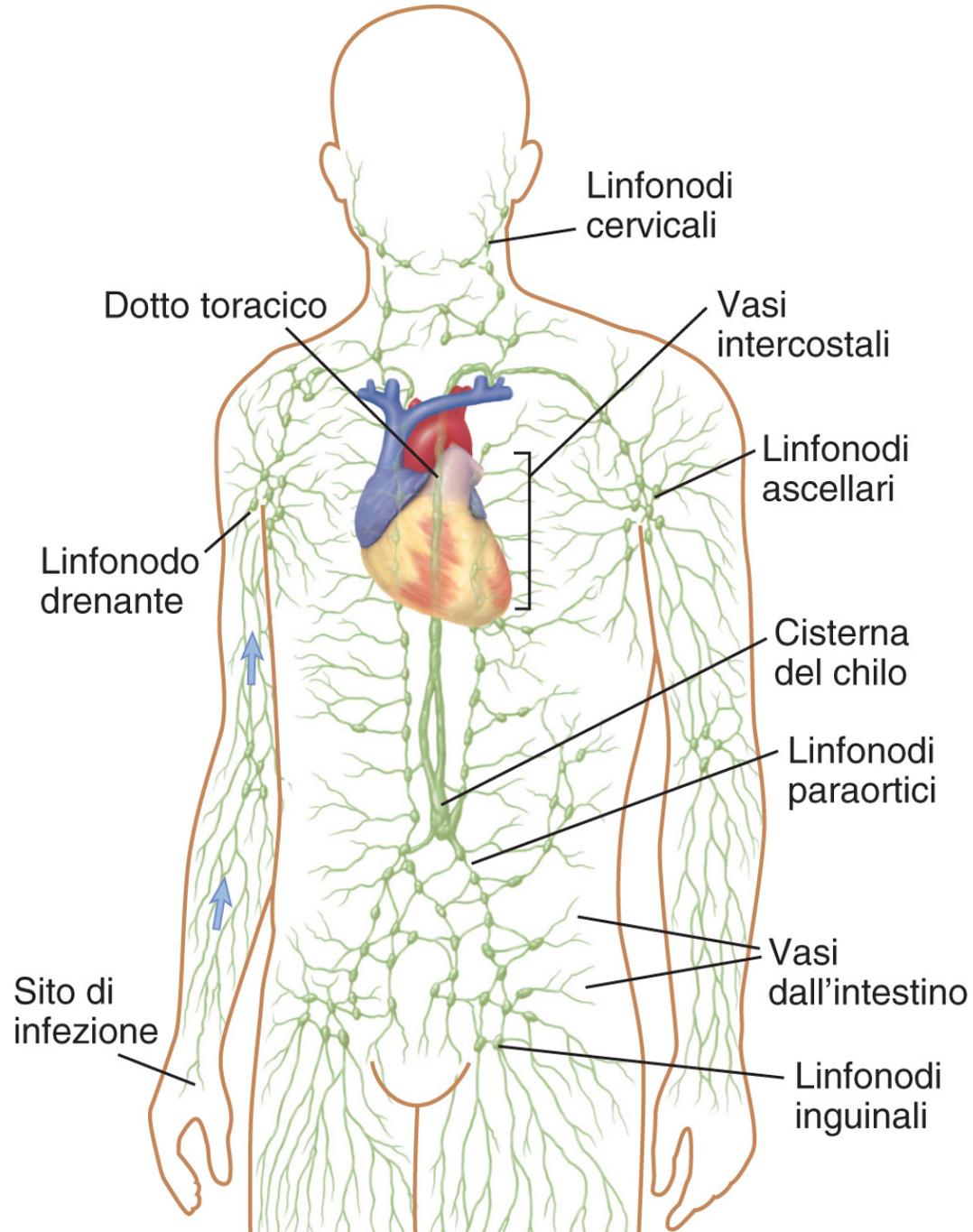
(A)



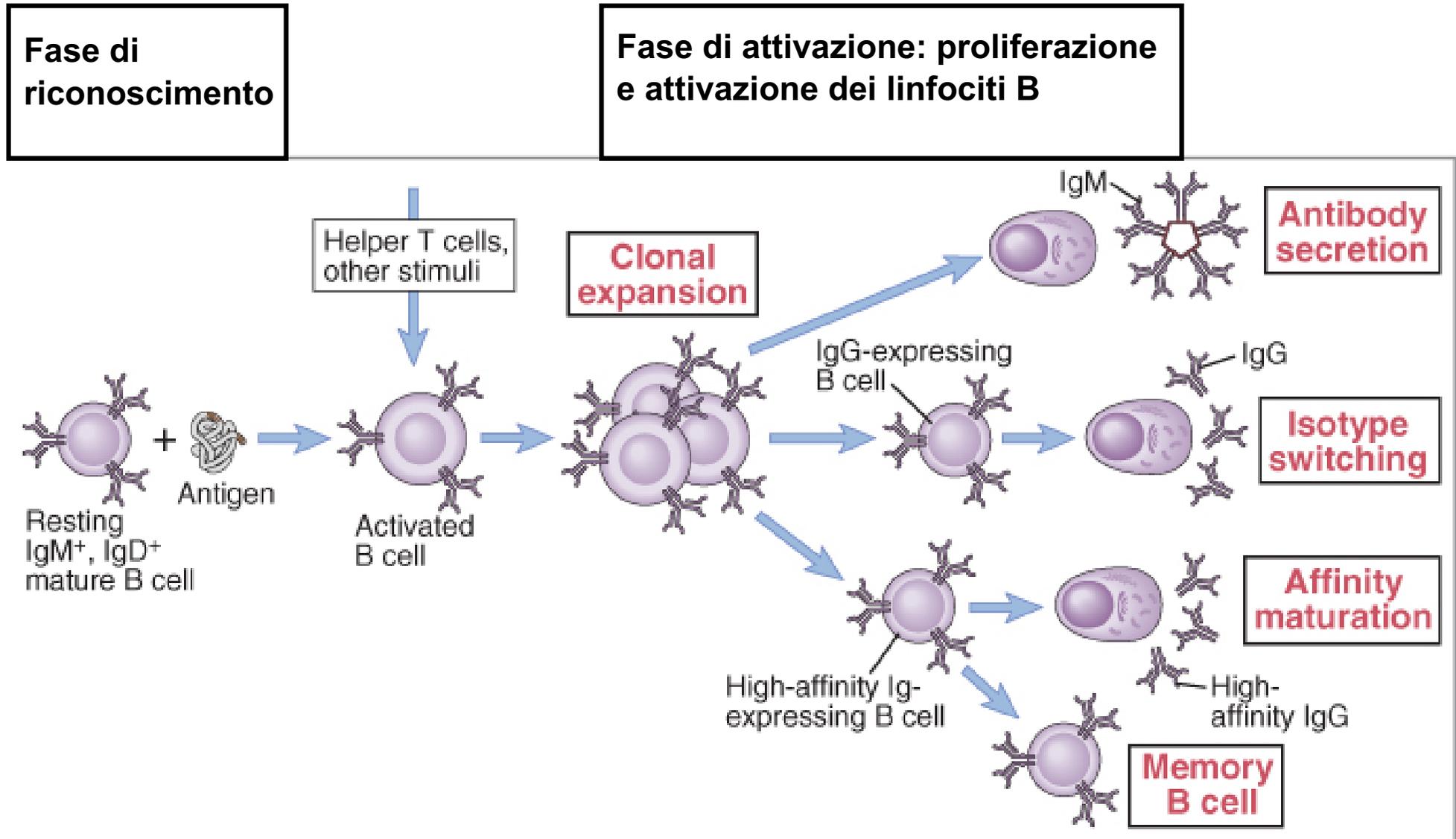
(B)



SISTEMA LINFATICO



PROLIFERAZIONE E ATTIVAZIONE DEI LINFOCITI B

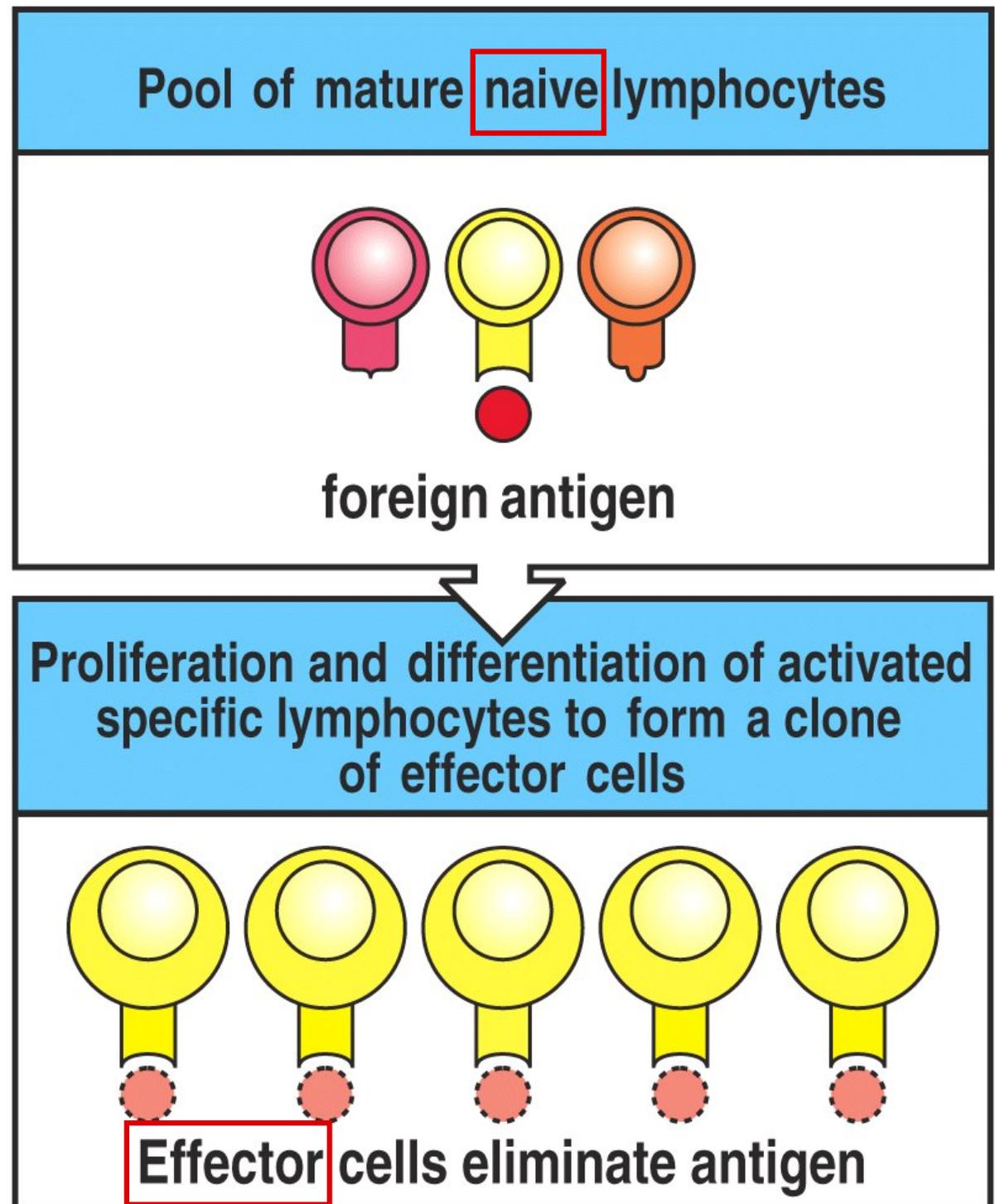


L'ESPANSIONE clonale:

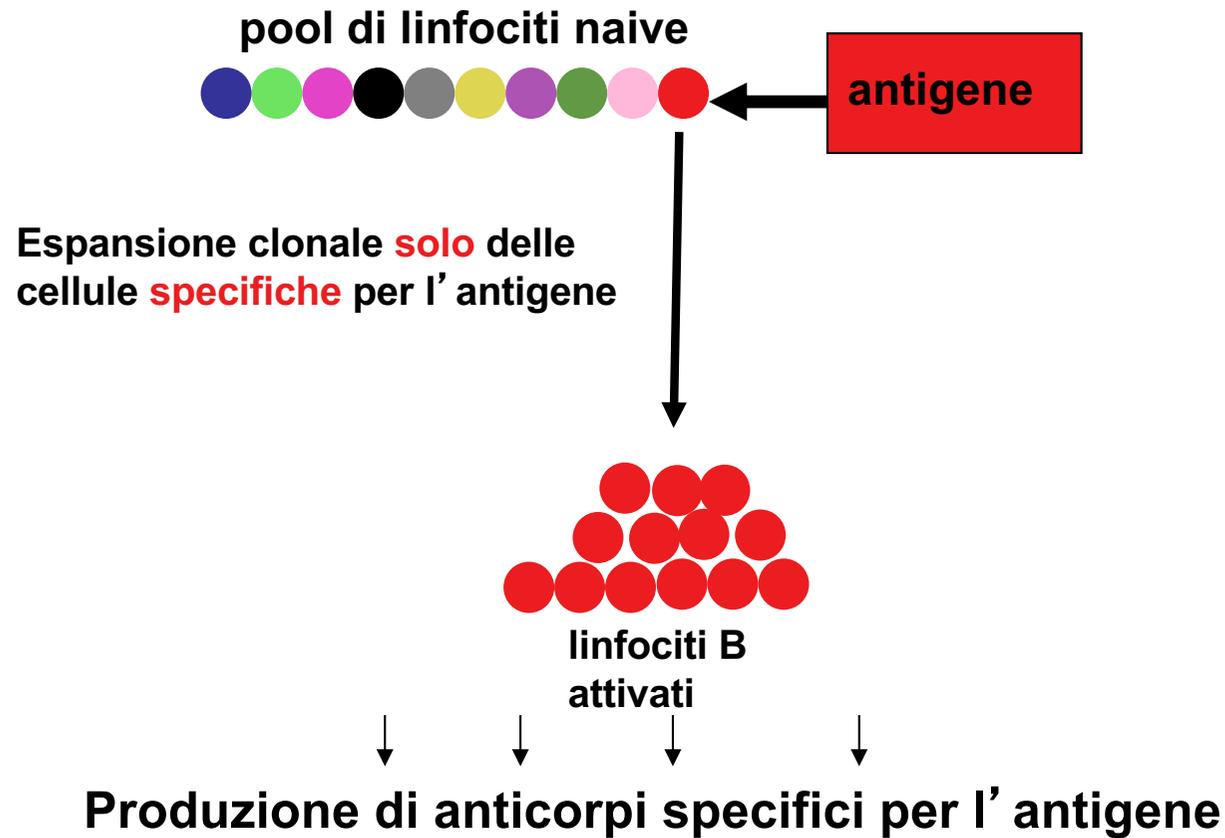
L' **antigene** induce
l' espansione
(fino a 10^4 x)!

dei linfociti che esprimono il
recettore specifico.
Tutta la progenie esprime lo
stesso recettore per
l' antigene del linfocita
parentale

Un clone!



L' ANTIGENE induce l'espansione CLONALE di CLONI LINFOCITARI ANTIGENE-SPECIFICI



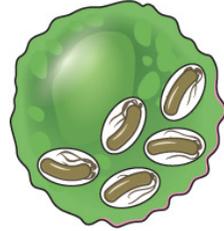
Immunità umorale

Immunità cellulo-mediata

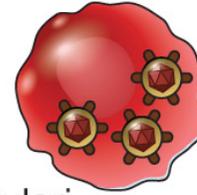
Microbo



Microbi extracellulari

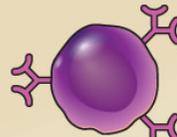


Microbi fagocitati all'interno del macrofago



Microbi intracellulari (per esempio virus) che si replicano all'interno della cellula infettata

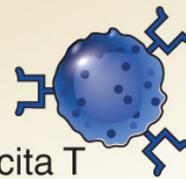
Tipo di linfociti che rispondono



Linfocita B

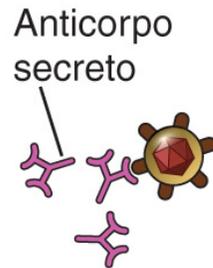


Linfocita T helper

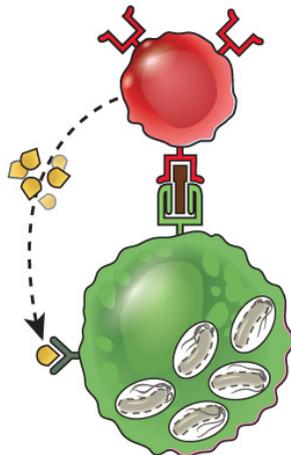


Linfocita T citotossico

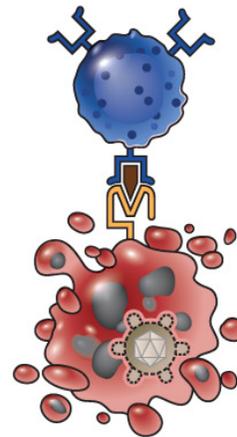
Meccanismo effettore



Anticorpo secreto



Macrofagi attivati



Cellula infettata uccisa

Funzioni

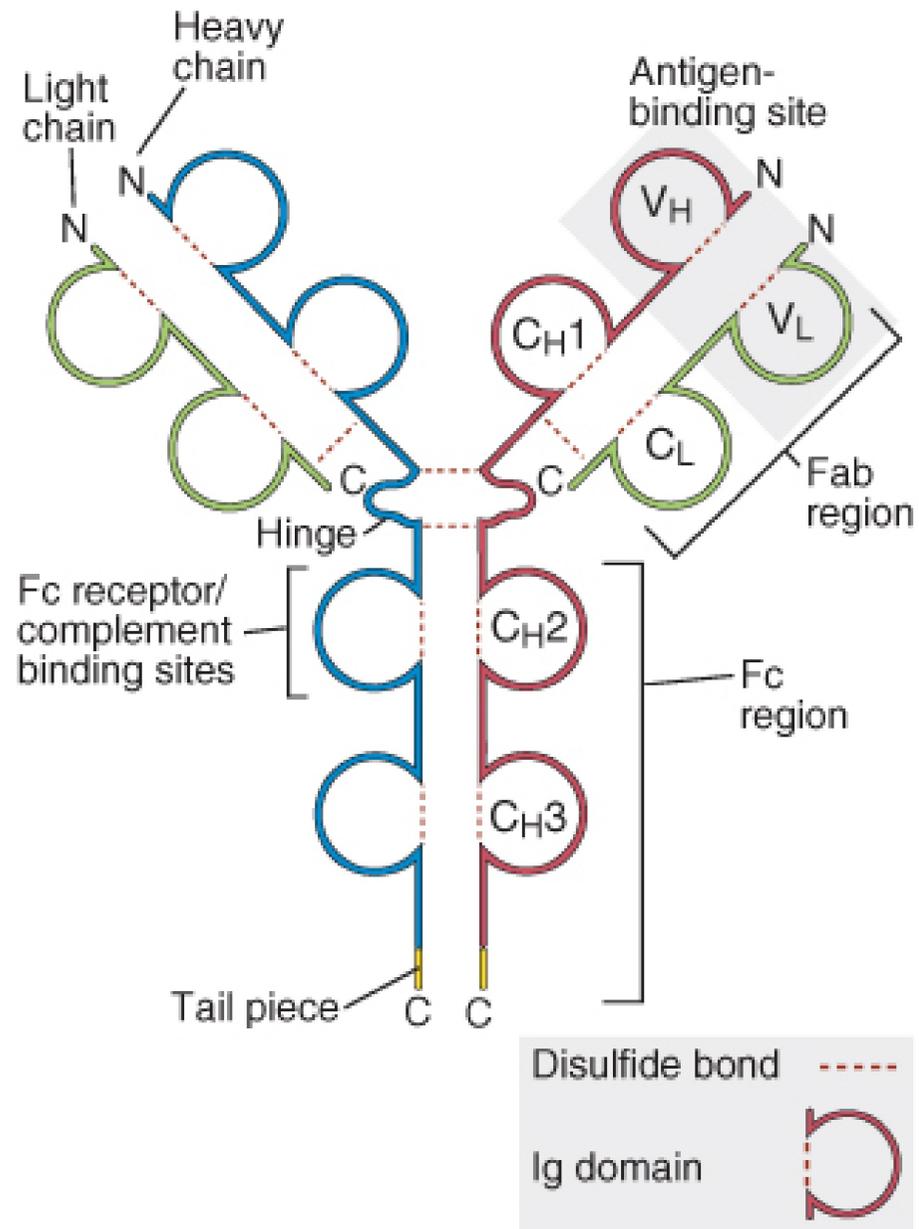
Blocco delle infezioni ed eliminazione dei microbi extracellulari

Eliminazione di microbi fagocitati

Uccisione di cellule infettate ed eliminazione dei serbatoi di infezione

Struttura dell' anticorpo

(A) Secreted IgG

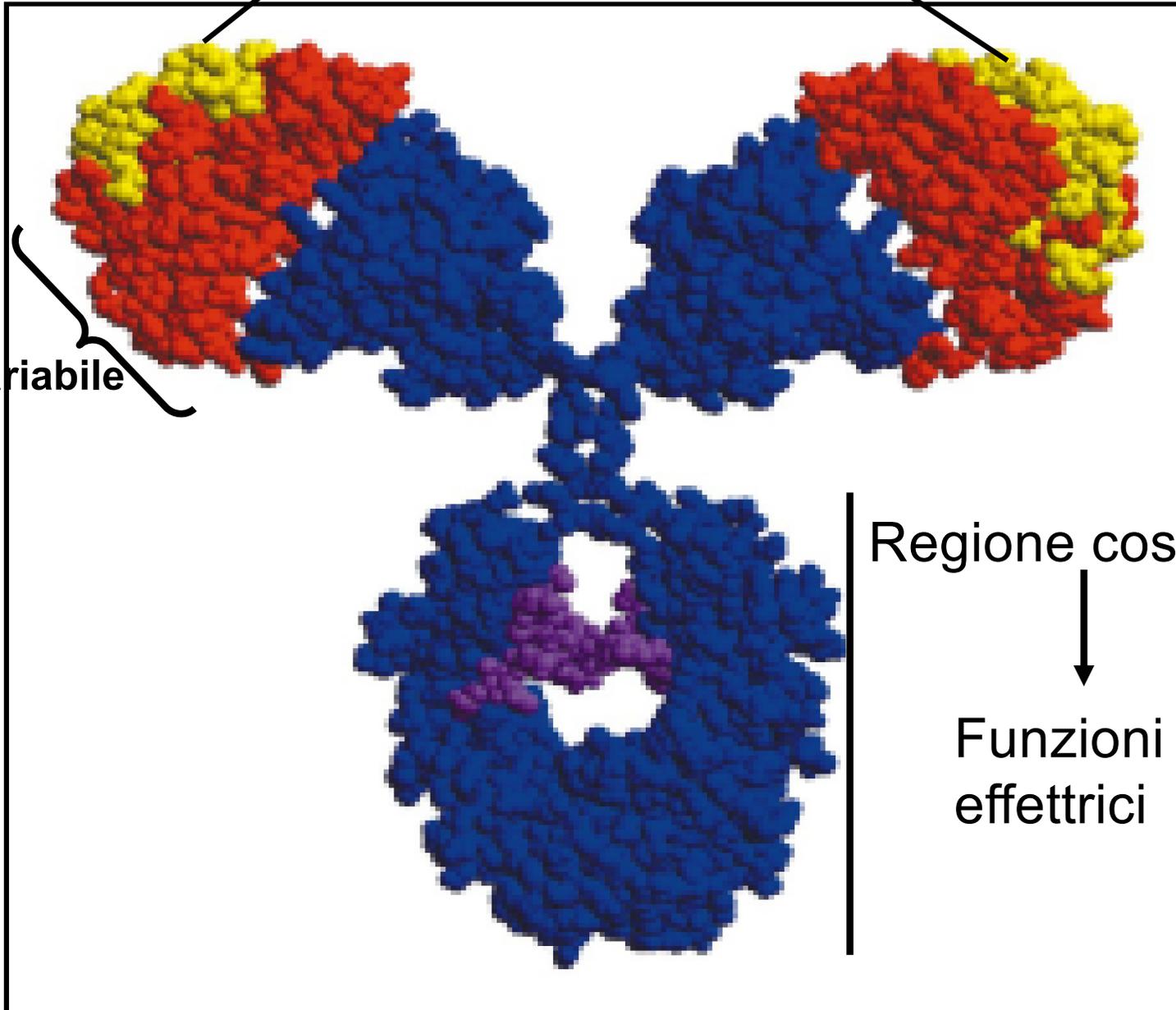


Riconoscimento dell' antigene

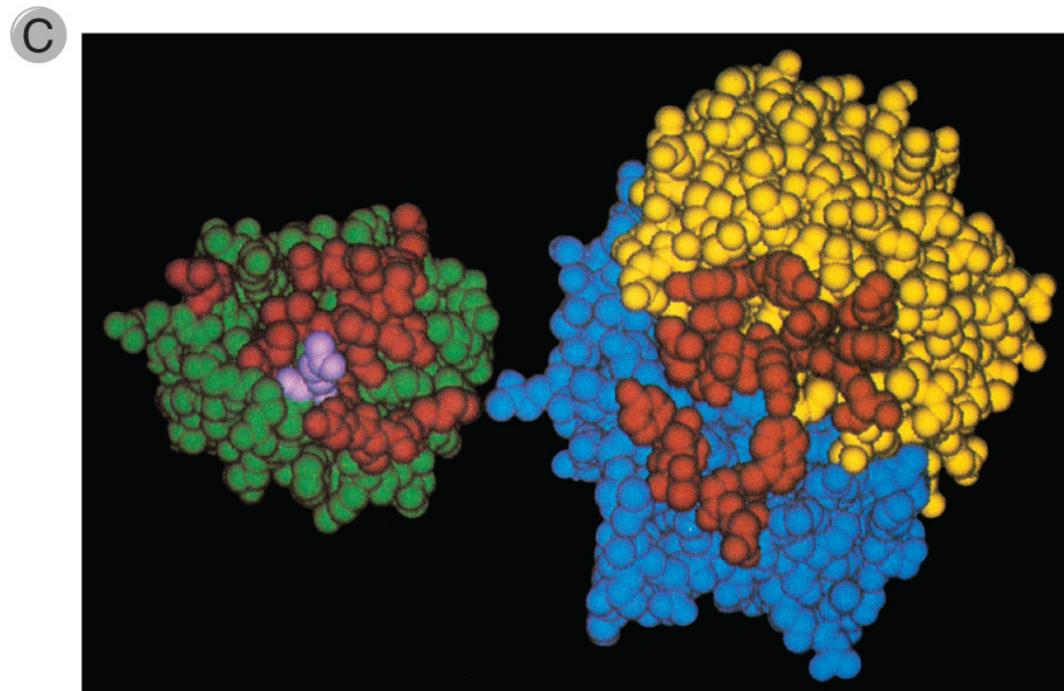
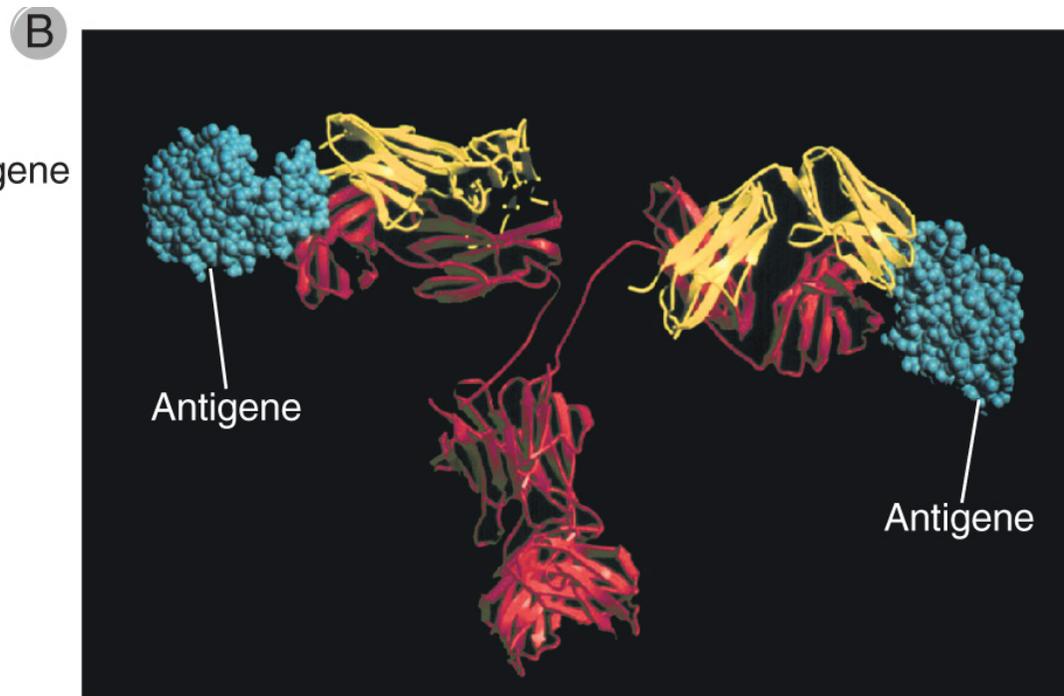
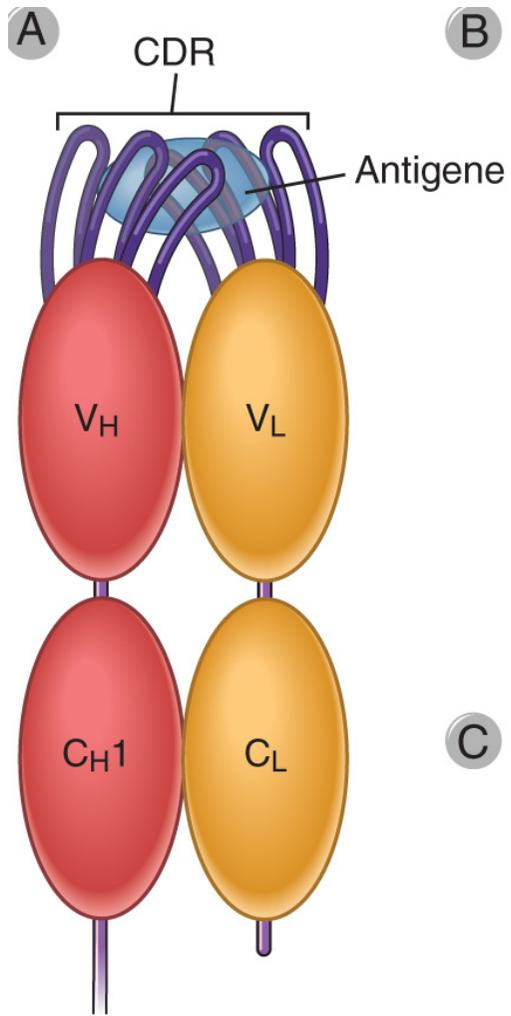
Regione variabile

Regione costante

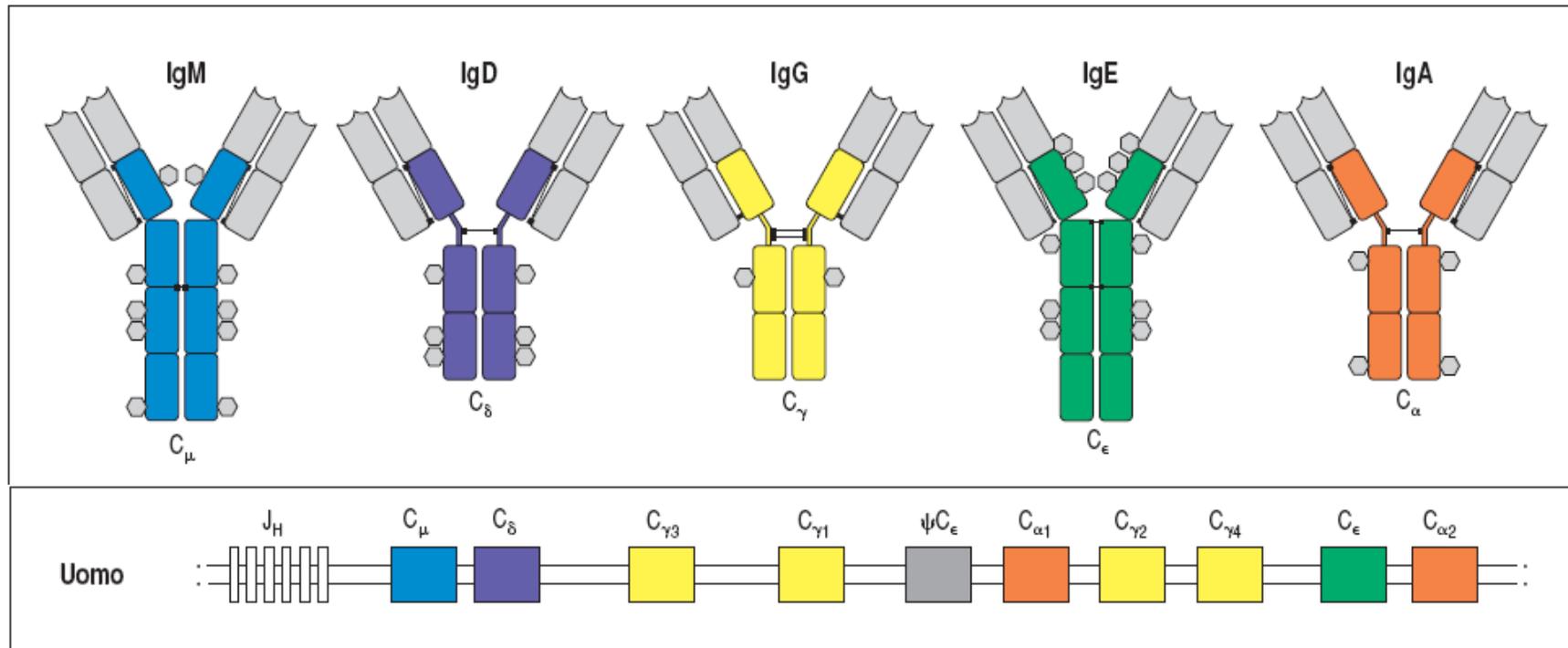
Funzioni
effettrici



ANTIGEN BINDING SITE



Le cinque classi anticorpali o isotipi

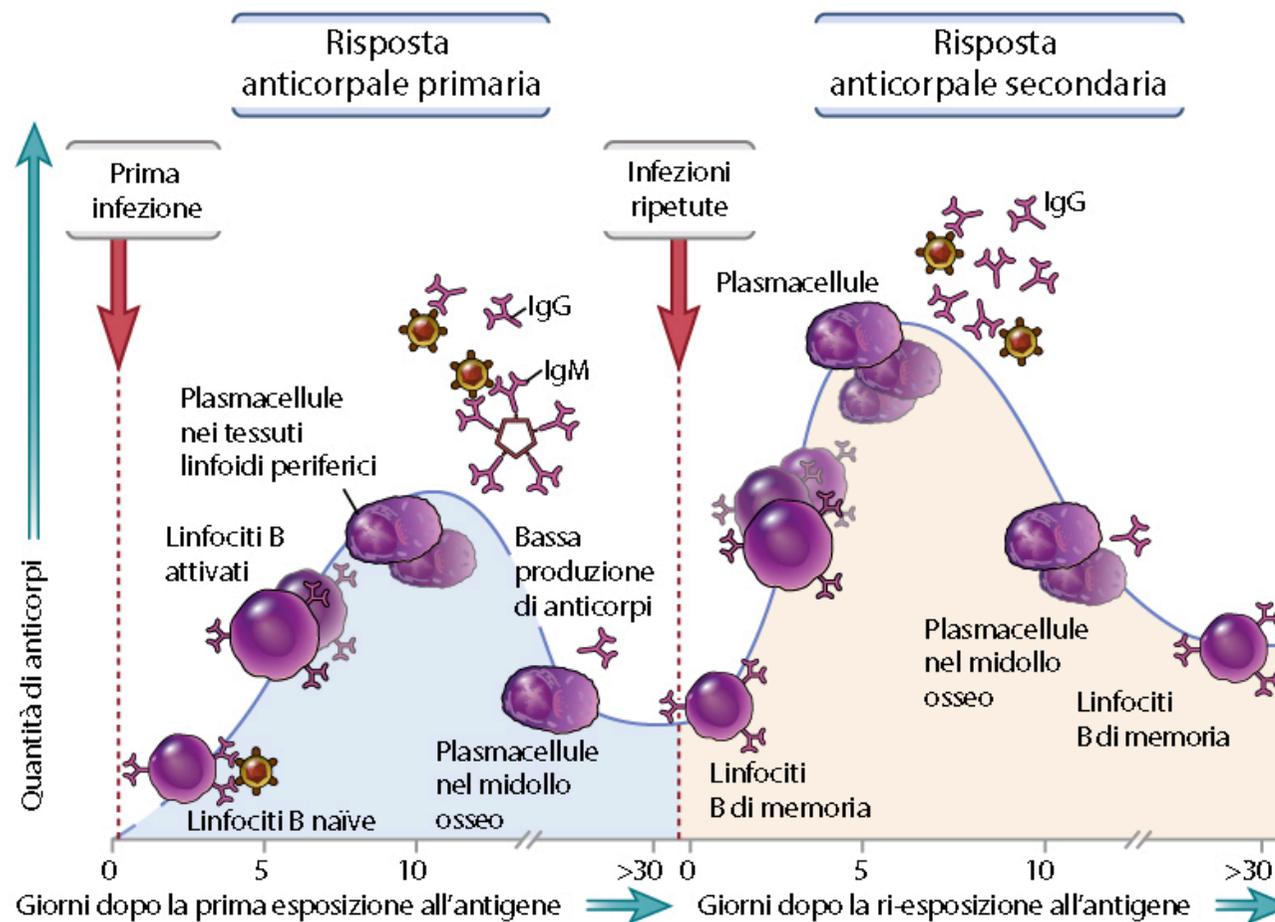


	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgE
Catena pesante	μ	δ	γ_1	γ_2	γ_3	γ_4	α_1	α_2	ϵ
Peso molecolare (kDa)	970	184	146	146	165	146	160	160	188
Livelli sierici (adulto mg ml^{-1})	1,5	0,03	9	3	1	0,5	2,0	0,5	5×10^{-5}
Emivita nel siero (giorni)	10	3	21	20	7	21	6	6	2

Livelli sierici

IgG>IgA>IgM>IgD>IgE

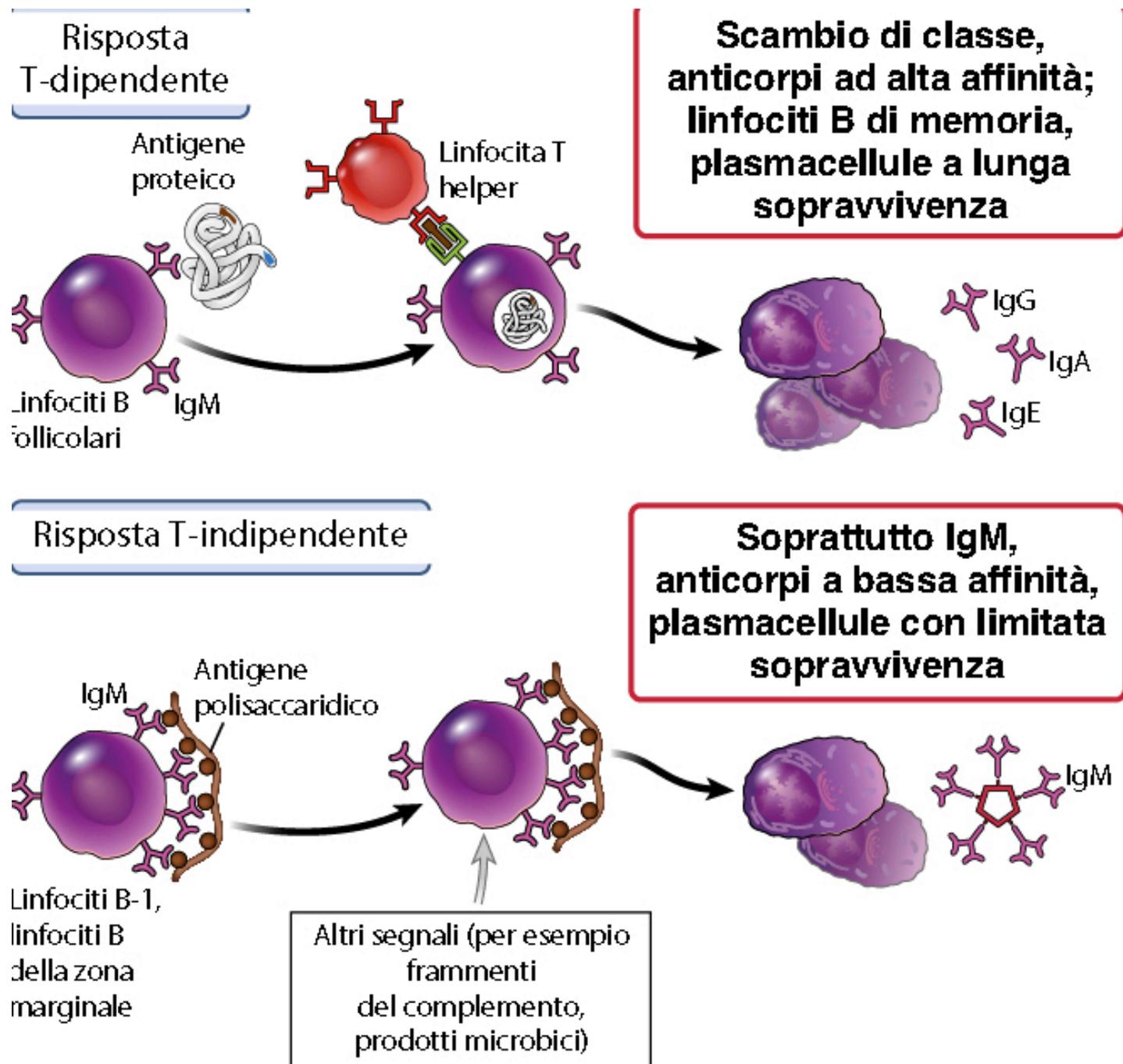
A)



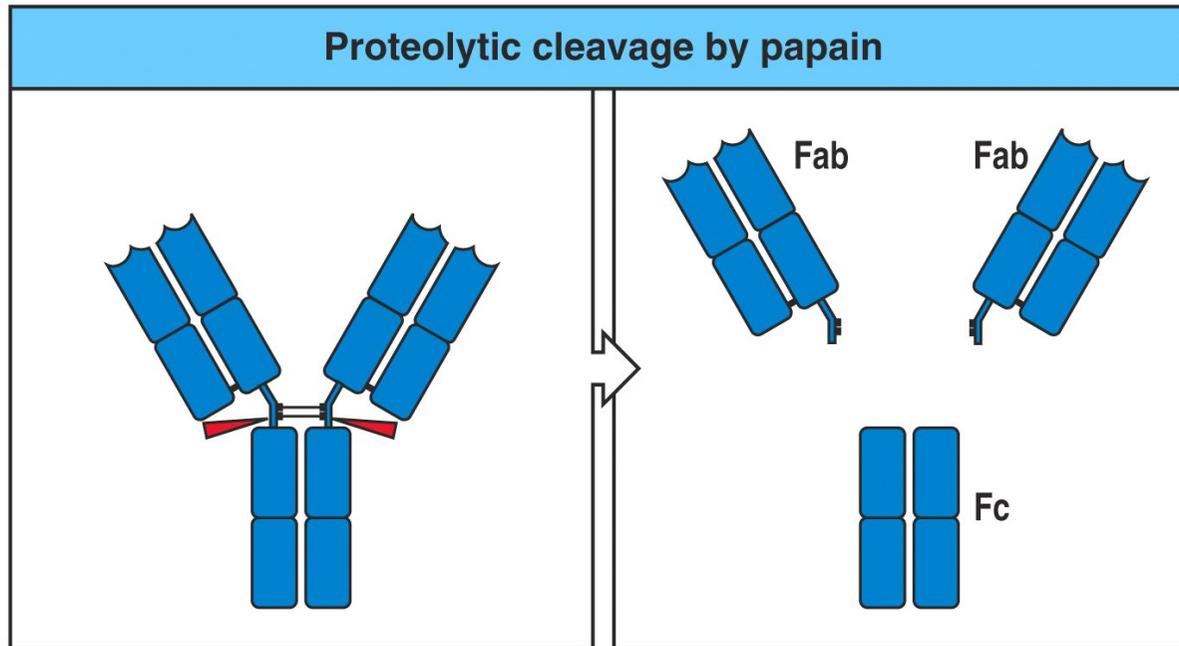
B)

	Risposta primaria	Risposta secondaria
Tempo di attesa dopo l'immunizzazione	Di norma 5-10 giorni	Di norma 1-3 giorni
Picco di risposta	Minore	Elevato
Isotipo degli anticorpi	Di norma IgM > IgG	Aumento relativo di IgG e, in particolari condizioni, di IgA o IgE (scambio isotipico)
Affinità degli anticorpi	Affinità media più bassa e più variabile	Affinità media più alta (maturazione dell'affinità)

Isotipo anticorpale e ruolo dei linfociti T helper

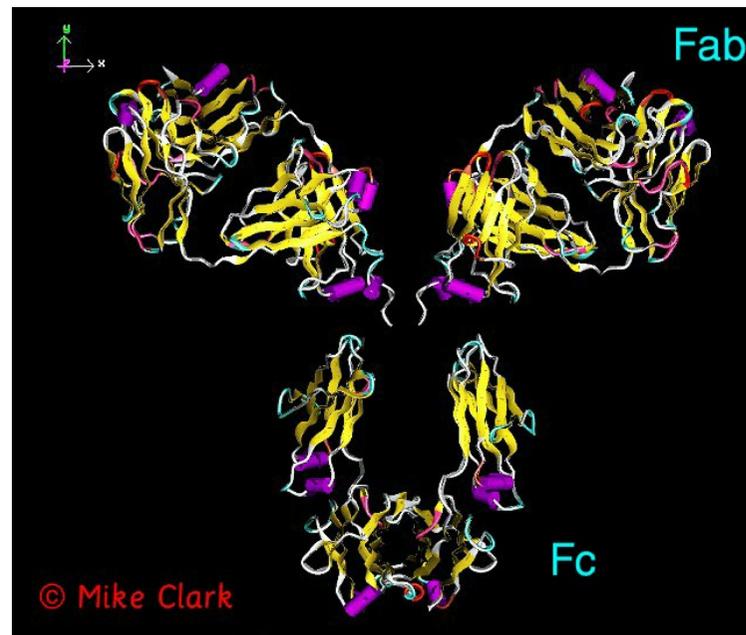


L'Ig può venire scissa in tre frammenti, due identici tra loro chiamati Fab ed un terzo frammento Fc



Fab = Frammento
Antigen Binding

Fc = Frammento
Cristallizzabile



Legame con
l'antigene

Funzioni
effettrici

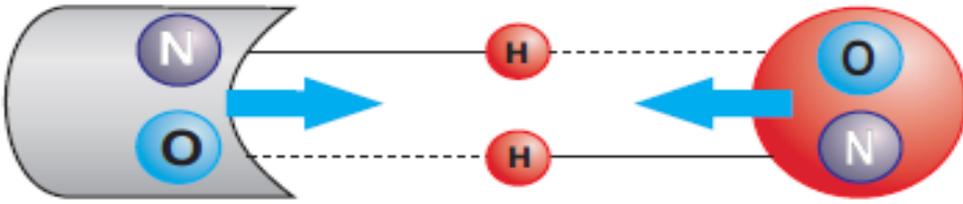
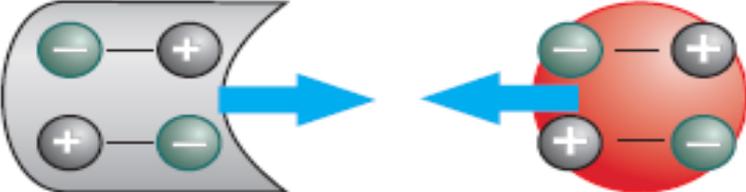
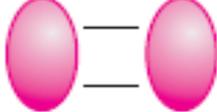
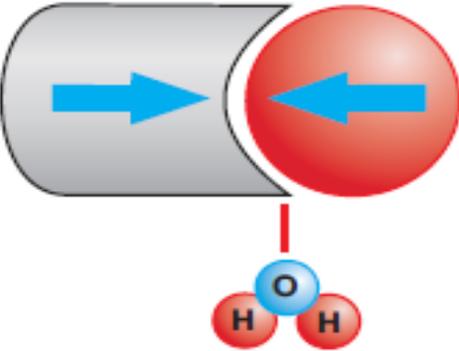
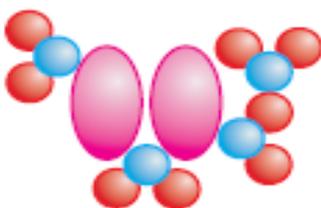
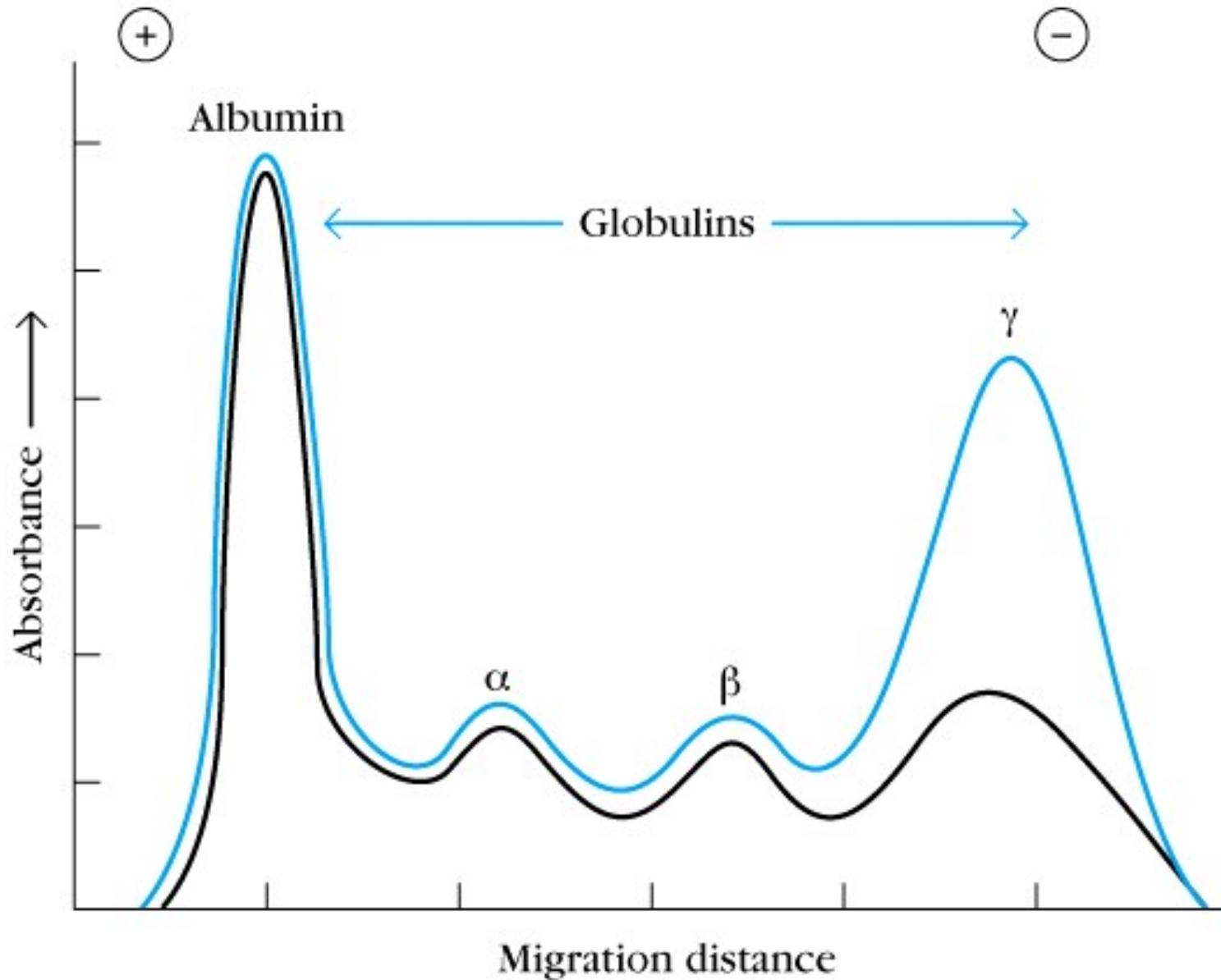
Anticorpo-Antigene	Legame	Origine
	<p>Idrogeno</p> 	<p>Ioni Idrogeno condivisi tra diversi gruppi creano cariche parziali opposte.</p>
	<p>Elettrostatici</p> 	<p>Attrazione tra cariche opposte.</p>
	<p>Di Van der Waals</p> 	<p>Fluttuazioni nelle nuvole di elettroni intorno alle molecole (o atomi), mettono a confronto atomi vicini a confronto.</p>
	<p>Idrofobici</p> 	<p>Gruppi idrofobici respingono l'acqua e hanno la tendenza a raggrupparsi per escluderla. Questo tipo di attrazione include anche forze di Van der Waals.</p>

Figura 4-5. Le forze che uniscono il sito combinatorio dell'anticorpo all'epitopo antigenico sono legami non covalenti che richiedono una stretta prossimità dei gruppi che interagiscono. I legami a idrogeno dipendono da interazioni non covalenti tra atomi; le forze elettrostatiche sono dovute all'attrazione tra gruppi a carica opposta. I legami di Van der Waals dipendono dall'interazione tra nuvole di elettroni e i legami idrofobici (che possono essere responsabili di quasi la metà della forza totale di legame) si basano sull'associazione di gruppi idrofobici non polari, in modo da ridurre al minimo il contatto con le molecole d'acqua.

Gli anticorpi o immunoglobuline migrano nella frazione gamma-globulinica del siero



Distribuzione degli anticorpi

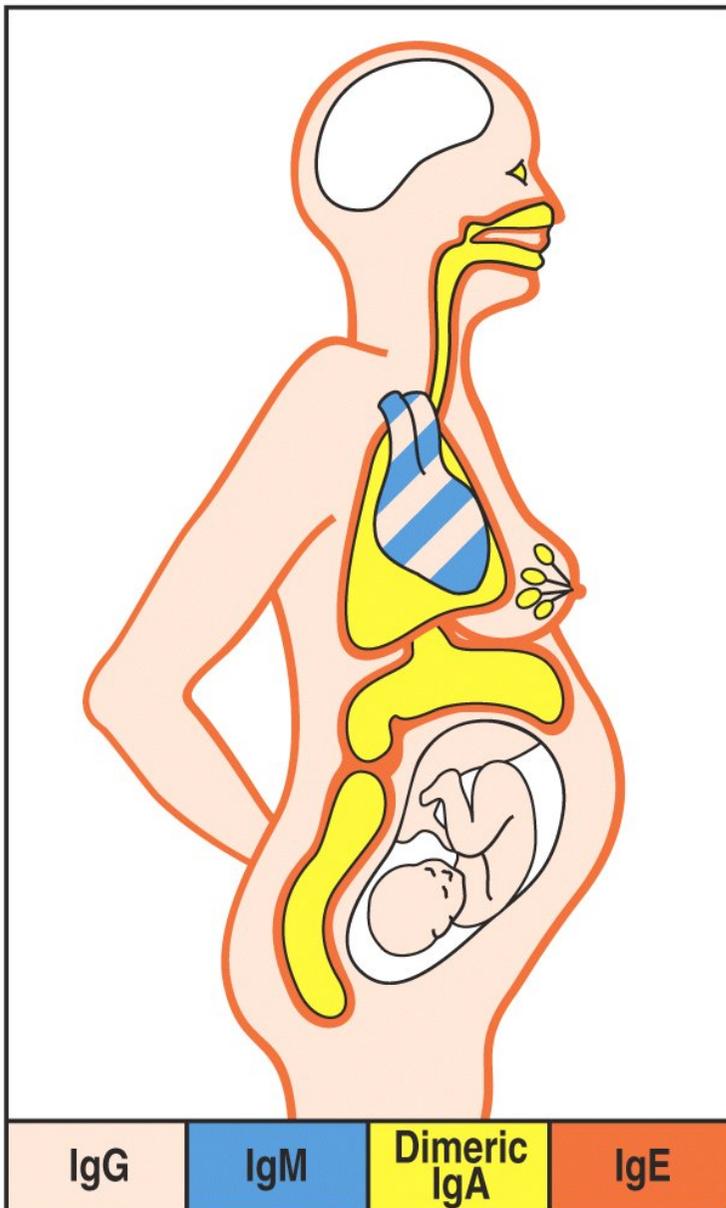


Figure 9-22 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Distribution	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Trasporto attraverso l'epitelio	+	-	-	-	-	-	+++ (dimer)	-
Trasporto attraverso la placenta	-	-	+++	+	++	+/-	-	-
Diffusione nei siti extravascolari	+/-	-	+++	+++	+++	+++	++ (monomer)	+
Livelli sierici (mg/ml)	1.5	0.04	9	3	1	0.5	2.1	3×10^{-5}

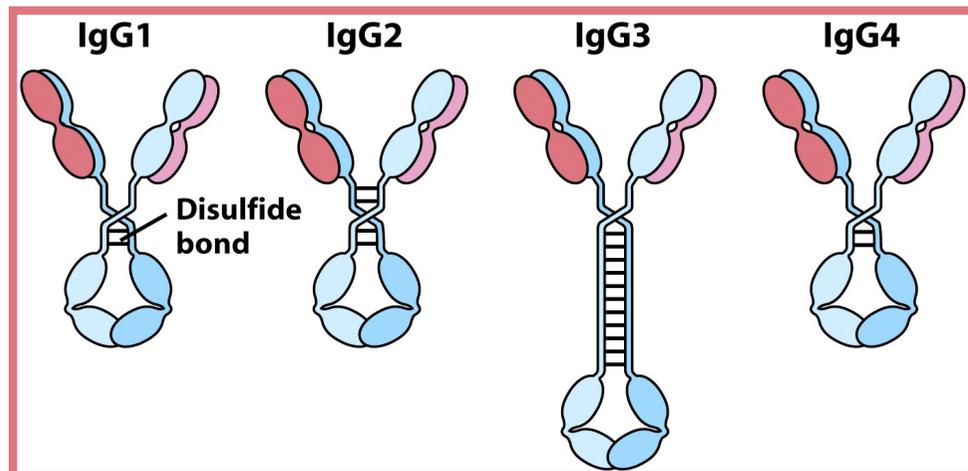
Figure 9-19 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Ogni CLASSE (e SOTTOCLASSE) di Immunoglobulina ha un diverso:

- Peso molecolare
- Concentrazione sierica
- Emivita
- Distribuzione

IgG

- Most abundant Ig in body
- Highest concentration in serum
- Major form produced in secondary response
- Four subclasses: IgG1-4

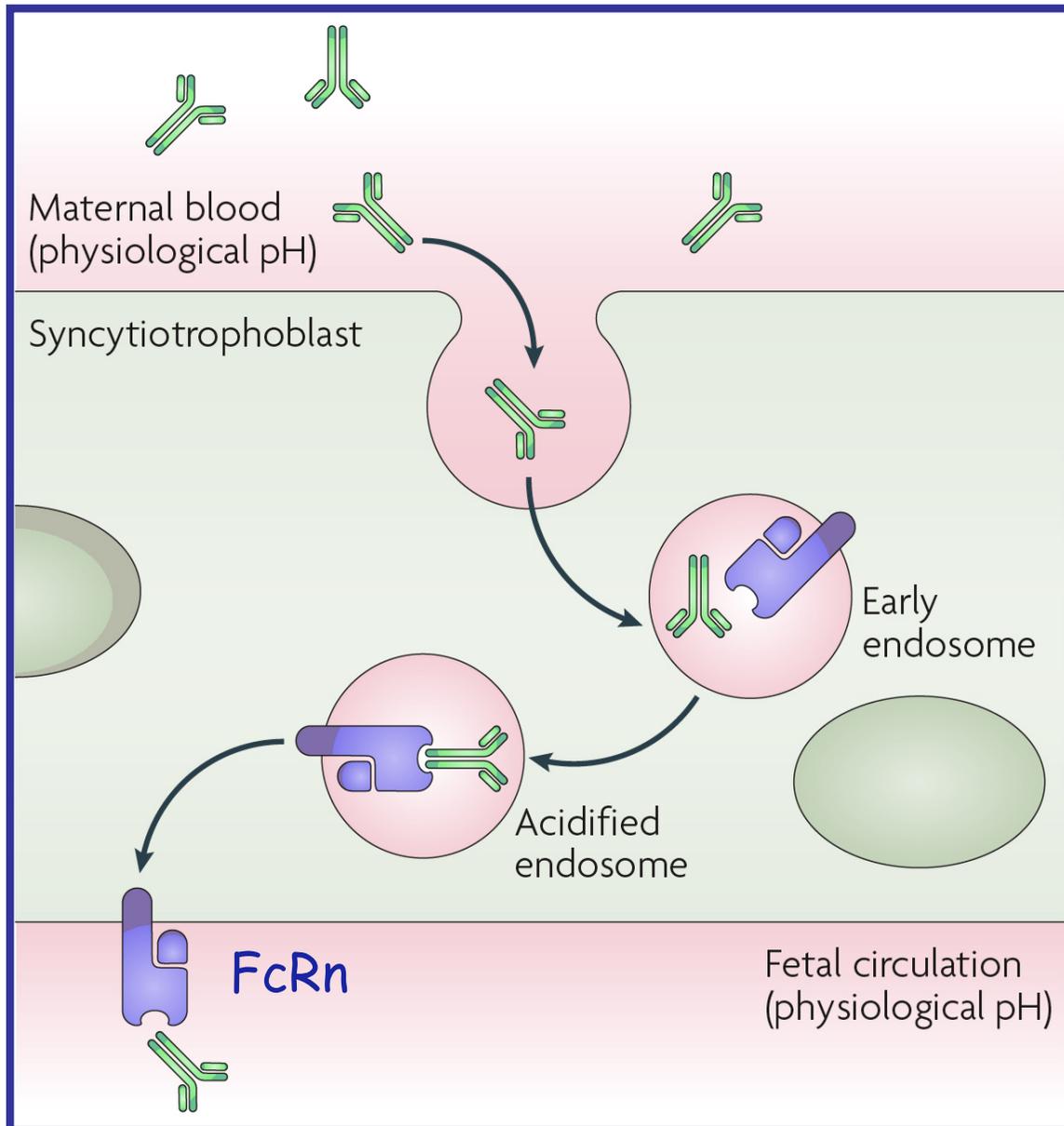


Proporzione delle IgG totali (%)	45–75	16–48	2–8	1–12
Lunghezza della cerniera della catena pesante (aminoacidi)	15	12	62	12
Numero di legami disolfuro nella cerniera	2	4	11	2
Suscettibilità della cerniera alla proteolisi	++	+	+++	+
Emivita nel siero (giorni)	21	21	7	21

IgG

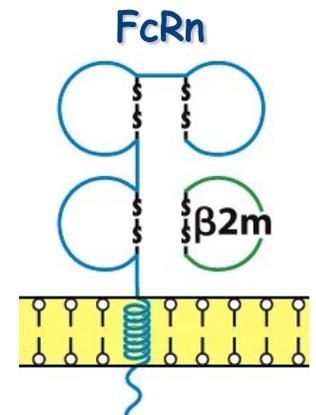
- **Attraversano la placenta e diffondono negli spazi extravascolari**
- **Neutralizzano l'antigene**
- **Fissano il complemento**
- **Legano recettori Fc**
 - **Fagocitosi**
 - **ADCC**

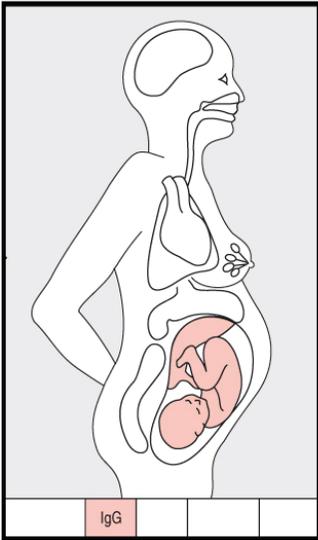
FcRn media il trasferimento delle IgG dalla madre al feto



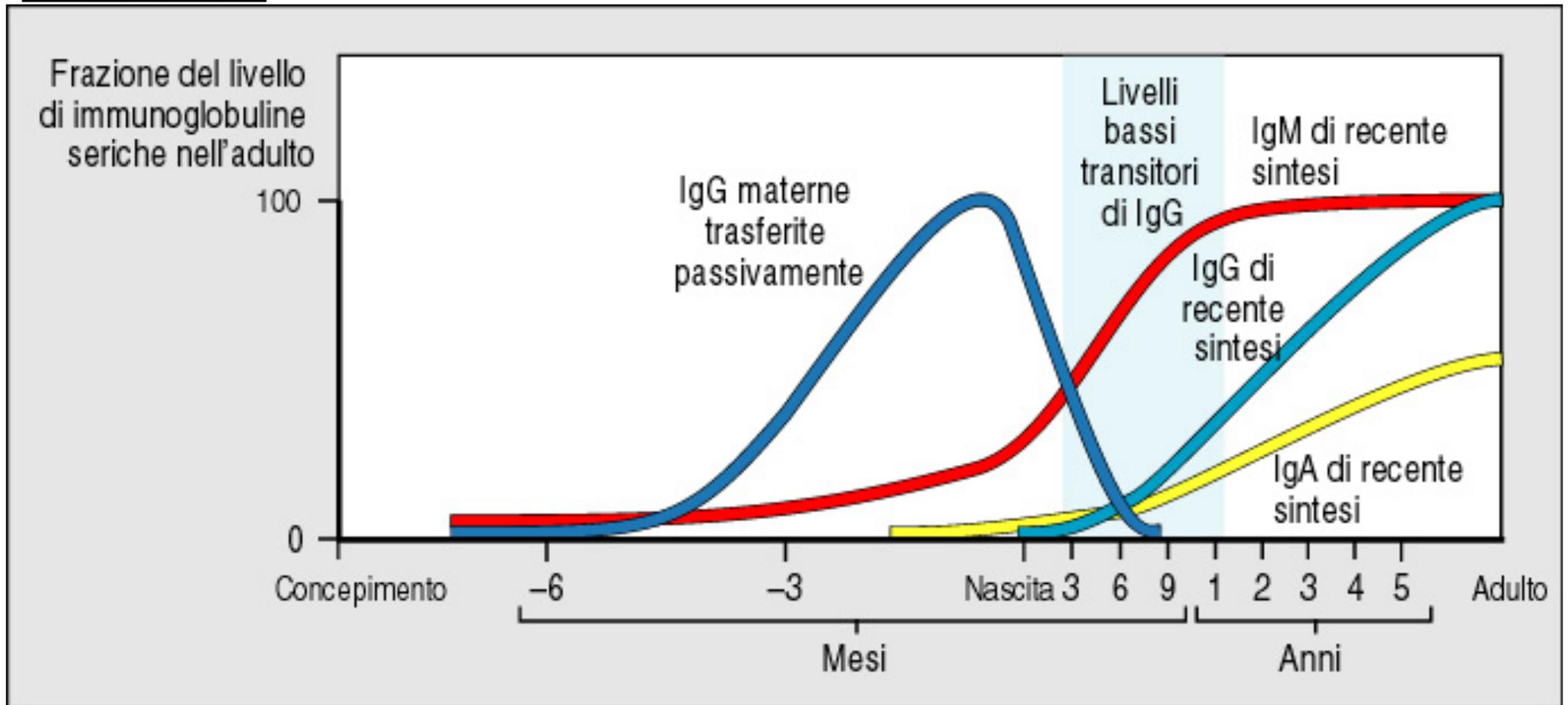
FcRn= recettore neonatale per la porzione Fc delle IgG

FcRn ha una struttura simile a quella della molecola MHC I: è formato da una catena α e β_2 microglobulina.

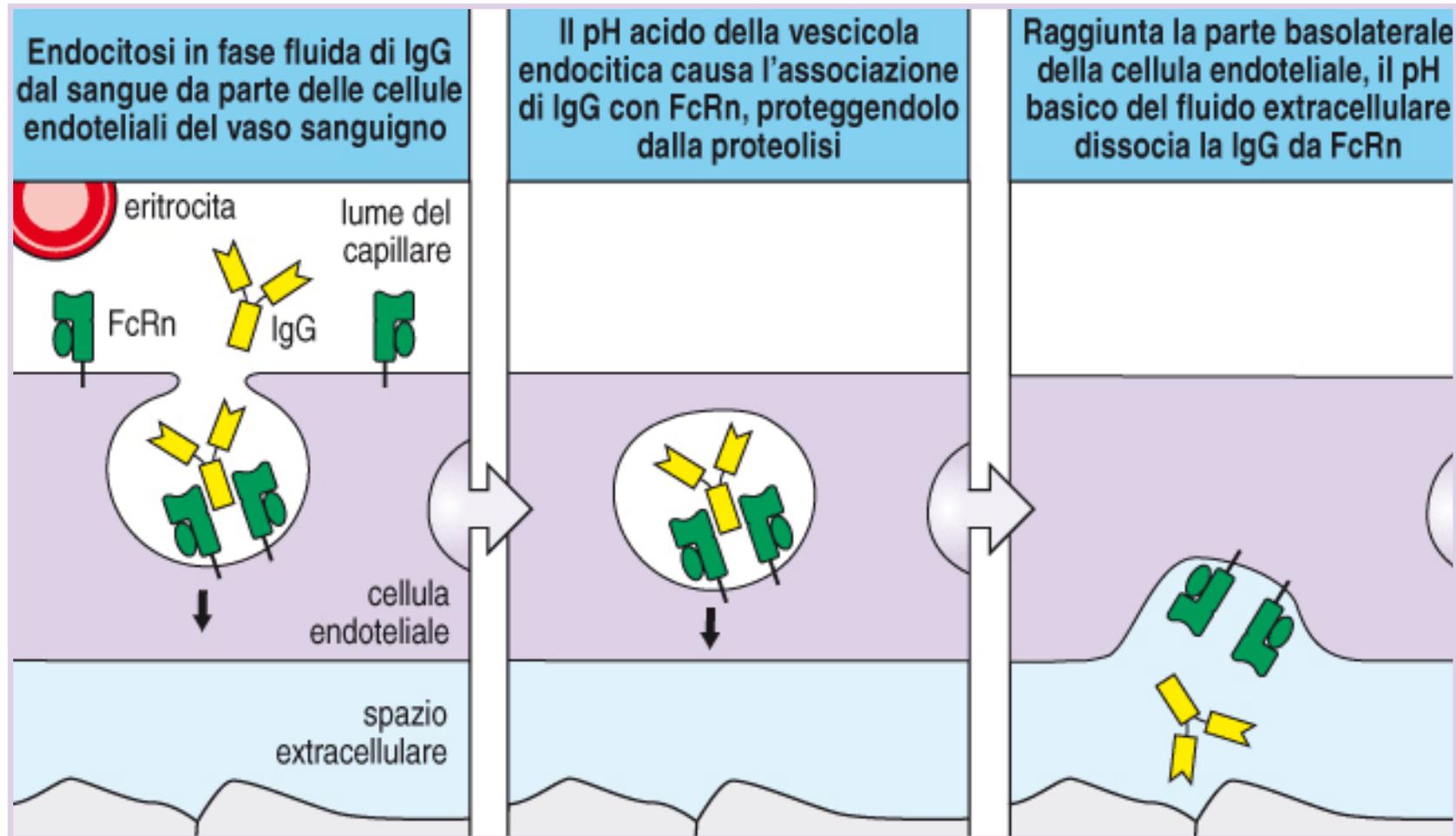




Le IgG trasferite passivamente proteggono il neonato nei primi mesi di vita!!



Il recettore FcRn è espresso anche dalle cellule endoteliali vascolari

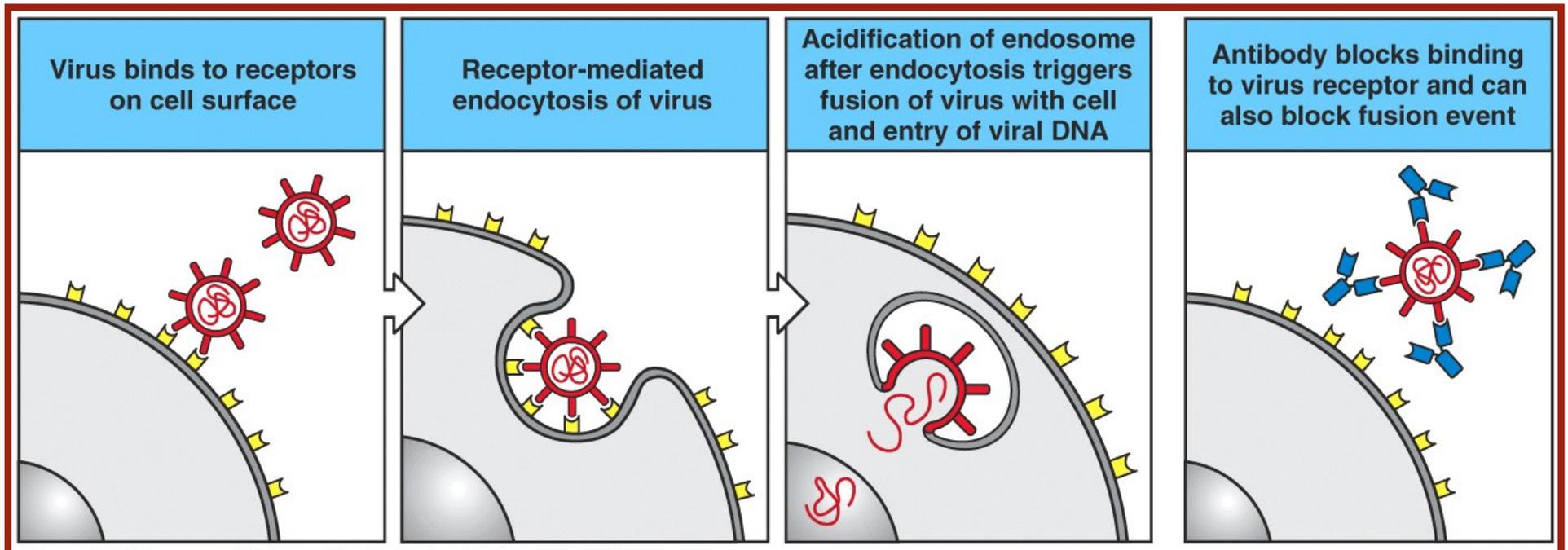
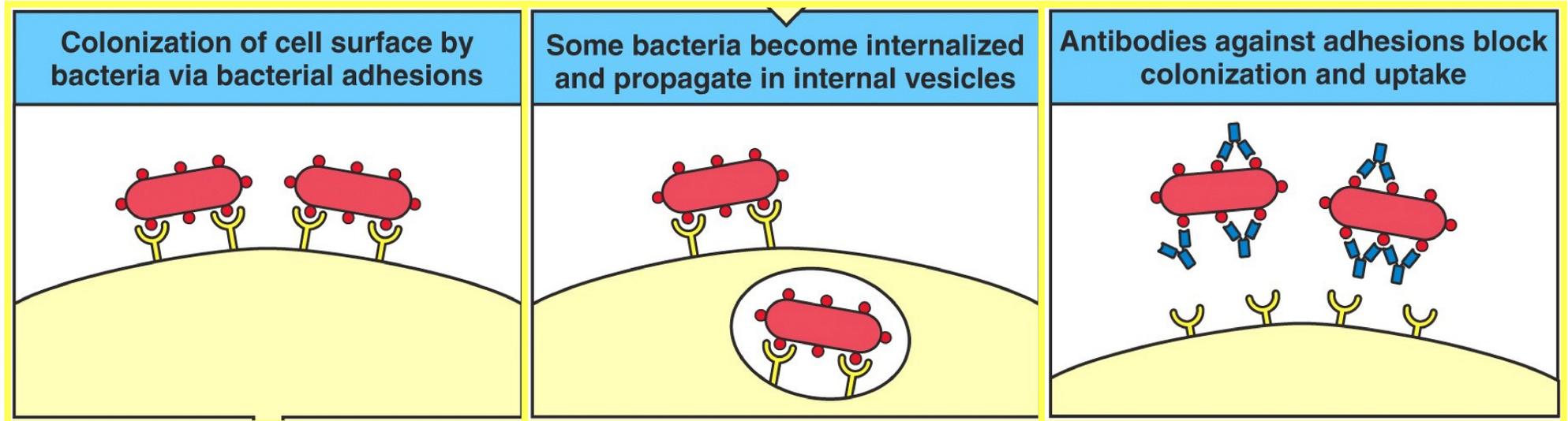


FcRn protegge anche le IgG dalla degradazione aumentando l'emivita (circa tre settimane)

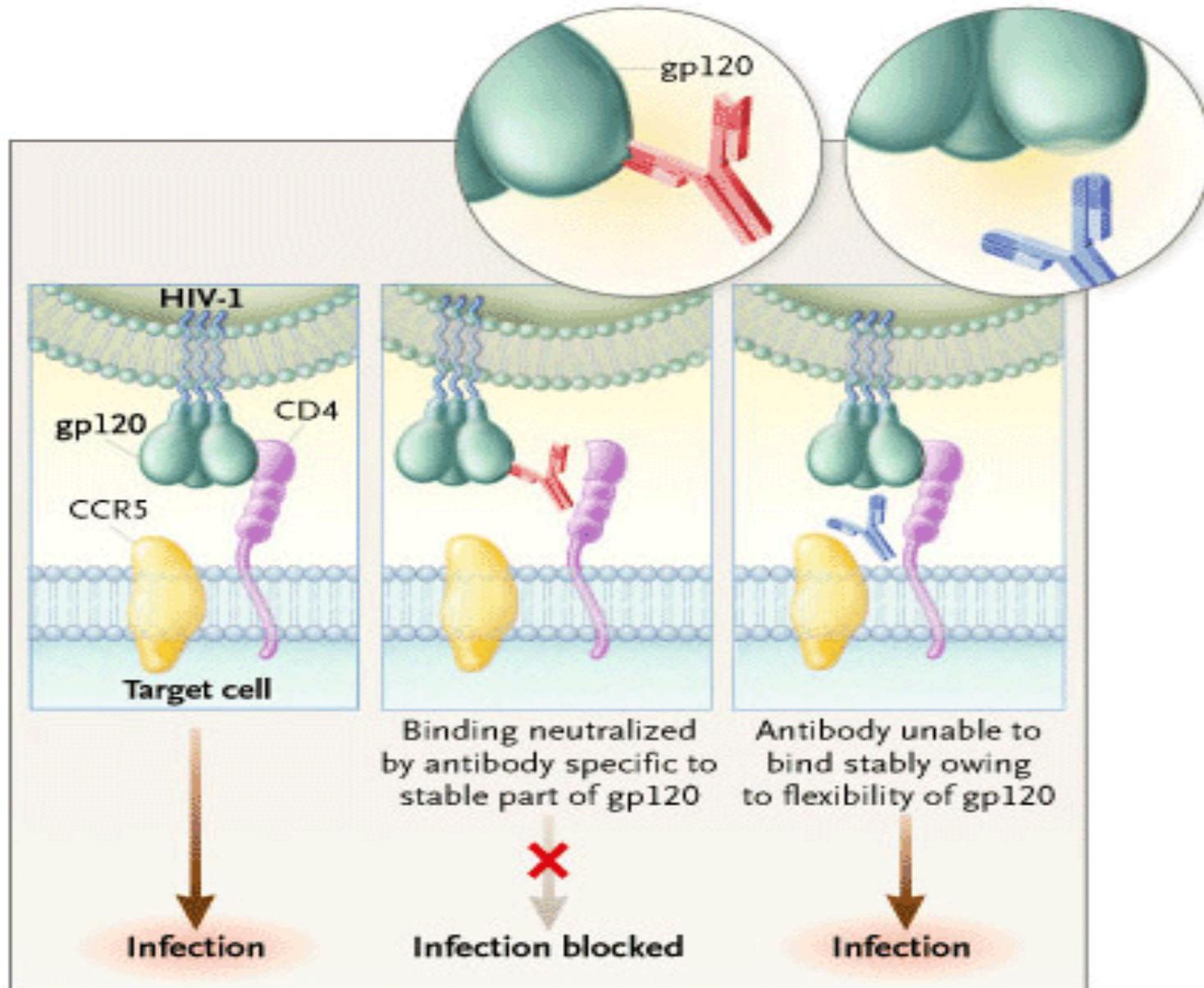
IgG

- Possono attraversare la placenta
- Neutralizzano l'antigene
- Fissano il complemento
- Legano recettori Fc
 - Fagocitosi
 - ADCC

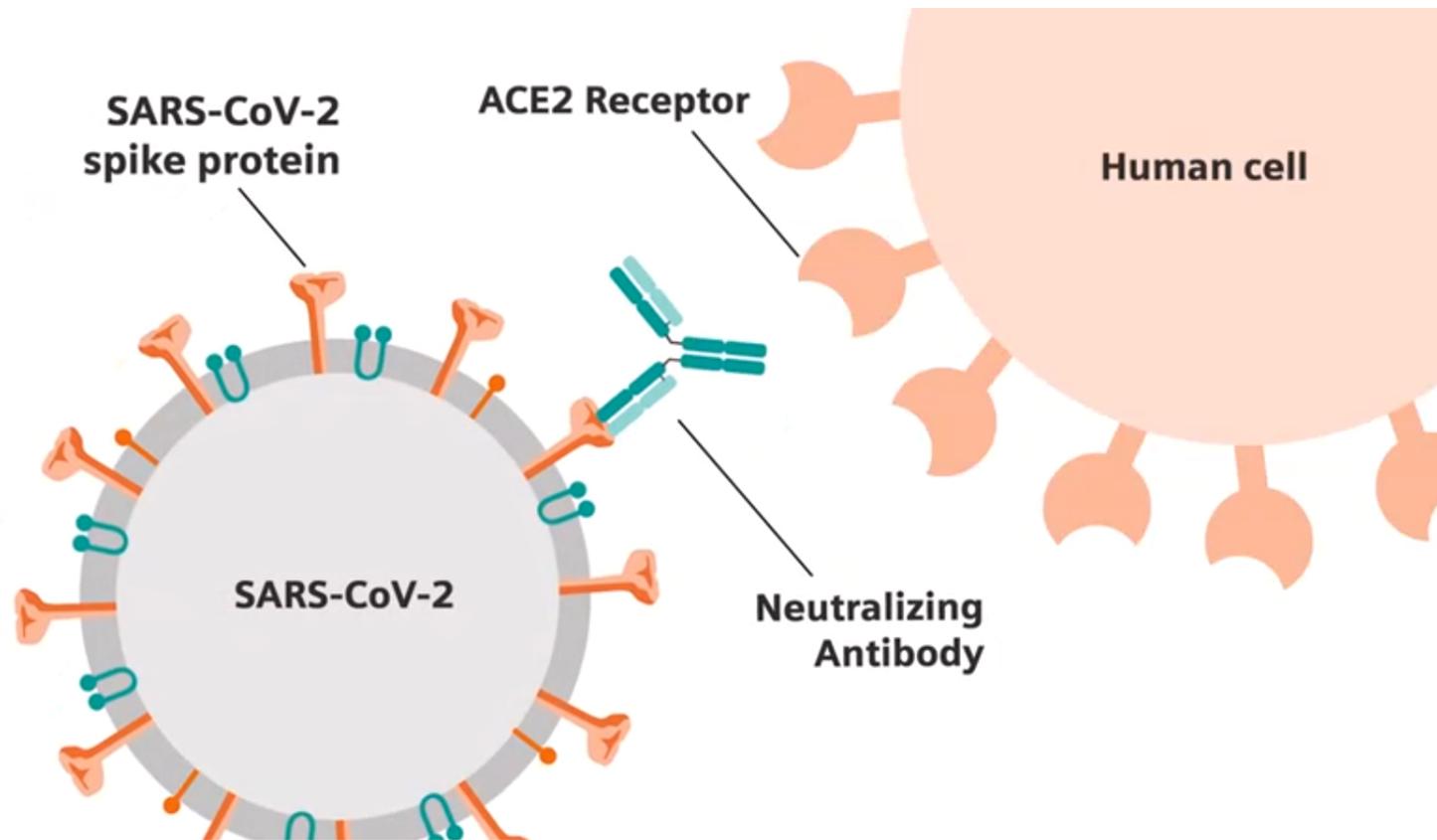
Le IgG (tutte le sottoclassi) neutralizzano l'antigene e ne bloccano la capacità di infettare cellule



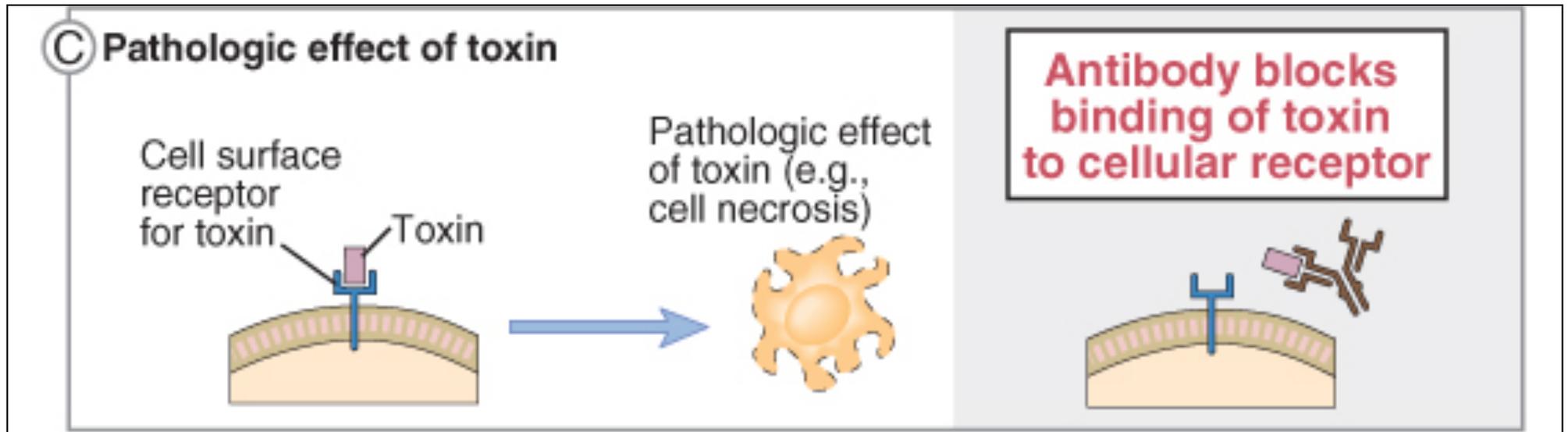
anticorpi IgG anti-gp120 prevengono l'ingresso di HIV nella cellula



Anticorpi IgG neutralizzanti anti-spike prevengono l'ingresso di Sars-Cov2 nella cellula



Gli anticorpi IgG neutralizzano tossine batteriche



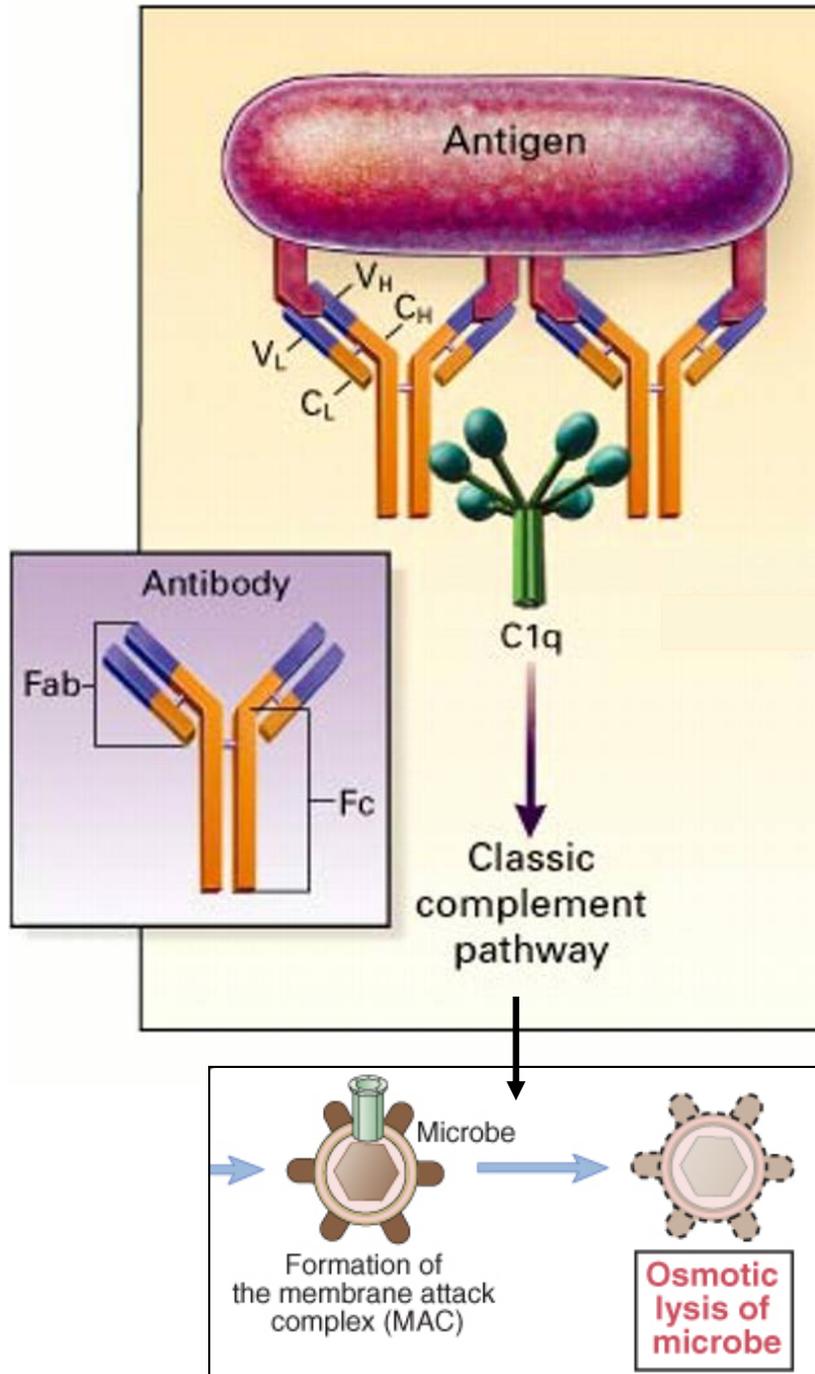
IgG

- Possono attraversare la placenta
- Neutralizzano l'antigene
- **Fissano il complemento**
- Legano recettori Fc
 - Fagocitosi
 - ADCC

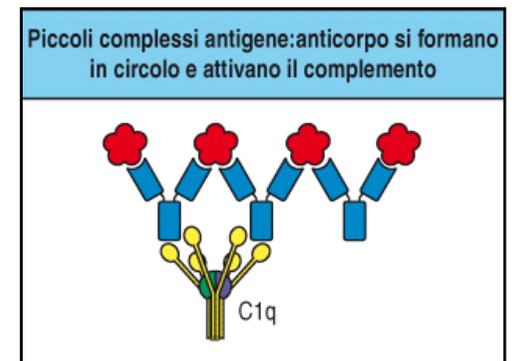
Le IgG (soprattutto le IgG3) attivano il **complemento**

I frammenti Fab legano l'antigene e il frammento Fc rimane accessibile.....

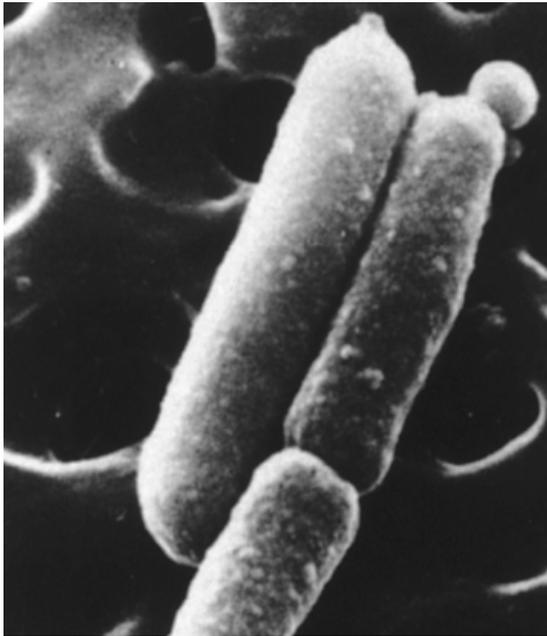
...ma per attivare la cascata del complemento almeno due molecole IgG devono simultaneamente legare una molecola C1q.



Anche antigeni solubili possono legare più molecole di IgG e attivare il C1q: clearance degli IC



Electron micrographs of the effect of antibodies and complement upon bacteria



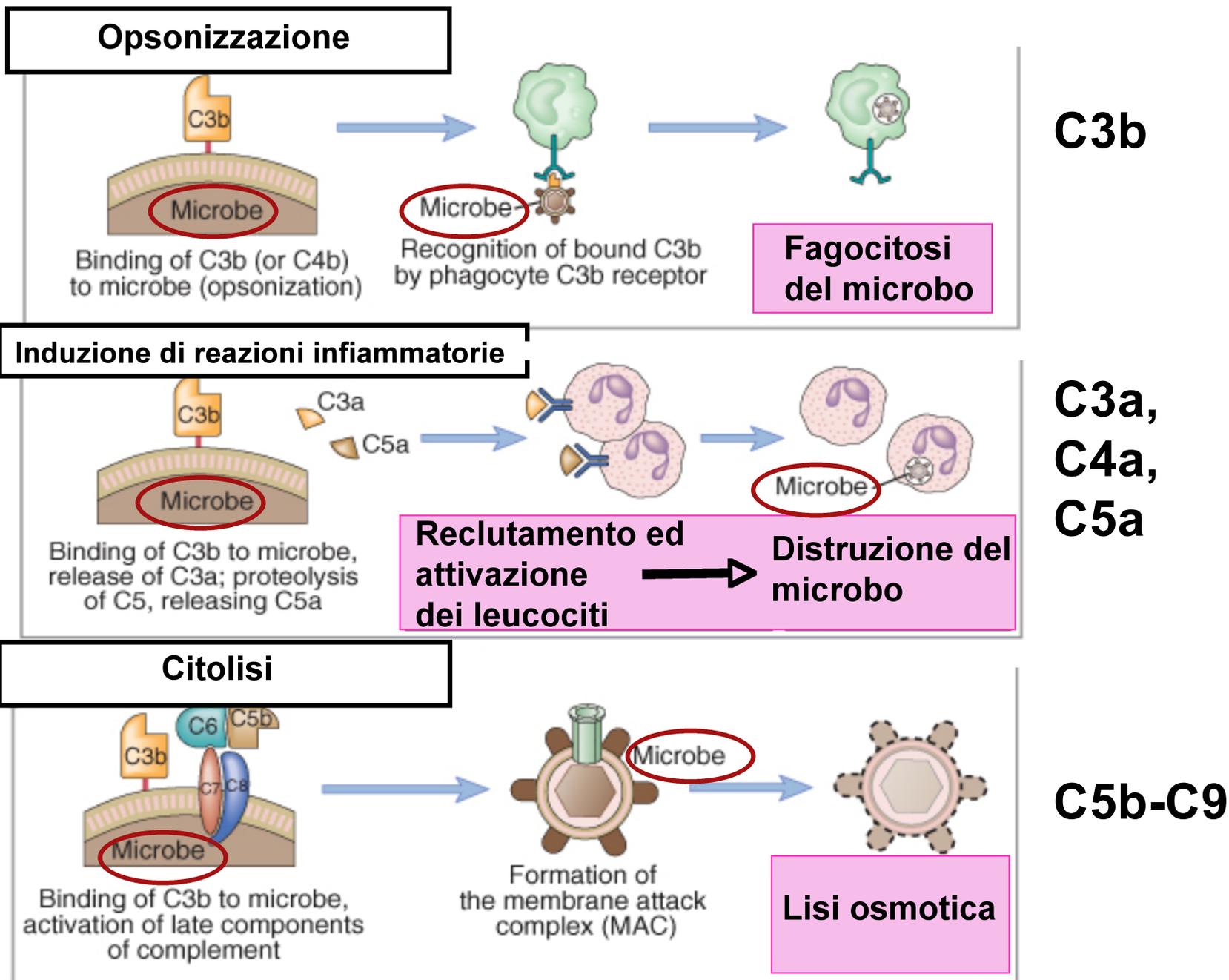
E. coli



Antibody + complement- mediated
damage to E. coli



Funzioni del complemento

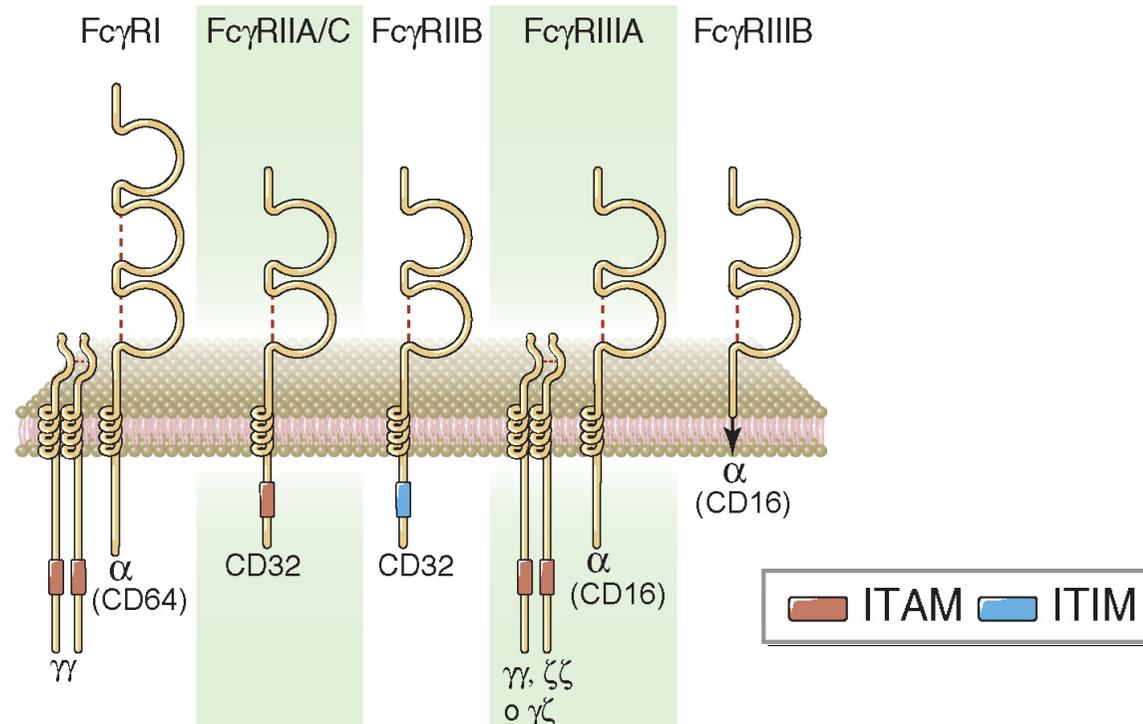


IgG

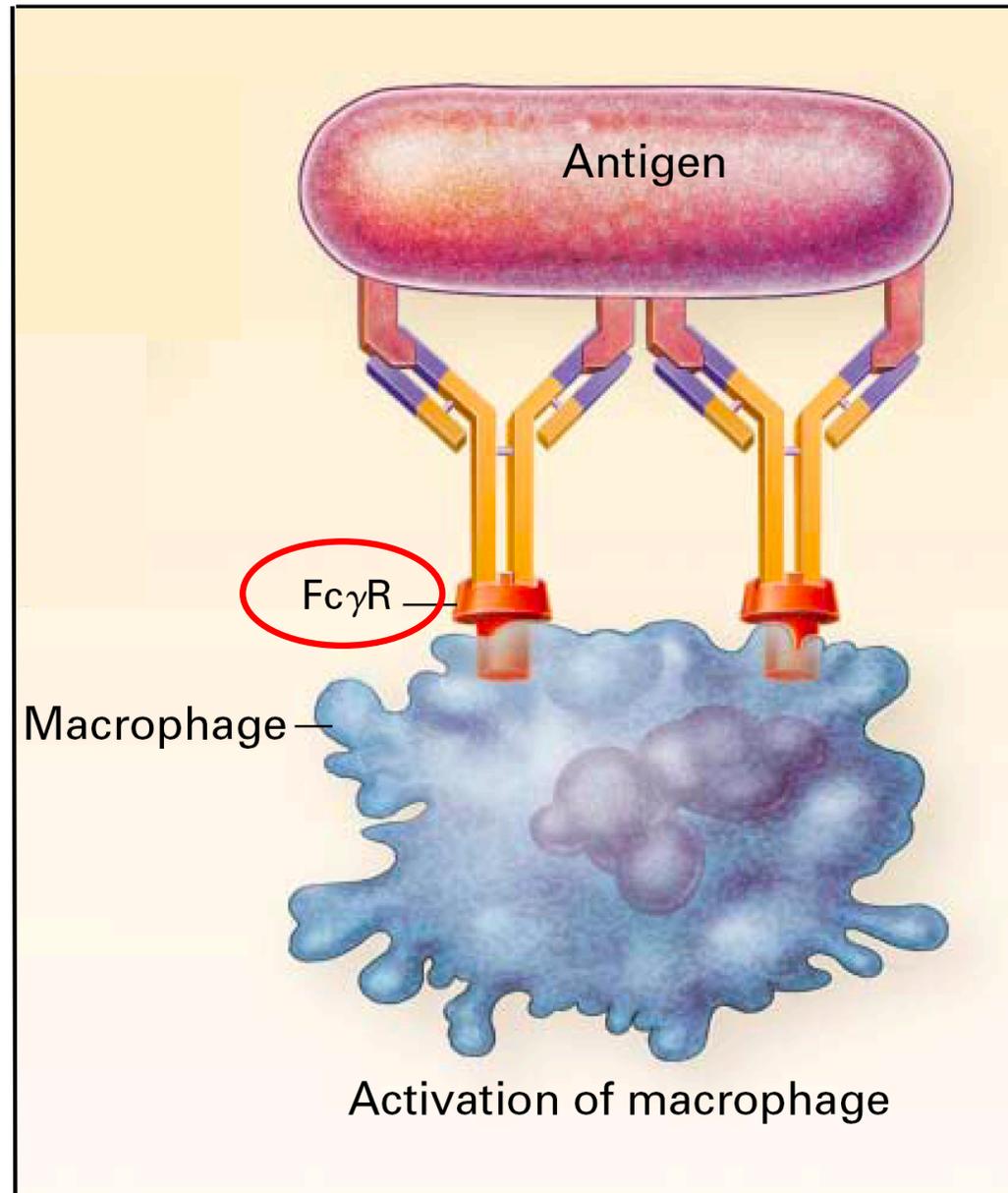
- Possono attraversare la placenta
- Neutralizzano l'antigene
- Fissano il complemento
- **Legano recettori Fc attivando:**
 - Fagocitosi
 - ADCC
 - Favorendo la presentazione dell'antigene ai linfociti T
 - ADE

La famiglia dei recettori Fc γ

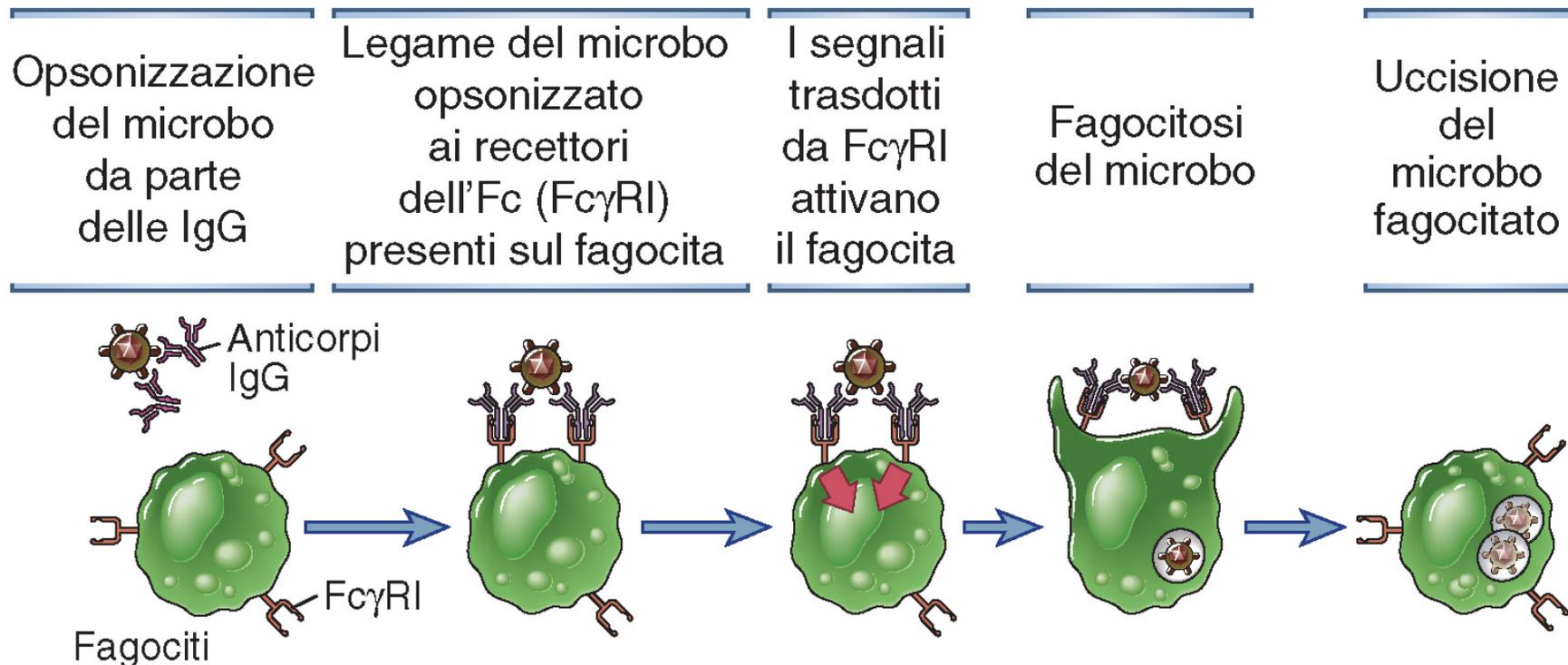
Fc Receptor	Affinity for Ig	Cell distribution	Function
Fc γ RI (CD64)	High ($K_d \sim 10^{-9}$ M); binds IgG1 and IgG3; can bind monomeric IgG	Macrophages, neutrophils; also eosinophils	Phagocytosis; activation of phagocytes
Fc γ RIIA (CD32)	Low ($K_d \sim 0.6-2.5 \times 10^{-6}$ M)	Macrophages, neutrophils; eosinophils, platelets	Phagocytosis; cell activation (inefficient)
Fc γ RIIB (CD32)	Low ($K_d \sim 0.6-2.5 \times 10^{-6}$ M)	B lymphocytes	Feedback inhibition of B cells
Fc γ RIII (CD16)	Low ($K_d \sim 0.6-2.5 \times 10^{-6}$ M)	NK cells	Antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC)



Il frammento Fc delle IgG si lega a recettori espressi da leucociti: $Fc\gamma R$



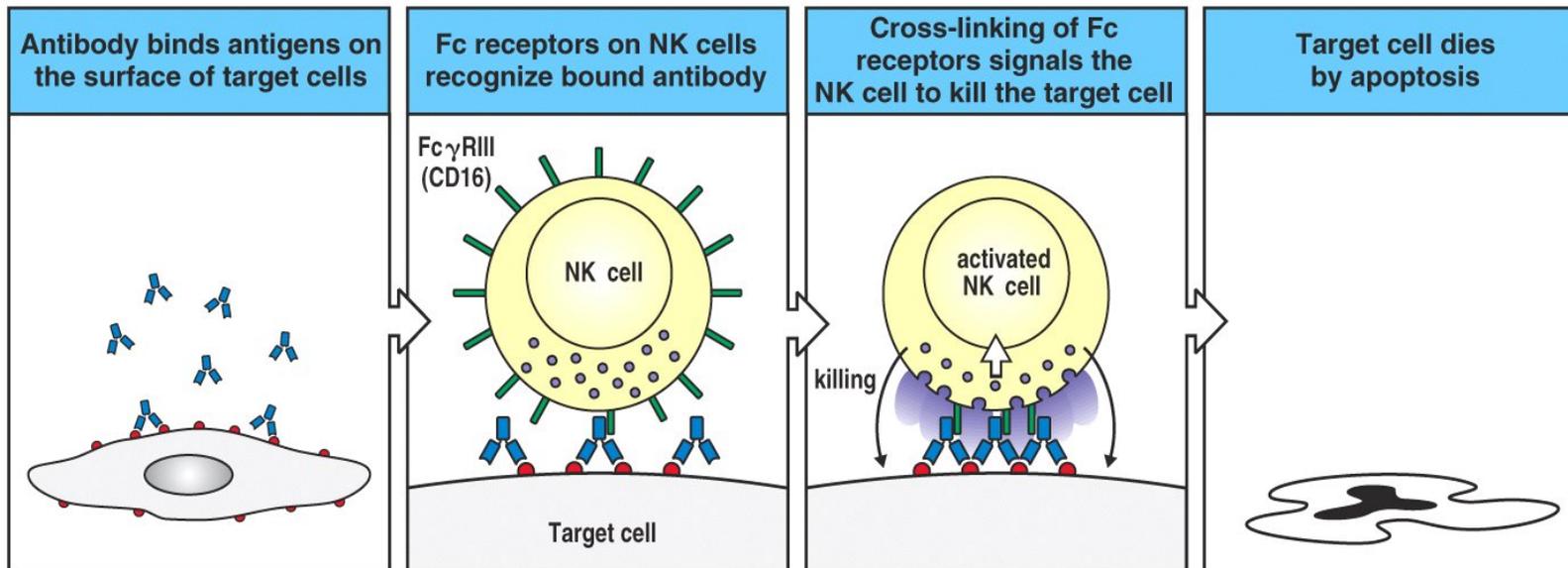
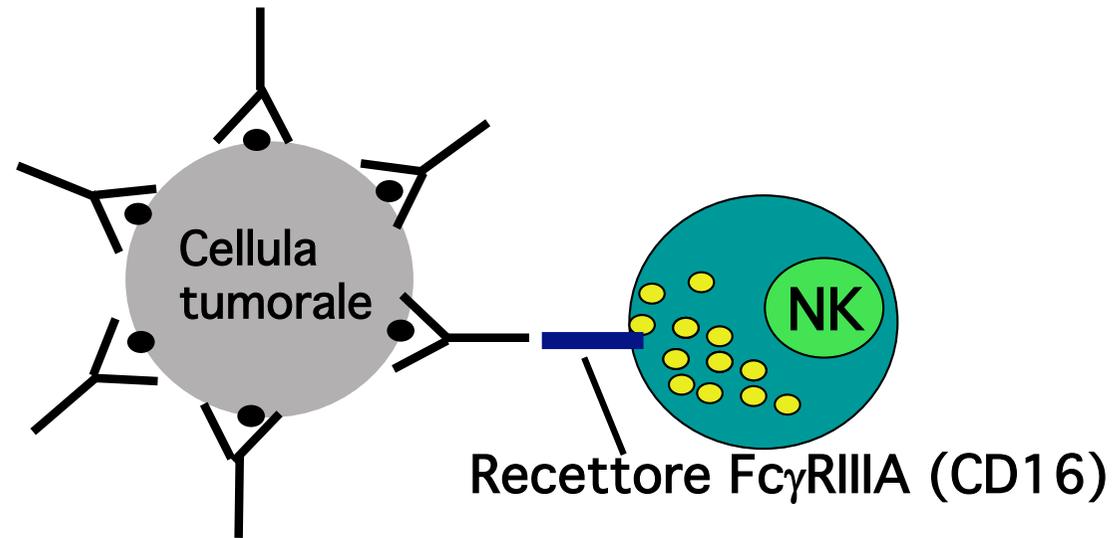
Le IgG (soprattutto IgG1 e IgG3) **opsonizzano** patogeni o cellule e ne promuovono la fagocitosi



Antibody crosslinking is necessary for phagocyte activation!

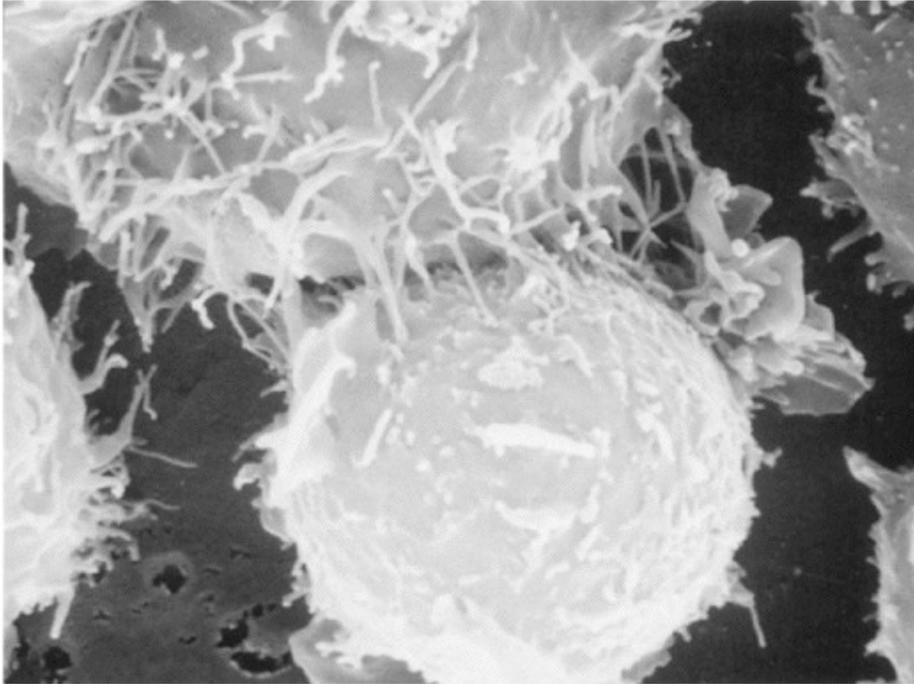
Le IgG (soprattutto IgG1 e IgG3) **opsonizzano** cellule e ne provocano la morte mediata da cellule Natural Killer

Citotossicità Cellulo-mediata Anticorpo-Dipendente (ADCC)

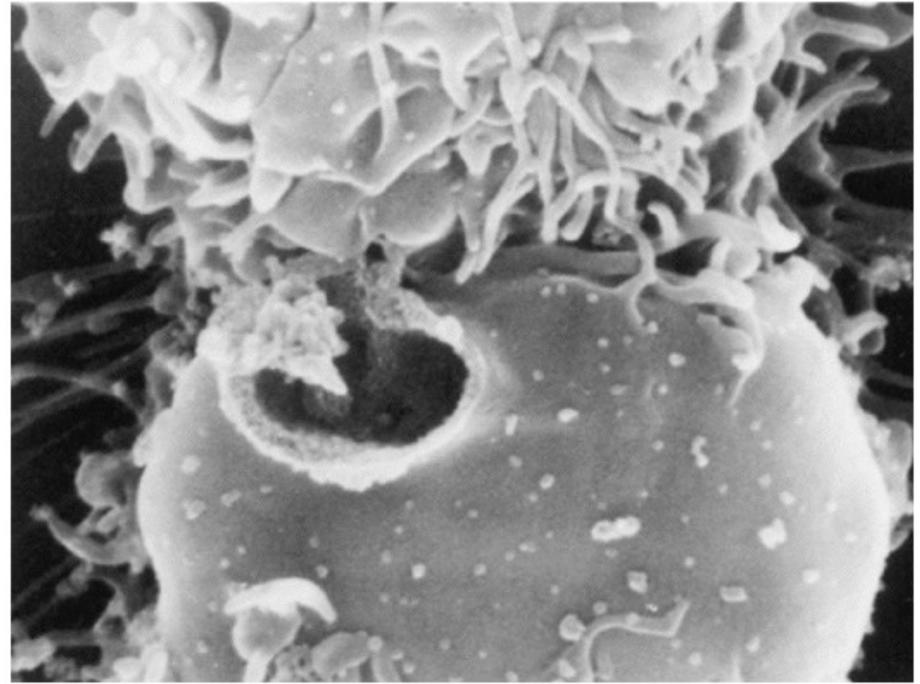


The kiss of death

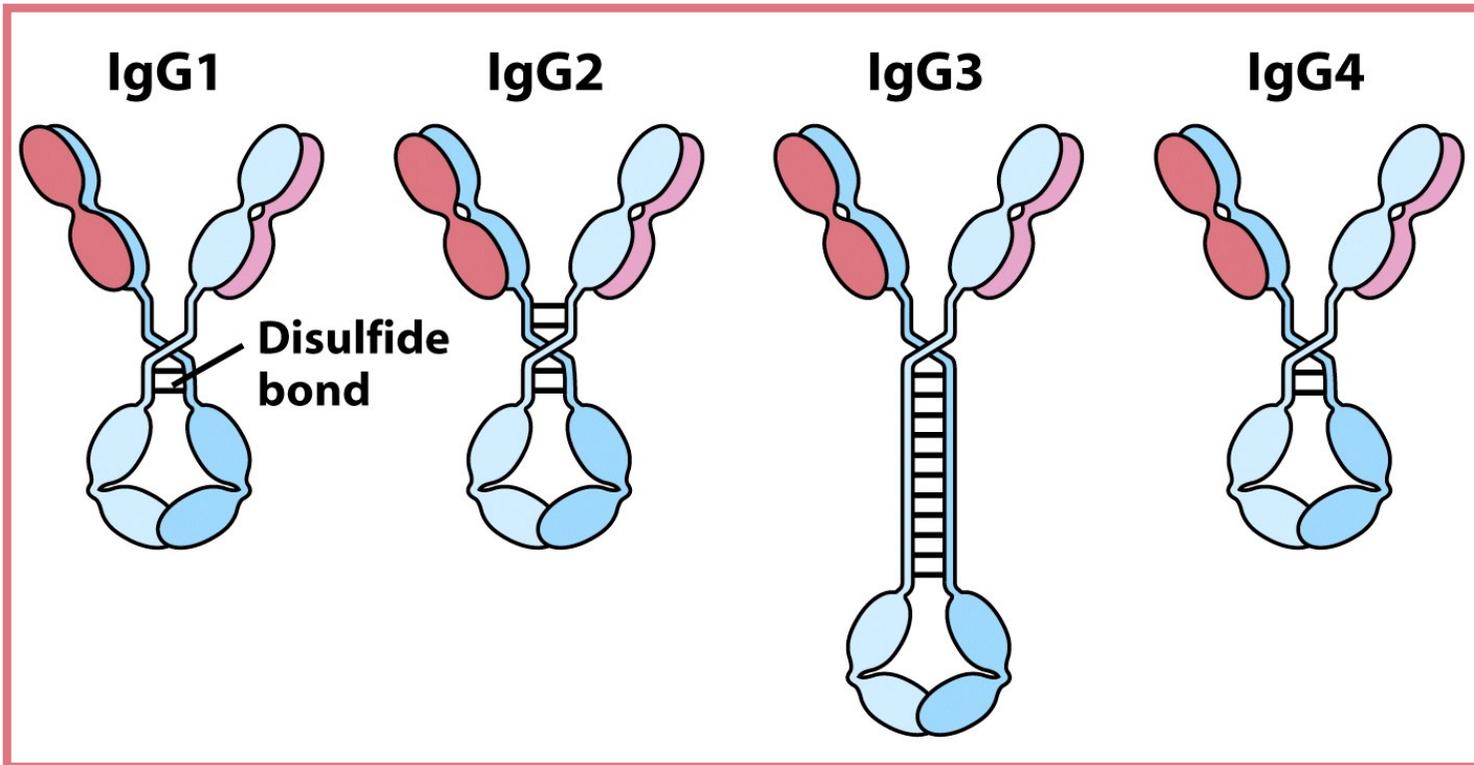
(a)



(b)



Functions of IgG subclasses



+	-	+	+ Cross placental barrier
++	+	+++	- Complement activation
++	+/-	++	- Binding to Fc receptors
+++	++	+++	+++ Neutralization

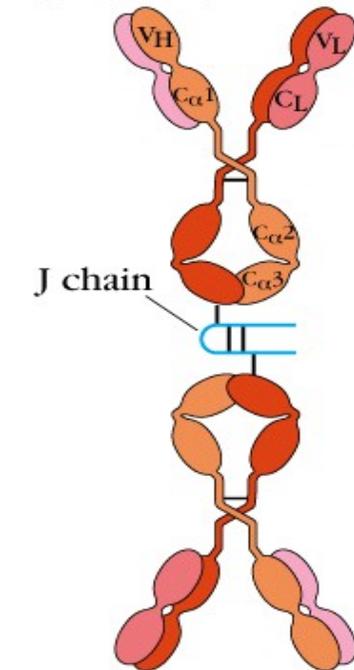
IgA

E' l'isotipo anticorpale prodotto in quantità più elevata >50 mg/kg al giorno

Le IgA possono essere rilasciate sia in forma monomerica che in forma dimerica.

Il dimero è stabilizzato dalla presenza di una catena invariante aggiuntiva, la catena J.

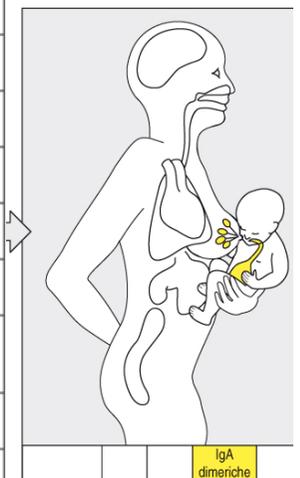
IgA (dimer)



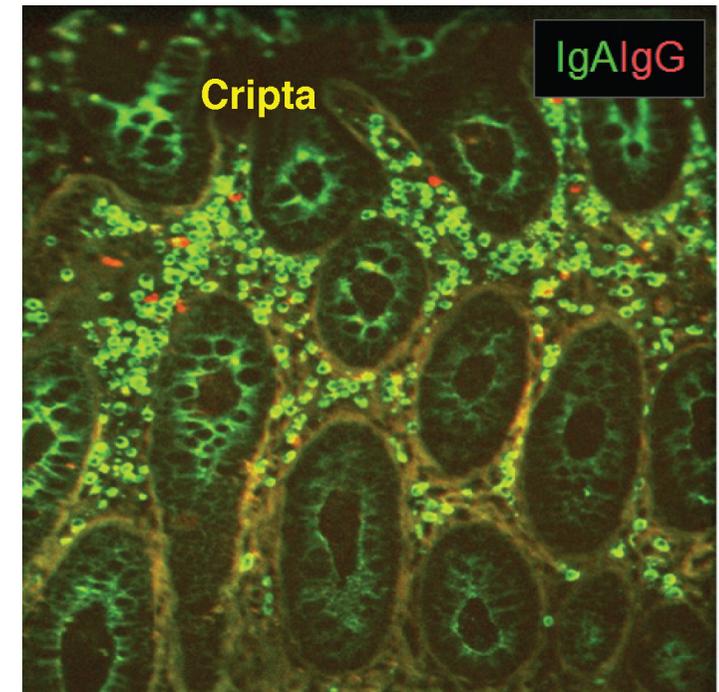
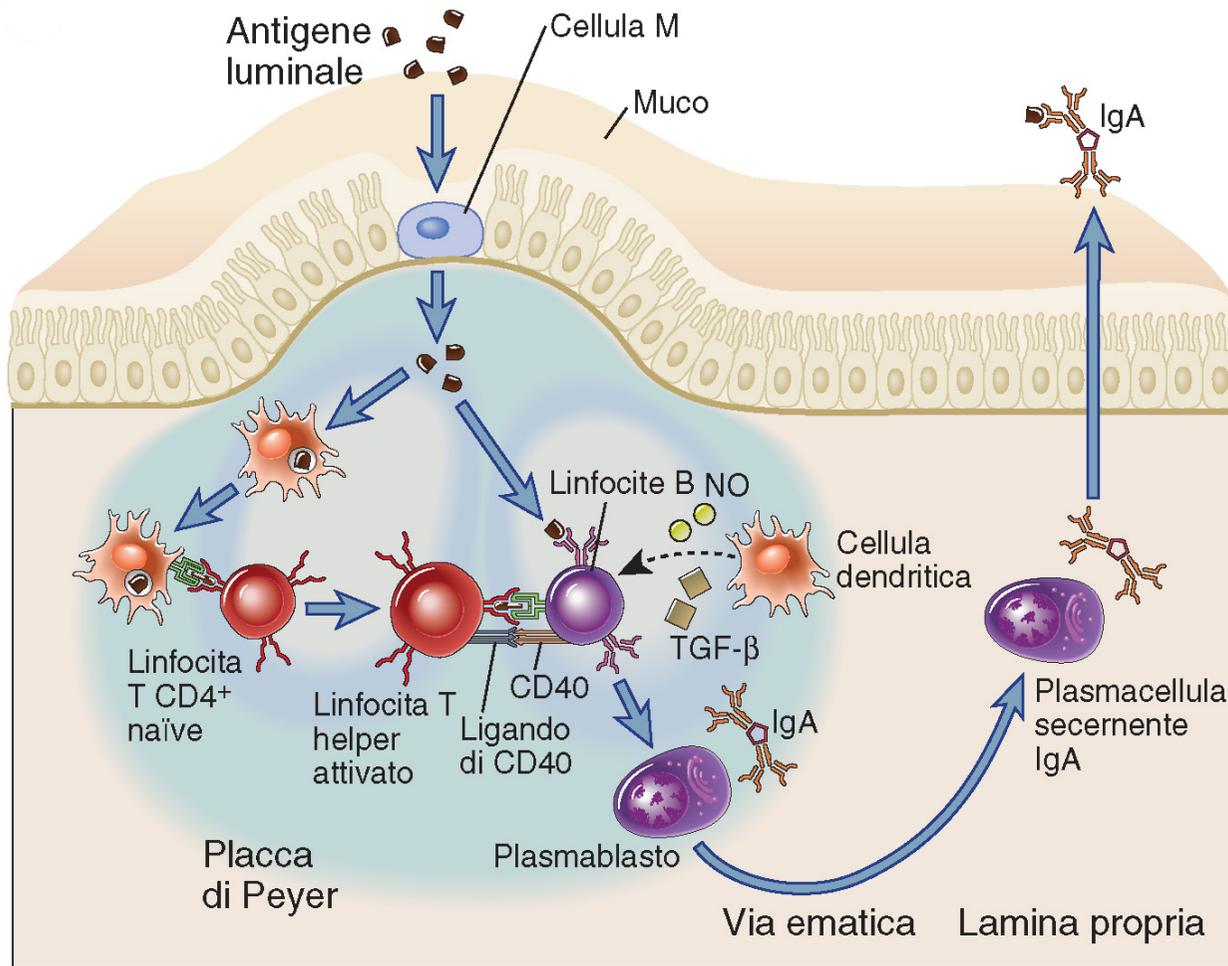
Esistono due sottoclassi di IgA:

- **IgA1** è più abbondante nel sangue e nei fluidi extracellulari.
- **IgA2** è più abbondante nel colon ed in generale è prodotta in quantità elevate nei tessuti più popolati da microorganismi (l'intestino tenue e crasso, la bocca e le ghiandole mammarie). IgA secretorie-dimeriche

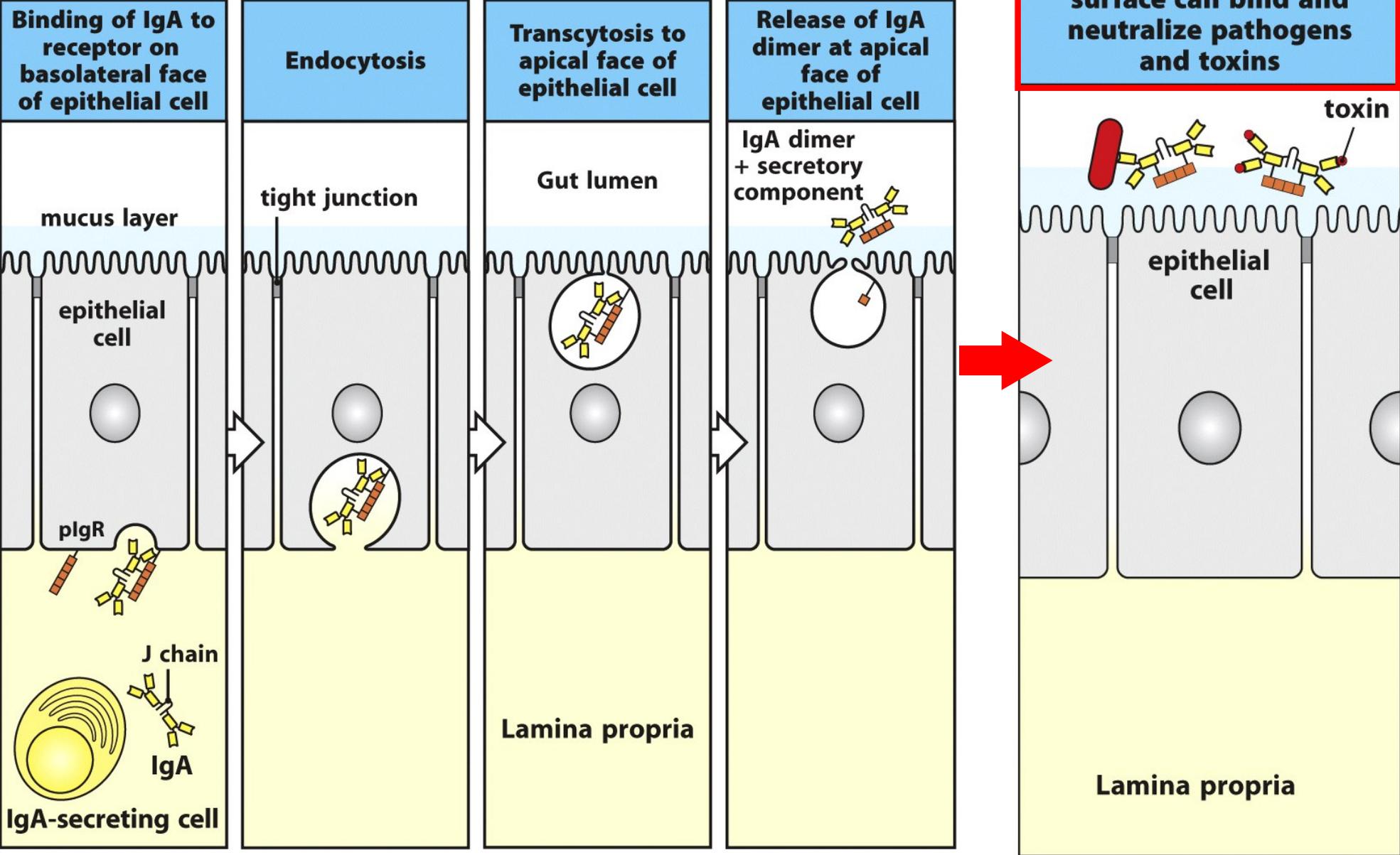
Tessuto	% IgA1	% IgA2	Rapporto IgA1/A2
Milza, linfodi periferici, tonsille	93	7	13,3
Mucosa nasale	93	7	13,3
Mucosa bronchiale	75	25	3,0
Ghiandole lacrimali (dotti lacrimali)	80	20	4,0
Ghiandole salivari	64	36	1,8
Ghiandole mammarie	60	40	1,5
Mucosa gastrica (stomaco)	83	17	4,9
Duodeno-digiuno (porzione superiore dell'intestino tenue)	71	29	2,4
Ileo (porzione inferiore dell'intestino tenue)	60	40	1,5
Colon (intestino crasso)	36	64	0,6



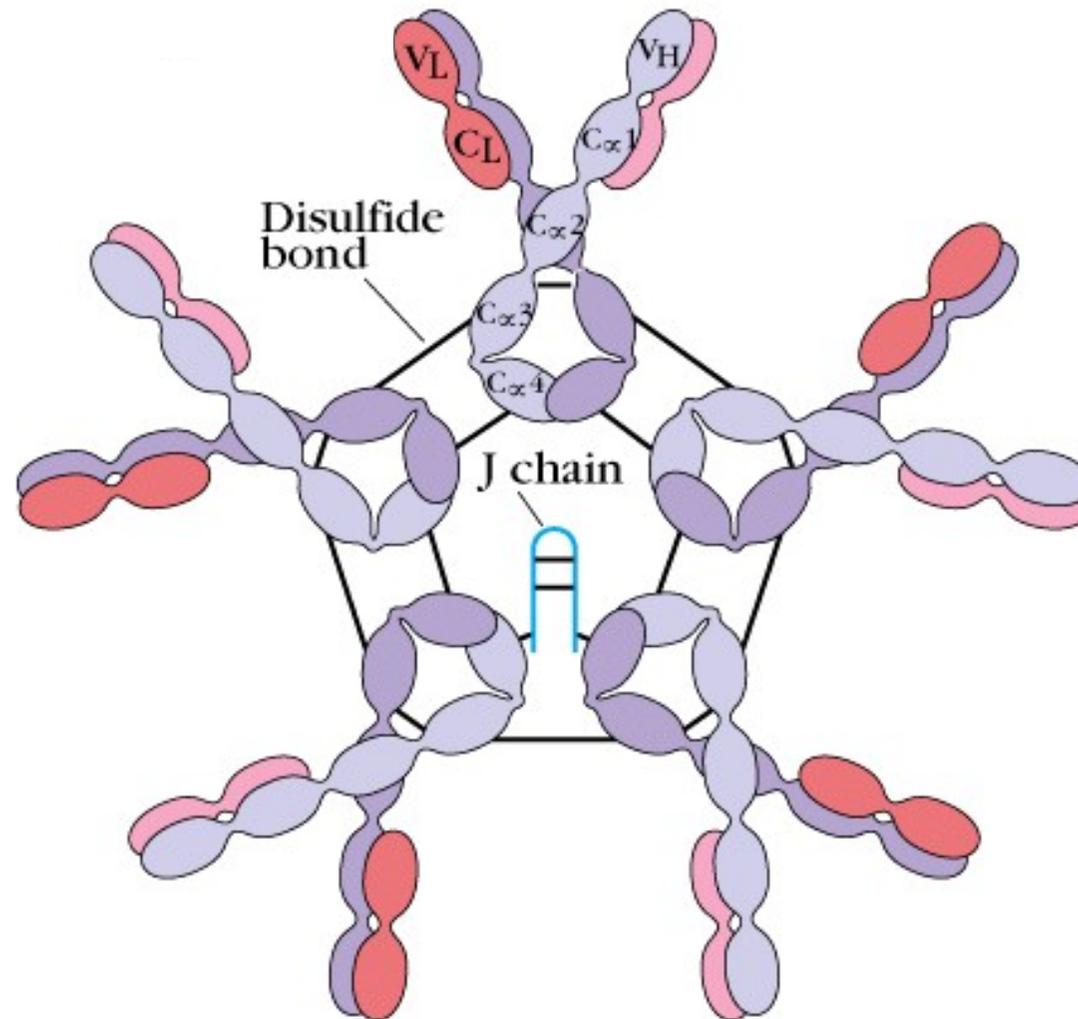
Le plasmacellule della mucosa intestinale producono essenzialmente IgA



Poly Ig receptor-mediated transport of IgA

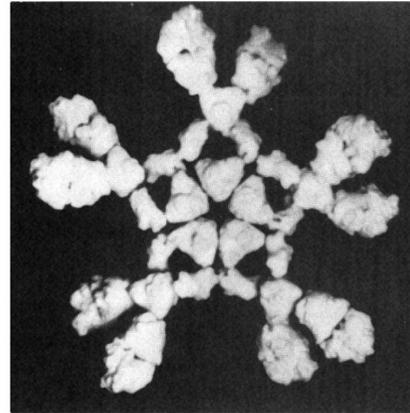
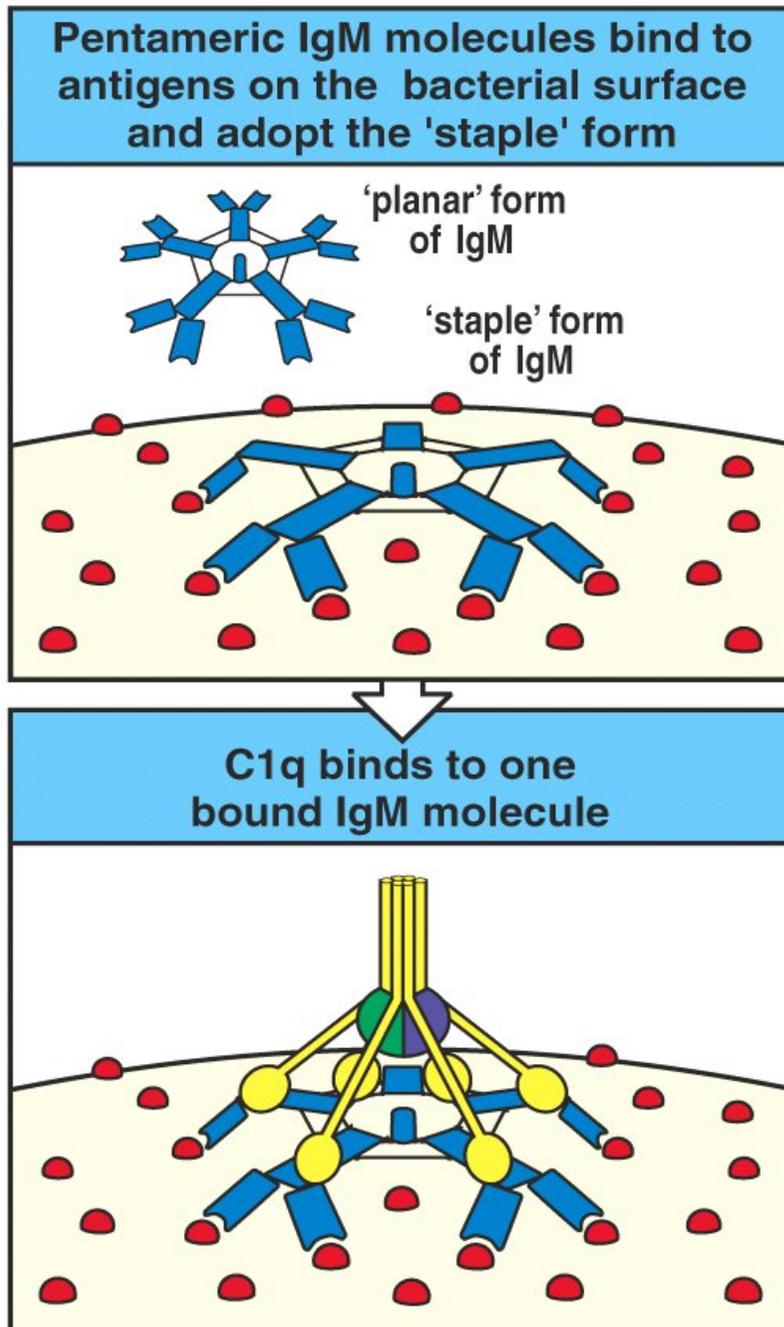


IgM

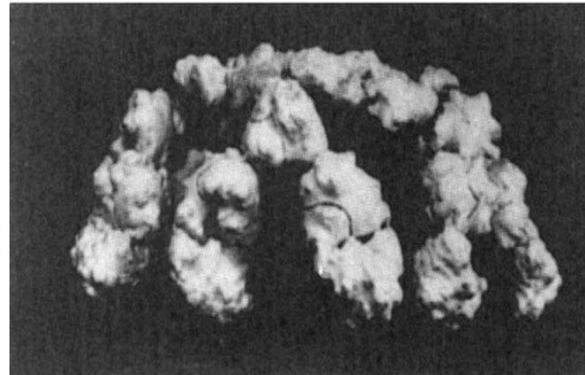


- E' presente in forma monomerica solo come Ig di membrana
- E' sempre secreta in forma pentamerica
- E' l'isotipo più abbondante nella risposta primaria
- E' l'isotipo più efficiente nell'attivare il complemento

Il legame con l'antigene cambia la conformazione dell'IgM



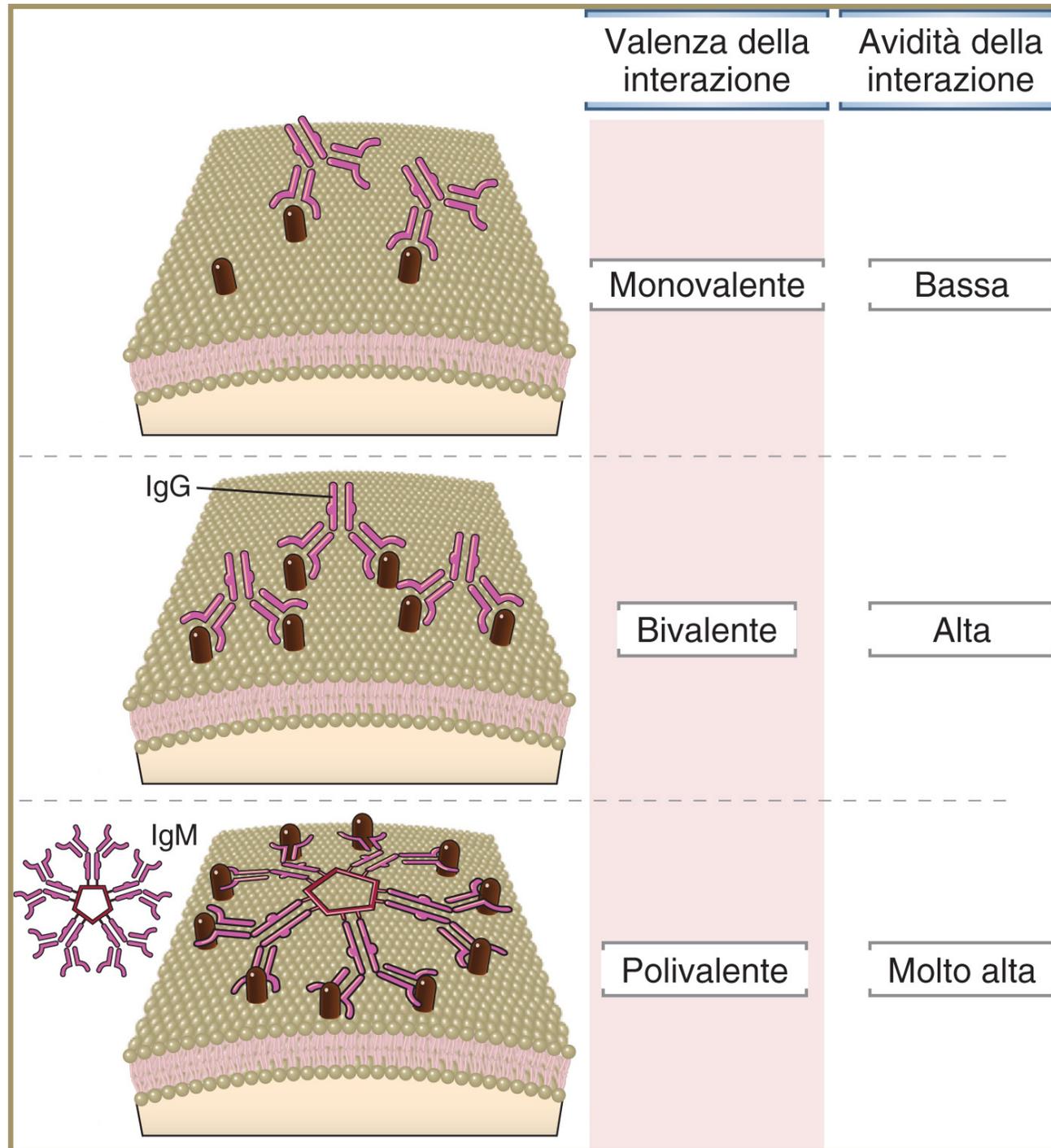
Le IgM libere hanno una conformazione planare e non sono in grado di fissare il complemento.



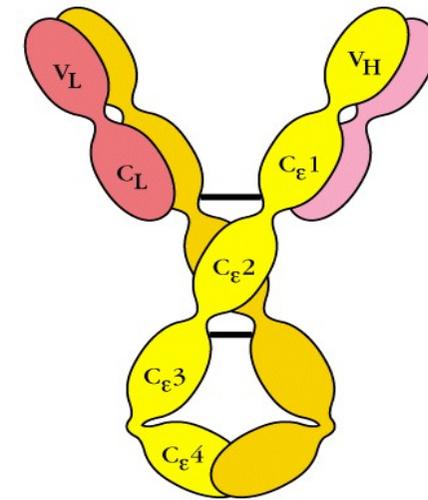
Il legame con l'antigene induce un cambiamento conformazionale che rende accessibile la porzione costante.

L'IgM complessata lega il componente C1q del complemento attivandolo.

Le IgM essendo polivalenti hanno una maggiore avidità delle IgG



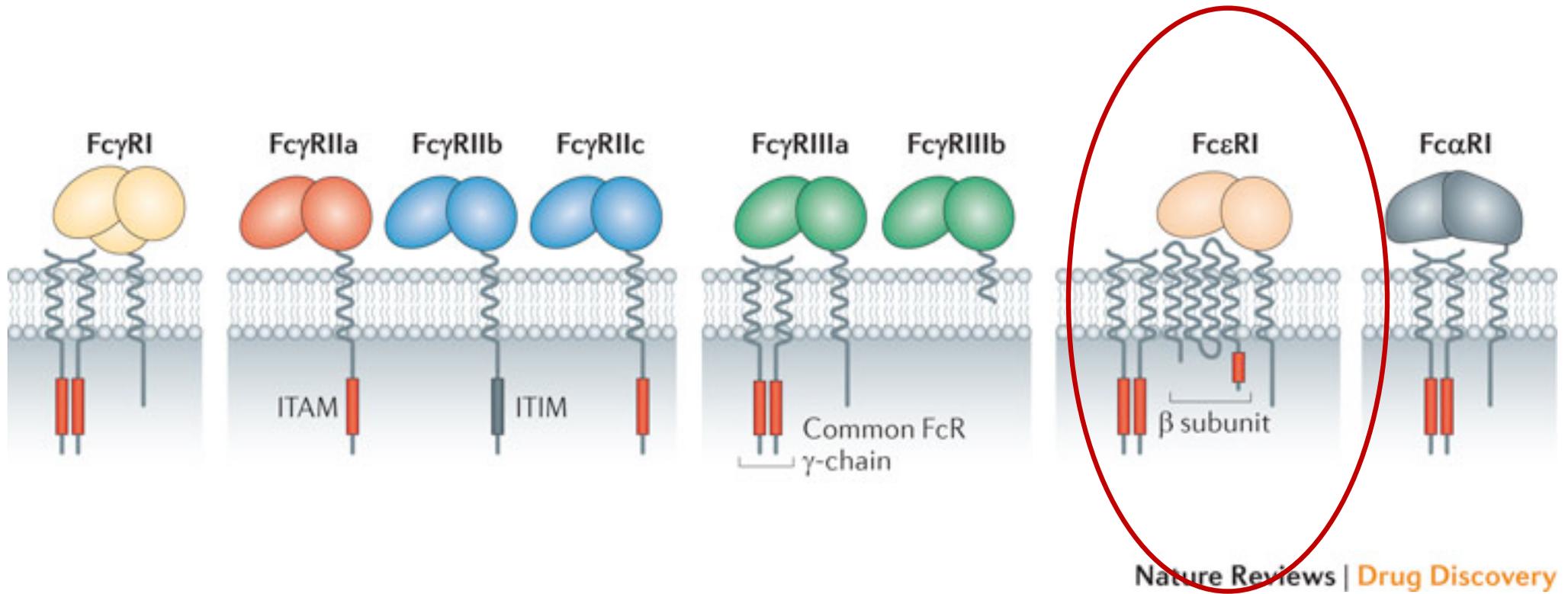
IgE



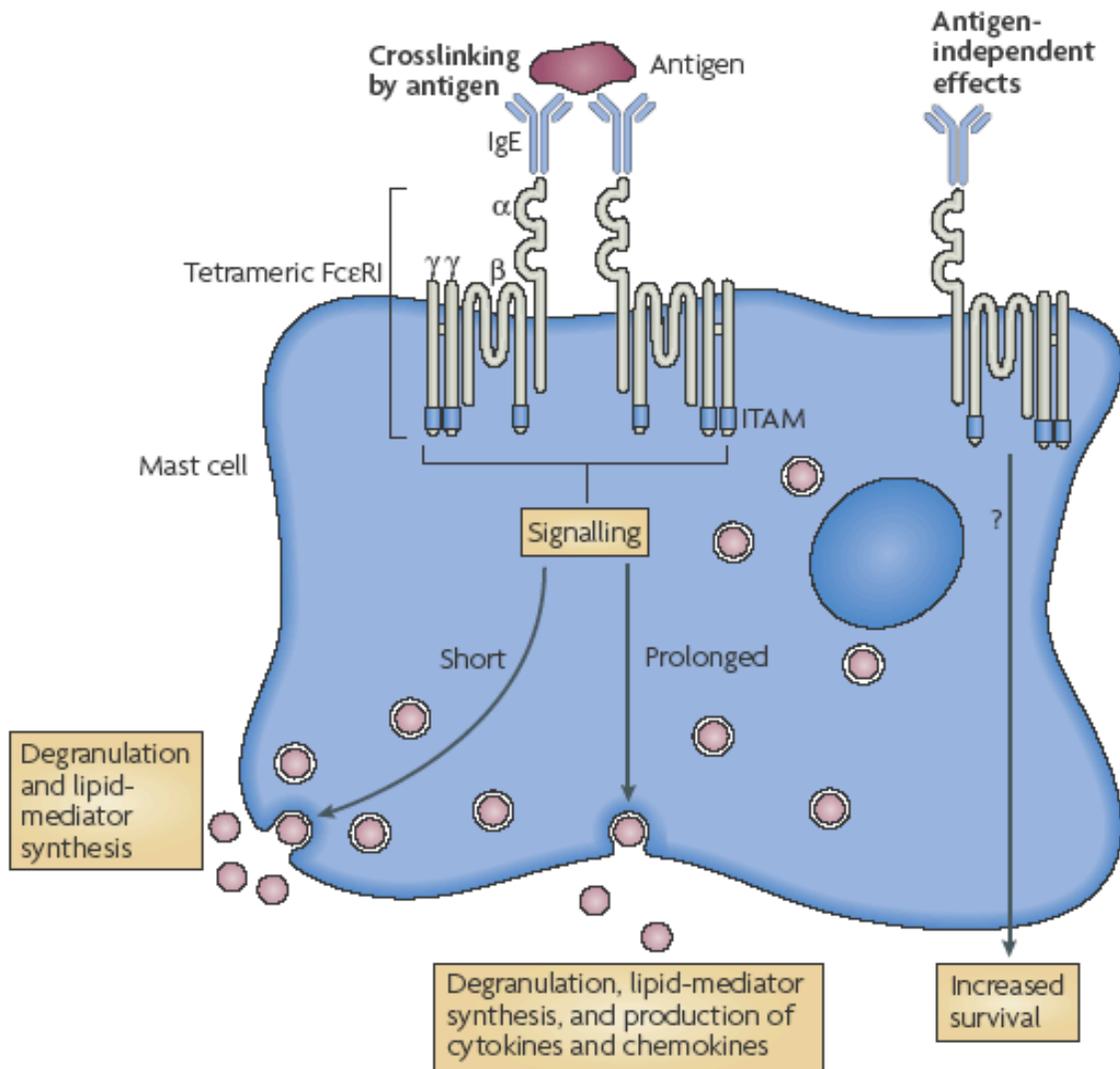
**Legano recettori Fc espressi
sui mastociti, granulociti
basofili e granulociti eosinofili**

- Proteggono nei confronti di infezioni parassitarie (elminti)
- Mediano le reazioni allergiche

Human Fc receptors



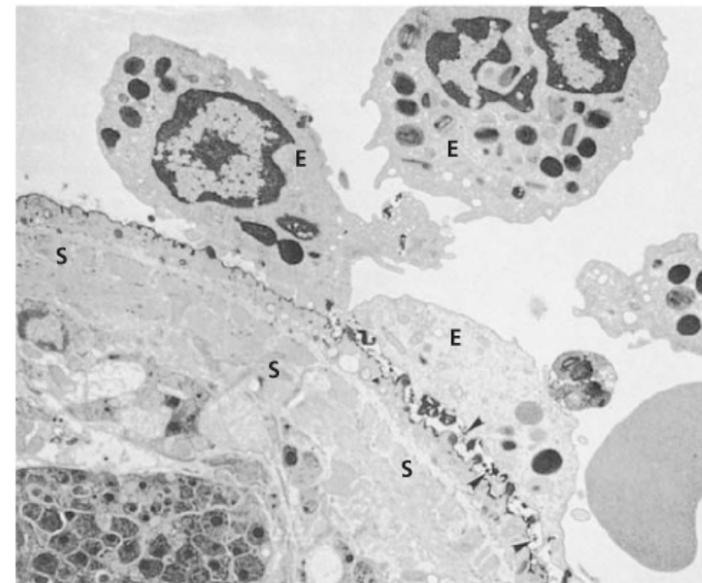
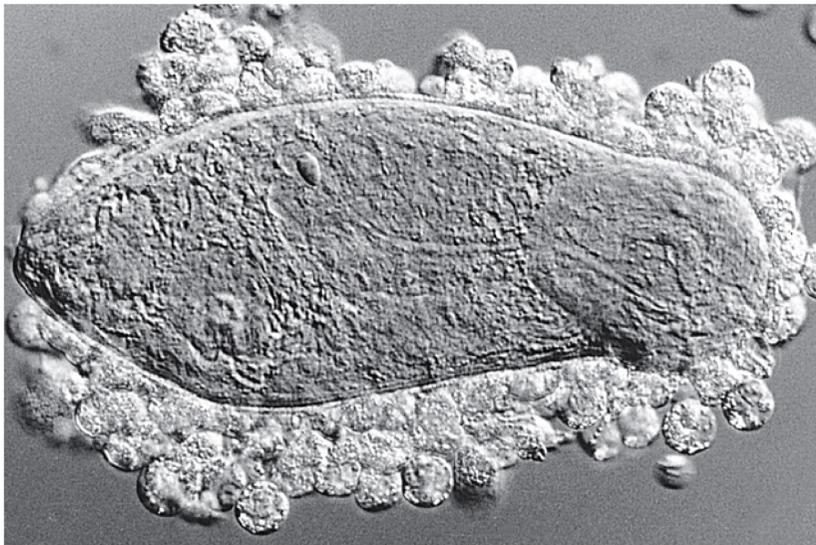
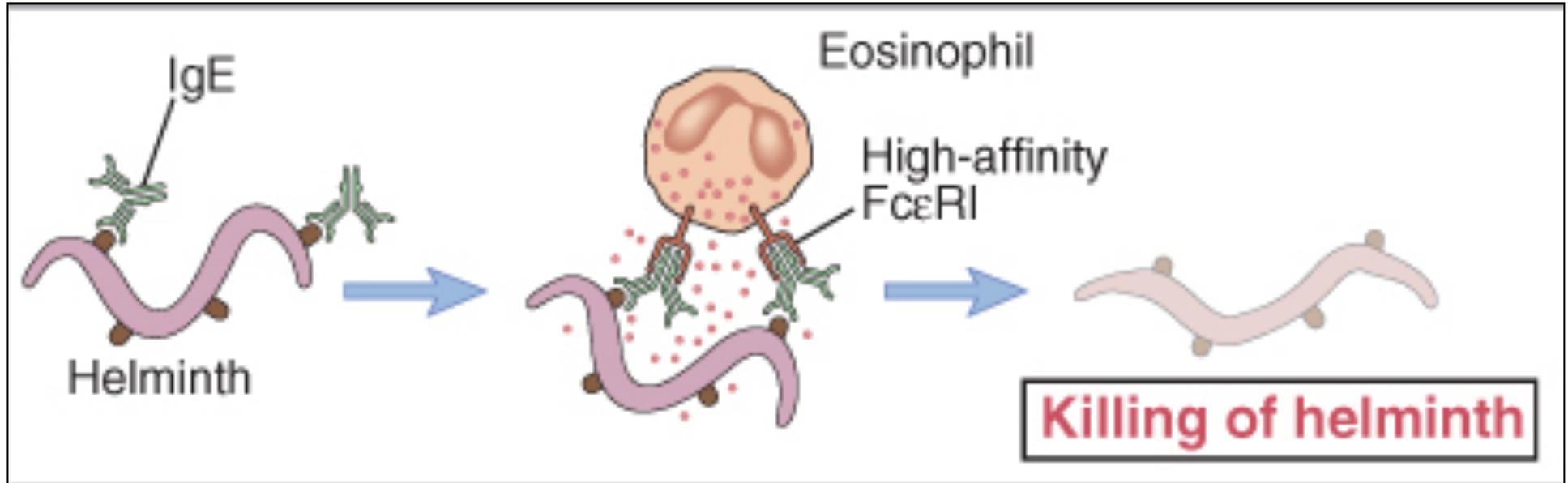
Il recettore ad alta affinità per le IgE (Fc ϵ RI)



Il recettore multimerico Fc ϵ RI ha un'affinità elevatissima per le IgE ed è in grado di legare le IgE libere mediante la sua catena α .

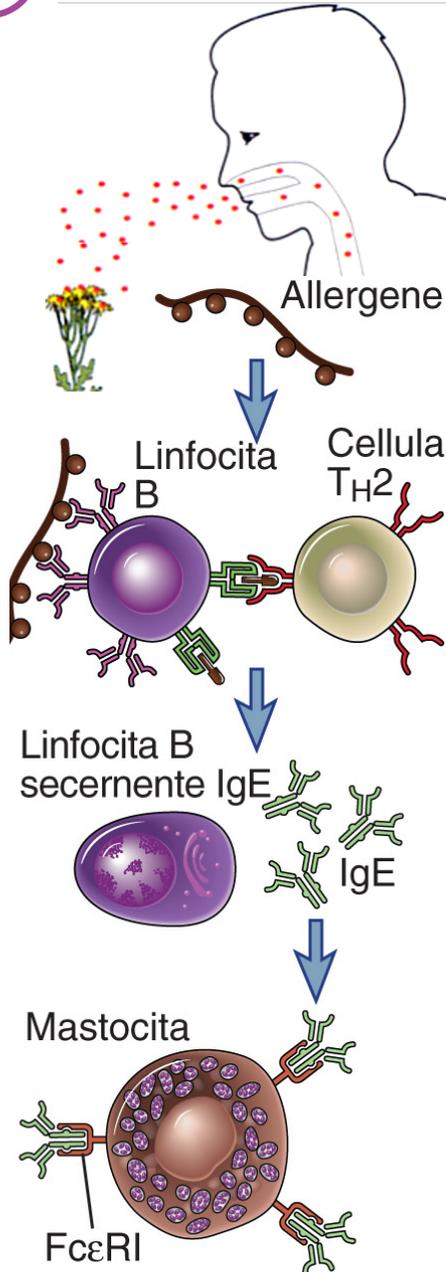
Il legame IgE/Fc ϵ RI aumenta l'emivita delle IgE.

I RECETTORI $Fc\epsilon$ ESPRESSI SUGLI EOSINOFILI PROMUOVONO LA CITOTOSSICITA' CELLULARE ANTICORPO DIPENDENTE (ADCC)



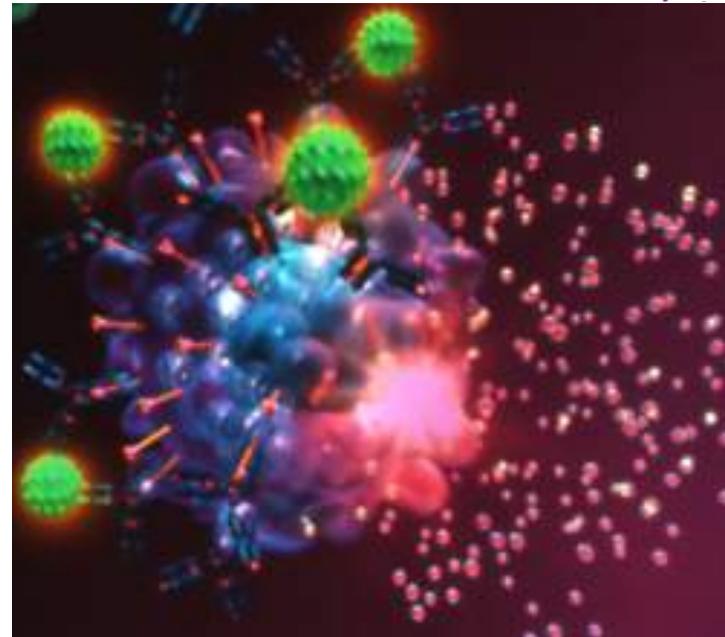
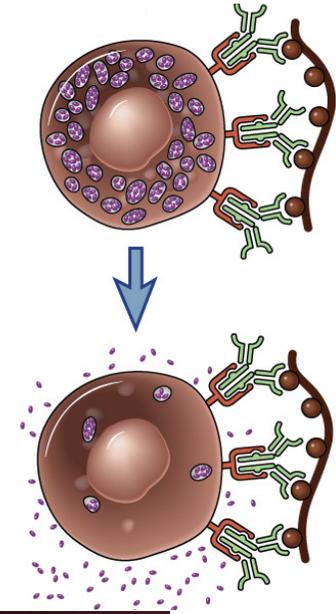
La reazione allergica

1 fase di sensibilizzazione

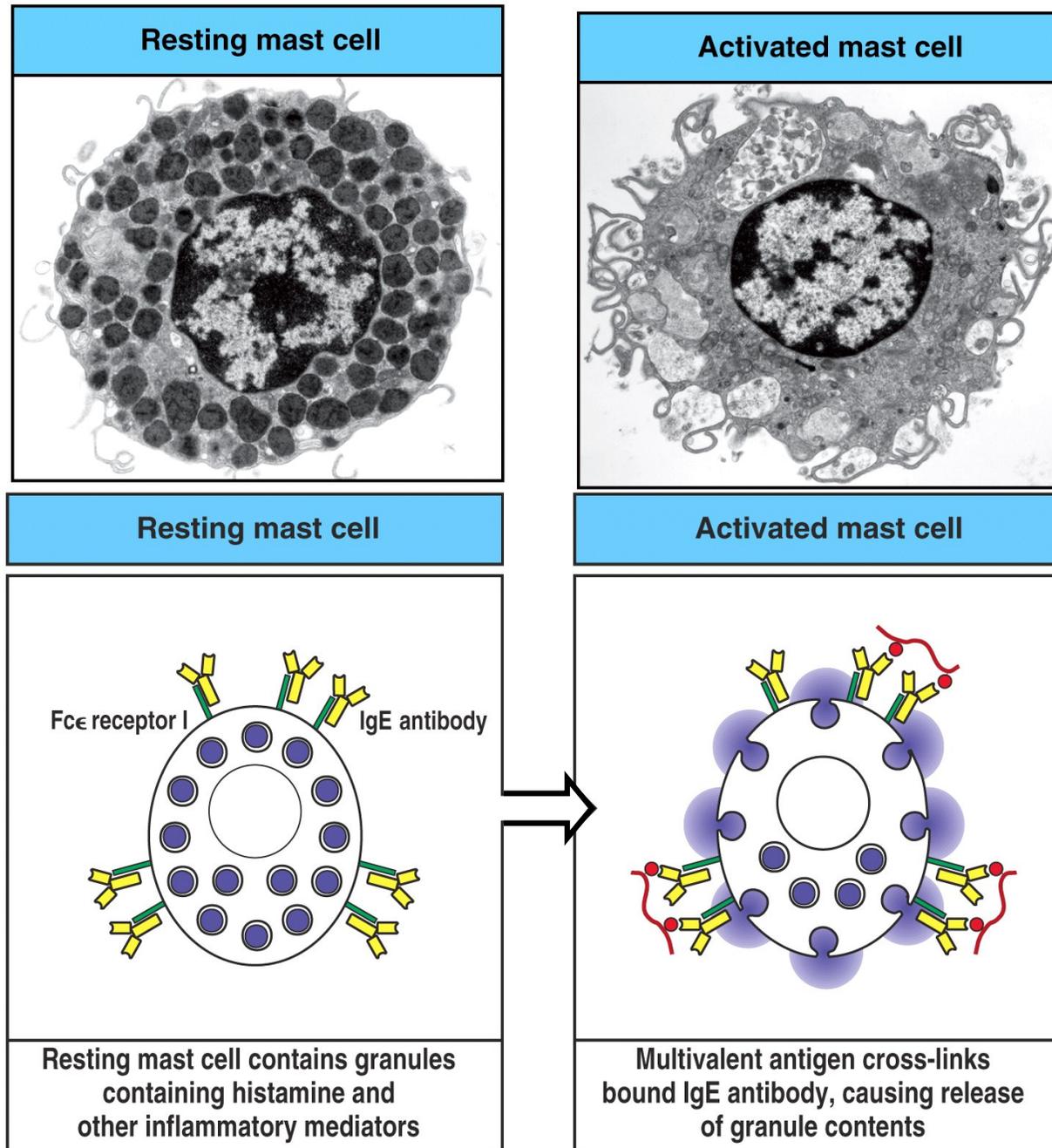


2 fase di scatenamento

La seconda esposizione allo stesso allergene attiva il mastocita con conseguente rilascio dei mediatori proinfiammatori



IgE antibody cross-linking on mast cell surface leads to a rapid release of inflammatory mediators



I diversi isotipi immunoglobulinici svolgono funzioni differenti

Functional activity	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Neutralization	+	-	++	++	++	++	++	-
Opsonization	+	-	+++	*	++	+	+	-
Sensitization for killing by NK cells	-	-	++	-	++	-	-	-
Sensitization of mast cells	-	-	+	-	+	-	-	+++
Activates complement system	+++	-	++	+	+++	-	+	-

Figure 9-19 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

La produzione delle diverse classi di anticorpi e' controllata dalle citochine prodotte dai linfociti T helper

