Immunologia e tecniche immunologiche

Con il termine immunità ci si riferisce alla protezione individuale nei confronti delle malattie infettive, mentre con refrattarietà si intende l'impossibilità di essere infettati da determinati patogeni che invece possono attaccare altri animali o piante. L'immunità è una funzione espletata da un complesso di elementi che formano il sistema immunitario, che agisce quando veniamo in contatto con elementi estranei.

Nell'evoluzione, la funzione immunitaria si è evoluta con la comparsa degli organismi pluricellulari, quando si è manifestata la necessità di garantire che l'organismo avesse al suo interno soltanto le proprie cellule; la funzione secondaria del sistema immunitario è diventata poi quella di eliminare sostanze estranee, in parte indipendentemente dalla loro natura patogena. Il sistema immunitario opera identificando e classificando le sostanze estranee in patogene e non patogene: in gran parte il non self viene infatti tollerato dal sistema immunitario stesso.

L'immunologia studia gli elementi e gli eventi responsabili dell'immunità; l'immunità innata o naturale o aspecifica preesiste all'infezione e risponde quindi immediatamente, inoltre non è influenzata dal patogeno e si ripete sempre con le stesse caratteristiche; l'immunità acquisita o adattativa o specifica entra in funzione solo dopo il contatto, è specifica per gli elementi macromolecolari che riconosco e si amplifica ad ogni nuovo contatto con lo stesso agente (antigene).

	Immunità Innata	Immunità Specifica
Caratteristiche		
Specificità	Per strutture condivise da microbi appartenenti ad uno stesso gruppo	Per antigeni microbici e non microbici
Diversificazione	Limitata	Molto ampia
Memoria	Assente	Si
Non reattività al *self*	Si	Si
Componenti		
Barriere fisiche e chimiche	Cute, epiteli delle mucose; sostanze antimicrobiche	Linfociti intra-epiteliali; anticorpi secreti a livello degli epiteli
Proteine ematiche	Complemento	Anticorpi
Cellule	Fagociti (macrofagi, neutrofili), cellule *natural killer*	Linfociti

1

I linfociti B producono gli anticorpi, in particolare hanno un recettore per l'antigene, che è l'immunoglobulina di membrana, e dopo l'attivazione possono produrre l'anticorpo sotto forma di recettore solubile che viene secreto (risposta immunitaria umorale); i linfociti T non possono secernere il recettore, ma proliferano quando vengono attivati mediando la risposta immunitaria cellulare.

L'immunità innata stimola l'immunità specifica, e l'immunità specifica potenzia l'immunità innata: sono gli elementi dell'immunità innata a riconoscere i potenziali patogeni e ad attivare l'immunità specifica, e allo stesso tempo l'immunità specifica permette di riconoscere, mediante anticorpi, in maniera ottimale elementi estranei e pericolosi che possono essere eliminati mediante l'immunità innata; inoltre le cellule effettrici derivate dalla proliferazione dei linfociti T sono in grado di promuovere l'eliminazione di alcuni patogeni che i macrofagi possono inglobare ma non uccidere, se non dopo essere stati attivati dall'effetto delle cellule effettrici.

[1] Strutture condivise riconosciute dall'immunità innata es. LPS dei Gram negativi.

Questo avviene anche perché l'immunità specifica si è sviluppata nei mammiferi dopo quella innata, per cui la specifica utilizza gli strumenti dell'immunità innata per riconoscere e eliminare i patogeni.

L'immunità innata esiste e opera anche prima dell'incontro col patogeno, mentre quella specifica si plasma e si migliora dopo ogni infezione.

Nei confronti di ogni patogeno sviluppiamo risposte appropriate, nel senso che gli elementi che può utilizzare sono molto diversi tra loro: ci sono elementi solubili e elementi cellulari. La risposta umorale è mediata da elementi proteici solubili che possono diffondere attraverso i tessuti; se invece il sistema immunitario utilizza cellule (risposta cellulare) la risposta è più lenta perché le cellule diffondono nei tessuti in maniera più difficoltosa.

La risposta umorale è efficace contro i batteri extracellulari, in quanto gli anticorpi, legandosi al patogeno, facilitano la fagocitosi (funzionano da opsonine) oppure attivano le proteine del complemento dopo un cambio conformazionale dell'anticorpo stesso. Alcuni batteri si sono evoluti per sopravvivere all'interno del fagosoma e vivono quindi in una nicchia ecologica che li protegge e dove possono replicarsi: i fagociti riescono però a presentare sulla superficie dei componenti batterici ai linfociti T *helper* CD4+, che riconoscono i macrofagi coi batteri e rilasciano citochine che inducono un'espressione genica del macrofago che potenzia il proprio metabolismo distruggendo il batterio. I virus che riescono a replicarsi all'interno della cellula, per cui devono essere uccise le cellule infettate mediante linfociti T *citotossici* CD8+, che accendono il meccanismo apoptoico.

Es. virus epatite A: citopatogeno, ovvero danneggia lui stesso le cellule; le altre epatiti virali infettano le cellule che però vengono uccise dai linfociti T, per cui il danno tissutale è creato dal sistema immunitario, a meno che non si vada a creare un meccanismo di tolleranza.

L'immunità, ovvero la capacità di resistere a un patogeno, si può acquisire attivamente mediante infezione o vaccinazione, oppure passivamente trasferendo direttamente nell'individuo a rischio o ammalato cellule o anticorpi (in questo caso non si sviluppa memoria perché il sistema immunitario non si è attivato); l'immunizzazione passiva avviene anche mediante il passaggio transplacentare di immunoglobuline, necessario perché nei primi mesi di vita il bambino non ha un sistema immunitario attivo.

Di fronte a una malattia infettiva, le soluzioni sono la vaccinazione o la terapia: il vantaggio della vaccinazione è che si è osservato che fa sì che l'agente patogeno diminuisca nell'ambiente in quanto non trova più un individuo in cui replicarsi (es. vaiolo che si è estinto).

Le risposte sono specifiche per i diversi antigeni; ogni linfocito riconosce una specifica porzione dell'antigene, detta epitopo, e diversi cloni linfocitari possono essere diretti contro epitopi diversi dello stesso antigene (risposta policlonale). Ogni individuo possiede cloni linfocitari potenzialmente capaci di rispondere ciascuno contro un determinante antigenico; il repertorio linfocitario di ogni individuo è capace di riconoscere fino a 100 miliardi di determinanti antigenici diversi, ma sono potenzialmente diversi in ogni individuo (cfr. ricombinazione somatica), così come sono diverse da individuo a individuo le proteine del complesso maggiore di istocompatibilità che presentano l'antigene.

Una caratteristica del sistema immunitario è la memoria: non solo ogni esposizione a un antigene potenzia le risposte successive, ma ogni risposta amplifica i cloni specifici per quell'antigene; inoltre, le risposte secondarie sono anche qualitativamente diverse da quella primaria, in quanto le cellule della memoria sono più efficienti contro l'antigene. Un'altra caratteristica è la specializzazione: il sistema immunitario, infatti, risponde in maniera differenziata ai diversi antigeni. Tutte le risposte del sistema immunitario si esauriscono col tempo dopo la stimolazione (autolimitazione).

Il sistema immunitario identifica e aggredisce solo gli antigeni estranei (non reattività verso il self); gli antigeni self vengono tollerati grazie ad una seria di meccanismi, alcuni attivi, altri passivi: la rottura della tolleranza causa le malattie autoimmuni.

master COPY COPISTERIA

Componenti cellulari dell'immunità specifica

I linfociti B possono secernere i propri recettori sotto forma di anticorpi; in particolare, quando incontrano l'antigene, proliferano e ogni cellula si differenzia in plasmacellula, che produce gli anticorpi: questo succede perché i linfociti B sono piccoli e con poco citoplasma, e non sarebbero in grado di sintetizzare grandi quantità di proteine. I linfociti B vedono l'antigene così com'è mediante l'anticorpo, e riconoscono soltanto elementi extracellulari o di superficie.

I linfociti T sono in grado di vedere anche ciò che è dentro la cellula con meccanismi diversi, ma non sono capaci di vedere l'antigene, a meno che non gli venga presentato da un'altra cellula: i linfociti T helper CD4+ vedono l'antigene presentato da una cellula che è il macrofago e la proteina con cui gli viene presentato è una proteina del complesso maggiore di istocompatibilità di classe 2; i CD4+ proliferano e poi si differenziano producendo citochine, che promuovono la crescita e il differenziamento sia del linfociti T che B, inoltre attivano i macrofagi e dirigono il processo infiammatorio; i linfociti T citotossici vedono l'antigene presentato dalle proteine del complesso maggiore di istocompatibilità di classe 1, di cui sono dotate tutte le cellule dell'organismo che sono nucleate (quindi l'unica eccezione è rappresentata dai globuli rossi, motivo per cui si possono effettuare le trasfusioni in base alla compatibilità AB0-Rh senza tenere conto dell'MHC), e il loro effetto è quello di uccidere la cellula bersaglio, funzione che condivide con la cellula natural killer, che uccide tutte le cellule che non presentano l'MHC di classe 1 (NB i natural killer non fanno parte delle cellule dell'immunità specifica).

I linfociti T sono in grado di distinguere il complesso peptide antigenico + proteina del complesso MHC dell'individuo: se ipoteticamente un linfocito T dovesse riconoscere lo stesso peptide antigenico legato alla proteina del complesso MHC di un altro individuo, non sarebbe comunque in grado di "vederlo".

Nel momento in cui si ha l'ingresso del patogeno, dev'essere riconosciuto l'antigene dai cloni linfocitari specifici per quell'antigene, e successivamente devono essere attivati i linfociti, che sono cellule molte piccole e semplici, in cui troviamo solo il nucleo e il citoplasma: per questo devono prima attivare i meccanismi che gli permettono di proliferare, e in seguito alla proliferazione possono produrre le cellule responsabili della risposta immunitaria (fase effettrice); questo grandissimo numero di cellule deve poi essere eliminato (declino), tranne alcune che rimangono per conservare la memoria dell'incontro col patogeno (linfociti memoria), la cui attivazione abbrevia la risposta secondaria rispetto a quella primaria. Per la sua complessità, la risposta immunitaria è necessariamente un fenomeno multifasico.

Il linfocito incontra l'antigene (in maniera diversa a seconda che sia B o T); i linfociti vergini, ovvero che non hanno mai incontrato l'antigene, possono essere attivati solo se hanno incontrato l'antigene e vengono contemporaneamente stimolati dal sistema immunitario (altrimenti vengono innescati meccanismi es. apoptosi, oppure sono incapaci di avere una risposta effettrice): questo è un sistema di sicurezza che impedisce di attivare per errore un linfocito, evento che potrebbe causare danni ingenti all'organismo per l'alta proliferatività di queste cellule; questa ulteriore stimolazione che deve avvenire da parte dell'immunità innata è diversa per linfociti T e B: nel primo caso sono sia proteine di membrana a livello del macrofago sia proteine solubili come le citochine, prodotte dal macrofago stesso; nel secondo caso sono proteine solubili antibatteriche che si attivano a contatto con i patogeni.

Nella fase di attivazione, i linfociti B differenziati in plasmacellule perdono i recettori di membrana, perché le plasmacellule secernono anticorpi, che agiscono come proteine solubili; i linfociti T effettori hanno

aumentato le proprie dimensioni in vista della massiccia proliferazione a cui vanno incontro. Durante questa fase si generano le cellule della memoria, che resistono all'apoptosi, a differenza delle altre cellule effettrici, che esistono fin tanto che è presente il patogeno. Nella fase di attivazione vengono prodotte nuove proteine, come le citochine, recettori per le citochine e proteine implicate nella trascrizione genica.

Una volta che i cloni linfocitari si sono differenziati, si hanno le varie risposte effettrici che hanno come scopo l'eliminazione dell'antigene; in qualche modo il linfocita effettore ha bisogno dell'antigene per vivere: una volta distrutto l'antigene, che costituisce un segnale di sopravvivenza per il linfocita in questa fase, si attiva l'apoptosi all'interno del linfocita; è un meccanismo per mantenere l'omeostasi, che porta al declino del numero di linfociti.

Struttura del sistema immunitario

- Deve concentrare gli antigeni nei siti dove si trovano le cellule
- Deve attivare risposte appropriate per intensità e durata
- Deve attivare meccanismi per l'eliminazione degli antigeni

- Gli organi linfoidi concentrano gli antigeni
- I linfociti vergini circolano attraverso gli organi linfoidi
- I linfociti effettori e della memoria si localizzano nei tessuti in corrispondenza degli antigeni

Tutte le cellule del sangue derivano da precursori staminali presenti nel midollo osseo, che precocemente si differenziano in cellule mieloidi e linfoidi: le prime si differenziano in megacariociti, che poi formano i trombociti (piastrine), eritrociti, mastociti e mioblasti, che a loro volta formano basofili, neutrofili, eosinofili e monociti, che si differenzieranno in macrofagi; le seconde si differenziano in linfociti NT o in linfociti B (nel midollo osseo o nei tessuti linfoidi prenatali) e T (nel timo).

Basofili (funzione ancora poco chiara), neutrofili (contro i batteri) ed eosinofili (contro i parassiti) sono granulociti che agiscono contro vari tipi di infezioni.

Tutto il processo dell'immunità poggia sui macrofagi, che è la cellula centrale dell'immunità innata per la fagocitosi e quindi la distruzione dei patogeni; in particolare derivano dai monociti, le forme quiescenti che entrano nei tessuti dal circolo sanguigno e si specializzano in varie tipologie di macrofagi. Un tipo di macrofagi sono le cellule dendritiche, ricche di prolungamenti ed estroflessioni citoplasmatiche, che tipicamente si trovano tra i cheratinociti dell'epidermide, dove vanno a costituire una sorta di filtro a ostacolo dell'ingresso dei patogeni, che vengono fagocitati da queste cellule.

I linfociti T alfa-beta (costituiti da un recettore eterodimerico) possono essere helper, citotossici e regolatori: sono i cosiddetti linfociti helper, che promuovono le risposte e sono responsabili della differenziazione delle cellule B, che da sole potrebbero produrre solo IgM, che costituiscono una risposta immunitaria potente ma pur sempre aspecifica, attivano i macrofagi, regolano l'attività delle citochine, responsabili della risposta infiammatoria; ciascun recettore ha specificità diverse per i complessi peptide-

MHC di classe 2, presentano diversi marcatori fenotipici[2], in particolare CD3+ e CD4+, sono abbondanti nel sangue, nei linfonodi e nella milza. I citotossici invece sono responsabili dell'uccisione delle cellule infettate da virus o da batteri intracellulari, oltre che del rigetto dei trapianti, e hanno antigeni CD3+ e CD8+, sono meno abbondanti e i loro antigeni hanno specificità per i complessi antigene-MHC di classe 1. Le cellule T regolatorie hanno anch'essi un recettore alfa-beta ma presentano un antigene CD25, funzionano al contrario rispetto ai linfociti T helper, nel senso che sopprimono le funzioni di altre cellule T.

I linfociti T gamma-delta sono cellule molto vicine all'immunità innata, hanno funzione di helper e di citotossici, ma la loro caratteristica è che i loro recettori hanno un numero limitato di possibilità di combinazione, e quindi vedono sempre gli stessi antigeni, in particolare quelli non polipeptidici presentati dal MHC, in generale presenti sui batteri.

I linfociti B producono anticorpi e hanno come recettore anticorpi di membrana, che hanno specificità diverse per tutti i tipi di molecole; essi hanno come marcatori fenotipici l'MHC di classe 2, CD19 e CD21, inoltre hanno recettori che legano le Ig per regolare la propria produzione di anticorpi, in particolare possono, mediante questo legame, "misurare" quante Ig ci sono nei fluidi biologici.

Le cellule NK uccidono le cellule infettate da virus o danneggiate, e vengono inibite dalle molecole MHC (perché se incontra un MHC significa che saranno i linfociti T o B a occuparsi di quella cellula); hanno un recettore per l'Fc delle Ig.

Le cellule NKT sopprimono o attivano risposte immuni innate e adattive, hanno un recettore alfa-beta e hanno specificità limitata per i complessi glicolipidi-CD1.

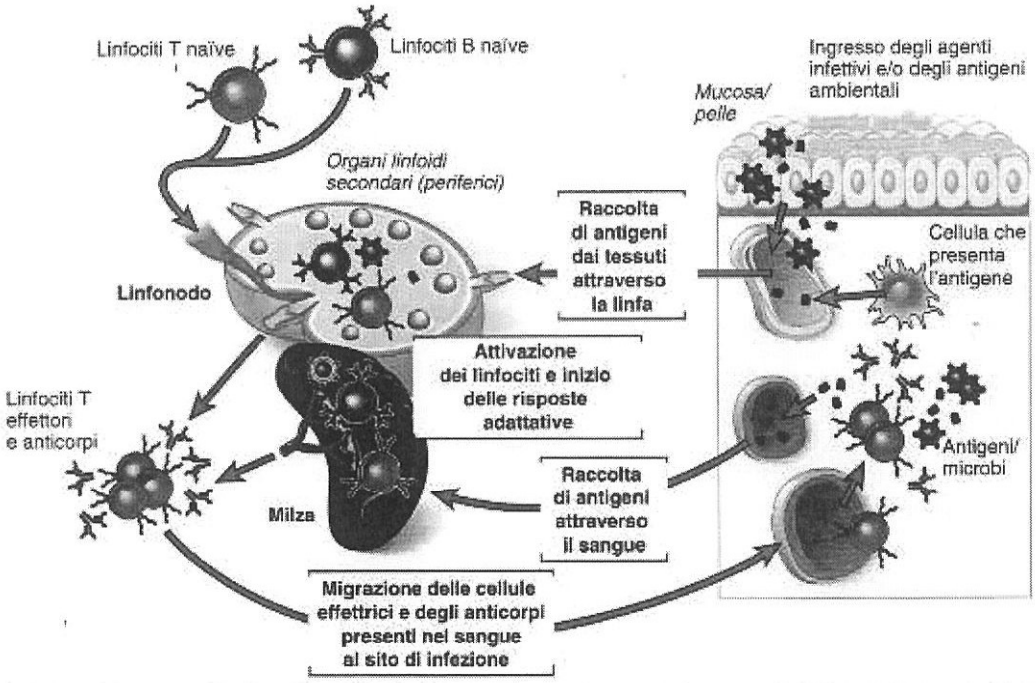


FIGURA 2-6 Anatomia dell'attivazione dei linfociti. Le cellule T naïve che escono dal timo e le cellule B immature che escono dal midollo osseo migrano verso gli organi linfoidi secondari, come i linfonodi e la milza. Qui le cellule B completano la loro maturazione e le cellule B e T naïve attivate dagli antigeni si differenziano in linfociti effettori e della memoria. Alcuni linfociti effettori e della memoria migrano ai siti di infezione nei tessuti periferici. Gli anticorpi secreti dalle cellule B effettrici nei linfonodi, nella milza e nel midollo osseo (non mostrato in figura) entrano nel sangue e arrivano ai siti di infezione.

[2] I marcatori fenotipici vengono evidenziati mediante fluorescenza, di conseguenza un linfocita può risultare positivo + o negativo – a seconda che presenti o meno il tale antigene che si va ad evidenziare; a differenti antigeni corrispondono differenti tipologie linfocitarie.