

Parole chiave:

- mucosa, immunità locale,
- immunità sistemica

 **Giuseppe Luzi** ¹

IL RUOLO CRITICO DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA LOCALE NEL CONTROLLO DELLE INFEZIONI

RIASSUNTO

Microrganismi di varia natura possono vivere in ambienti diversi e proliferarvi, per esempio utilizzando enzimi che consentono l'assorbimento di numerosi nutrienti.

La costituzione dell'ambiente nel quale si collocano i vari microrganismi è critica, proprio perché la natura dell'ambiente stesso diventa funzione della vita e della proliferazione di numerosi potenziali patogeni.

La specie umana e gli animali hanno imparato, nel corso dell'evoluzione biologica, a interagire con i microrganismi che vengono a contatto con le diverse aree corporee. Il sistema immunitario, grazie all'intervento integrato di cellule e molecole, riesce a tenere sotto controllo gran parte di potenziali patogeni (virus, batteri, funghi, etc).

Molta sperimentazione nel settore immunofettivologico si è basata su studi effettuati in cellule del sangue, in genere somministrando per via parenterale molecole verso le quali si desiderava studiare una risposta "in vivo". Ma nella "vita reale" il primo impatto tra le specie avviene a livello delle mucose e sulla cute.

La cute, in particolare, non è un semplice strato di cellule meccanicamente disposte a delimitare il rischio di infezioni, ma nella pelle risiedono numerose cellule specializzate in grado di costruire una risposta immunitaria efficiente e, salvo determinante circostanze, anche efficace. In particolare il ruolo della *skin immunity* è importante per una corretta attivazione della stessa risposta immunitaria sistemica.

Egualemente critico è il ruolo delle mucose (MALT:mucosa-associated lymphoid tissue) che nei diversi distretti organici hanno sia il compito di una difesa "locale" sia quello di tollerare le molecole che devono essere assorbite per il nutrimento.

La risposta immunitaria "locale" ha grande significato biologico, studiata non solo per comprendere il comportamento del sistema immunitario ma anche per pratiche finalità terapeutiche (somministrazione di vaccini, terapia desensibilizzante etc.).

PREMESSA

Alexandre Michailovič Besredka è stato un importante ricercatore e fu assistente di Il'ja Il'ič Mečnikov (1845-1916) presso l'Istituto Pasteur. Dal 1905 al 1914 fu il responsabile del laboratorio presso l'Istituto Pasteur. Si occupò degli studi sull'immunità cellulare, che coinvolgono soprattutto le infezioni intestinali. Importanti le sue ricerche di immunologia, soprattutto riguardanti la fagocitosi.

Di particolare interesse le indagini sulla natura dell'anafilassi. E' ben noto il "metodo di Besredka", impiegato per evitare lo shock anafilattico.

E' interessante scoprire che il termine di "immunità locale" possa, almeno in prima approssimazione, essere attribuibile ai suoi lavori. In particolare Besredka aveva osservato che in alcuni casi la protezione per certe infezioni si realizzava preferenzialmente nella sede di infezione, solo con successivo coinvolgimento ematico.

Si ritiene utile allegare copia di un lavoro di commento agli studi di Besredka pubblicato su *Nature* il 24 febbraio 1924.

Local Immunity in Infectious Diseases.

THE usually accepted view that protection against pathogenic bacteria is due to the development of specific antibodies in the blood is disputed by Prof. Besredka of the Pasteur Institute. It is true that after recovery from any infection, or after inoculation with a vaccine consisting of the killed bacteria which cause this infection, the blood acquires properties which it did not possess before; for example, the power of clumping the bacteria or even killing or dissolving them. It was very natural to suppose that the development of these bodies in the blood is directly responsible for recovery from any infection or the failure of the particular organism to gain a footing in successfully vaccinated individuals. Prof. Besredka realised, however, that in certain cases a definite protection exists without the occurrence of such bodies in the blood, and he was led

NO. 2833, VOL. 113]

© 1924 Nature Publishing Group

to the belief that their appearance is a secondary and not a necessary sequel to a protection acquired by the special cells which the particular organism preferred.

In the case of anthrax, to which the guinea-pig is very susceptible indeed, Prof. Besredka has proved by ingenious experiments that inoculation of the killed *Bacillus anthracis* into the peritoneal cavity or tissues other than the skin, is not followed by the development of antibodies in the blood, and that no protection against subsequent inoculation of the skin with living organisms is obtained. If, however, the killed organisms are applied to the skin, or, in other words, if the skin is vaccinated, a definite immunity is acquired and the guinea-pigs, which previously would have contracted a virulent infection by the inoculation

FEBRUARY 16, 1924]

NATURE

243

of the skin with a very small dose of living bacilli, now are resistant to very large doses. This immunity is not associated with the appearance of antibodies in the blood. It is evident, therefore, that in order to obtain immunity against anthrax it is necessary to increase the resisting power of the special tissue, namely, the skin which the *Bacillus anthracis* favoured.

Prof. Besredka then turned his attention to other diseases, such as cholera, typhoid and dysentery, the organisms of which attack the lining cells of the intestine. If the same principle maintains in these diseases, then in order to produce an immunity it would be best to vaccinate the intestinal wall by bringing the vaccine of killed organisms in direct contact with it. Experiments on animals have shown that such an immunity can be obtained by administering the vaccines by the mouth instead of injecting them subcutaneously by the usually accepted method. Such an immunity, according to Prof. Besredka, is the direct result of the action of the vaccines on the intestinal cells, and not of their absorption into the blood.

Having obtained these results in animal experiments, attention was directed to human beings, and already certain data have been collected which can be interpreted as indicating that, during outbreaks of typhoid

and dysentery, those who come in contact with the sick can be protected by the ingestion of tablets of killed bacteria. Arrangements have been made by the Health Section of the League of Nations to carry out an investigation on a much larger scale in the case of outbreaks of cholera in Russia. Another application of this principle which is being investigated is the possibility of vaccinating the skin of human beings against staphylococci, the cause of boils and furuncles. In these cases the organisms develop exclusively in the skin, and already evidence is accumulating that protection and even cure can be obtained by applying vaccines to the skin in place of inoculating them subcutaneously according to the generally accepted procedure.

Prof. Besredka's views are undoubtedly revolutionary and, should they ultimately prove sound, are of the greatest practical importance. The inoculation of vaccines subcutaneously is followed by considerable local reaction and discomfort, and sometimes by actual illness, whereas their local applications to the skin or their oral administration give rise to practically no unpleasant symptoms. It is evident that it would be much easier to induce people to be vaccinated in these circumstances.

La risposta immunitaria è stata studiata, nel corso degli anni, utilizzando l'osservazione clinica e i dati sperimentali acquisiti *in vitro* e *in vivo*. In particolare, è opportuno ricordare che gran parte della sperimentazione si è svolta attraverso indagini su componenti del sangue e/o analizzando le strutture anatomiche raggiungibili per via parenterale.

Oggi guardiamo al sistema immunitario come un network integrato di cellule e molecole che interagiscono fra loro secondo adeguate modalità, in relazione al tipo di risposta necessaria per preservare l'equilibrio dell'organismo e alla sede anatomica.

E' pertanto opportuno, alla luce delle conoscenze acquisite, riconsiderare alcuni schemi di indagine (anche didattici), che possono talora impropriamente concentrarsi sulla conoscenza di singoli elementi (cellulari, molecolari) e non prendere in esame il *pool* realmente funzionante "sul campo".

Il sistema immunitario è molto di più che un'isolata "struttura" nel nostro organismo, con l'unico scopo primario di individuare agenti patogeni e distruggerli. Esso è configurato per interagire con i sistemi endocrino, nervoso, e in vari momenti del metabolismo corporeo.

In buona sostanza il suo ruolo è importante per regolare e conservare l'equilibrio omeostatico e lo stato di salute ⁽¹⁾.

Il sistema immunitario è anatomicamente e funzionalmente distribuito per proteggere il corpo da fattori esterni e interni in grado di danneggiare i vari tessuti. I fattori esterni sono i vari microrganismi (virus, batteri, funghi, parassiti uni e pluricellulari) e gli agenti chimico-fisici (per es. in grado di provocare mutazioni). I fattori interni possono derivare da cellule anomale (infettate o in involuzione neoplastica) o molecole alterate.

Da un punto di vista funzionale distinguiamo un'immunità innata (barriere anatomiche, varie molecole con funzione aspecifica, capaci di attaccare patogeni in forma indiscriminata) e un'immunità adattativa. Le cellule responsabili dell'immunità adattativa sono i linfociti: essi possiedono recettori di membrana specifici per riconoscere le sostanze estranee (antigeni), si attivano in modo selettivo sul bersaglio che è stato individuato dal recettore, si differenziano in cellule operative (per esempio producendo anticorpi) e in cloni di memoria (le cellule memoria sono responsabili della risposta immunitaria secondaria, a lungo termine, in grado di attivarsi se in un futuro possibile l'organismo viene a contatto con l'antigene che è stato originariamente riconosciuto dallo specifico recettore).

Le strategie attraverso le quali opera l'immunità specifica sono sostanzialmente due: l'**immunità umorale** (ovvero per via prevalentemente ematica) e l'**immunità cellulo-mediata**.

Nel primo caso a intervenire sono i linfociti B, che si attivano e producono anticorpi. Nel secondo caso ad agire sono i linfociti T che sintetizzano e liberano molecole infiammatorie e di regolazione (citochine). Un carattere fondamentale della risposta specifica è la *memoria*. Tutte le cellule coinvolte nella risposta immunitaria (sia innata che acquisita) sono prodotte nel midollo osseo.

E' noto che esistono varie sottopopolazioni di linfociti. I T linfociti (di origine timica) possono essere distinti, in prima istanza, in Th (helper), con funzioni regolatrici e CTL (Cytotoxic T lymphocyte),

in grado di eliminare cellule infettate da virus o con caratteristiche neoplastiche. I linfociti B, che completano la loro maturazione nel midollo osseo, dopo essersi attivati si trasformano in plasmacellule, sintetizzano anticorpi e li secernono nell'ambiente ematico.

In buona sostanza il sistema immunitario protegge dalle infezioni grazie all'azione di più livelli di crescente specificità.

Le barriere fisiche impediscono agli agenti patogeni, come batteri e virus, di entrare nell'organismo. Se un patogeno supera queste barriere, il sistema immunitario innato si attiva con una risposta immediata, non specifica [cioè senza riconoscimento selettivo dell'antigene].

La risposta adattativa, attivata dall'iniziale risposta innata, è *specifico* (cioè in grado di riconoscimento selettivo dell'antigene). La capacità di risposta adattativa, unitamente al suo "perfezionarsi" nel tempo, si giova della memoria immunitaria. In questo modo il sistema adattativo può rispondere con più efficacia e prontezza quando incontrerà di nuovo il patogeno.

Diverse barriere, sia meccaniche, chimiche o biologiche, proteggono gli organismi dalle infezioni. Ogni organismo vivente interagisce per definizione con l'ambiente nel quale si trova.

Quindi è impossibile un isolamento dall'ambiente, sarebbe oltretutto svantaggioso in senso evolutivo.

Nel corpo umano abbiamo varie "aperture" interagenti con il mondo esterno: l'apparato respiratorio, l'intestino, l'apparato uro-genitale.

L'involucro cutaneo rappresenta il più diretto fronte di contatto con microrganismi, elementi inquinanti, variazioni climatiche. Per proteggere dalle infezioni oltre alla struttura meccanica dei singoli distretti anatomici, esistono vere barriere chimiche.

Per esempio a livello cutaneo e nelle vie respiratorie troviamo peptidi antimicrobici (defensine), nella saliva si trovano il lisozima e la fosfolipasi A2, e altri antibatterici li troviamo nelle lacrime e nel latte materno. Anche le secrezioni vaginali costruiscono una sorta di barriera chimica quando, dopo la prima mestruazione, tendono a diventare leggermente acide.

Zinco e defensine sono inoltre descritte nello sperma. La stessa acidità gastrica è una forte difesa chimica.

Quando si descrivono le barriere mucocutanee è importante ricordare il ruolo della flora batterica residente. In prima approssimazione quando si parla di flora batterica si fa riferimento all'intestino. Ma altre zone del corpo sono colonizzate da numerose specie batteriche, assieme a virus, funghi e protozoi. Tra le mucose si ricordano la mucosa vaginale e quella del cavo orale, in associazione alla pelle, che contiene sulla sua superficie milioni di microrganismi appartenenti a diversi ceppi batterici: si calcola che un centimetro quadrato di cute possa contenerne non meno di 3×10^6 . (2) (3) (4) (5) (6)

La flora cutanea è l'insieme dei microrganismi presenti sulla cute (microbiota cutaneo, da distinguere per precisione terminologica da microbioma, insieme del patrimonio genetico). Sulla cute troviamo una flora residente (che permane per lungo tempo) e una flora temporanea.

La flora residente include i batteri commensali che sono in grado di svolgere un'azione protettiva verso componenti esterni potenzialmente nocivi. In generale i batteri commensali includono lo stafilococco dell'epidermide, alcuni difteroidi anaerobi, e altri ancora.

Molte specie possono costituire la flora temporanea. Possono restare a contatto con la pelle per un tempo limitato ma, anche in funzione delle difese immunitarie dell'ospite, sono in grado di causare patologie di varia gravità.

Spostandoci nell'apparato digerente troviamo la così detta *flora intestinale*. Il termine è usato comunemente, ma un po' impreciso. Include in pratica tutti i batteri presenti (per completezza, non solo quelli intestinali, ma il complesso dei microrganismi distribuiti lungo l'intero apparato digerente). In generale si può considerare il microbiota dell'uomo come un valido esempio di collaborazione fra diversi organismi, con reciproco vantaggio (commensalismo).

Il tratto gastro-intestinale entra costantemente in gioco nella risposta immunitaria "locale", dovendo

espletare un duplice compito: contenere il danno dei potenziali patogeni e mantenere una necessaria tolleranza nei confronti delle varie sostanze antigeniche non dannose e/o gli alimenti.

Per un corretto funzionamento nella mucosa intestinale troviamo componenti della risposta innata e di quella adattativa.

Il GALT (Gut Associate Lymphoid Tissue) include cellule immunocompetenti nell'epitelio intestinale e nella lamina propria e alcune strutture linfatiche secondarie come i linfonodi mesenterici, le placche del Peyer del piccolo intestino e isolati follicoli linfatici.

Il sistema immunitario intestinale, dovendo svolgere differenti funzioni (difensive e di tolleranza) utilizza pertanto meccanismi *ad hoc* che si differenziano, in parte, da quelli propri della risposta immunitaria sistemica. Infatti se l'equilibrio dell'immunità intestinale si altera possono derivarne processi infiammatori cronici e può insorgere una risposta allergica agli alimenti. (7) (8) (9) (10)

La presenza di superfici mucose non riguarda unicamente l'apparato digerente, ma si amplia nell'apparato respiratorio e le vie uro-genitali, sulla cornea, nell'orecchio interno e nei dotti delle ghiandole esocrine. In queste sedi, oltre alle componenti chemo-meccaniche, si collocano gli elementi della risposta immunitaria innata e di quella sistemica. Si calcola che nell'uomo adulto sano l'immunità locale contribuisca al *pool* cellulare per non meno dell'80% delle componenti.

Si è pertanto introdotto il termine di MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue) che ha tre compiti:

1. protezione delle membrane mucose;
2. prevenire l'inclusione (*uptake*) di molecole antigeniche non degradate e di proteine presenti negli alimenti o veicolate per via aerea;
3. prevenire il manifestarsi di risposte pericolose dell'immunità sistemica se gli antigeni "a rischio" penetrano all'interno dell'organismo.

Proprio in virtù del ruolo anatomico-funzionale la risposta MALT assume caratteristiche di intervento

fortemente correlate all'ambiente.

Infatti se l'immunità sistemica si espleta in un contesto "sterile" e di solito con notevole intensità, il MALT ha un duplice compito: regolare la risposta effettrice contro i patogeni ed evitare danni locali coinvolgenti le cellule che debbono essere salvaguardate. Per questo motivo, in parte, il MALT è un sistema compartimentalizzato ("immunità locale") con una funzione indipendente/svincolata dalla risposta sistemica.

SKIN IMMUNE SYSTEM

Gli studi sulla struttura e funzione della cute hanno dimostrato che il suo ruolo è strettamente correlato alla risposta immunitaria.

La proprietà fondamentale della cute non è pertanto solo quella di barriera, di blocco/contenimento "passivo" verso agenti patogeni, ma si associa a componenti della risposta innata e adattativa inclusi nella stessa struttura anatomica. Quando si verifica una lesione con infezione, la risposta adattativa viene innescata dalle cellule di Langerhans (cellule dendritiche) presenti nell'epidermide.

Esse catturano, "processano" l'antigene e lo presentano ai linfociti T dei linfonodi prossimali. I linfociti T esprimono un particolare antigene (CLA, Cutaneous Lymphocyte Antigen). Si dirigono verso l'epidermide dove poi risiedono come cellule T di memoria. Dopo l'attivazione si osserva la vera risposta immunitaria. Per inquadrare in modo corretto e leggere la dinamica della risposta immunitaria cutanea è necessario avere dapprima il quadro anatomico della struttura della pelle.

La cute ⁽¹¹⁾ è costituita da due componenti: **epidermide e derma**.

L'epidermide si compone in ogni sede corporea di quattro strati: basale, spinoso, granuloso e corneo. A livello palmo-plantare è possibile riconoscere un quinto strato, lo strato lucido, situato tra quello granuloso e quello corneo. Lo strato basale è il più profondo. In questo strato è possibile osservare due gruppi distinti di *cheratinociti*: il gruppo delle cellule staminali (circa il 5 % dei cheratinociti basali) e quello delle cellule in moltiplicazione transitoria.

Solo le prime, localizzate in profondità nei solchi epidermici, possono dividersi un numero quasi illimitato di volte; le altre, invece, vanno incontro a differenziazione dopo alcune divisioni mitotiche. Lo strato spinoso si trova al di sopra di quello basale.

È così chiamato per la possibilità di evidenziare in microscopia ottica le giunzioni intercellulari presenti tra i cheratinociti. Lo strato granuloso è costituito da 2-3 file di cellule, piuttosto appiattite. I granuli sono costituiti dalla cheratoialina, componente proteica estremamente importante per la funzione di barriera della cute. Lo strato corneo è il più superficiale ed è formato da cellule con morfologia piatta. Si tratta di cellule ormai non più vitali e senza desmosomi.

L'assenza di nucleo costituisce l'aspetto peculiare di queste cellule, dette anche corneociti. Essi, non più vitali e privi di desmosomi, sono di volta in volta sostituiti da cellule che, partendo dallo strato basale, in circa 4 settimane maturano e raggiungono lo strato corneo. Lo strato lucido, infine, localizzato solamente a livello palmo-plantare tra lo strato granuloso e quello corneo, è costituito da 1-2 file di cellule piatte, senza nucleo.

Al di sotto dell'epidermide si trova il derma, suddiviso in due parti: derma papillare e derma reticolare. Il derma papillare è così denominato perché presenta un'alternanza di papille dermiche e creste epidermiche; il derma reticolare costituisce la struttura portante del derma e si trova tra il plesso vascolare superficiale e il tessuto sottocutaneo.

Nell'epidermide i cheratinociti sono circa il 90% delle cellule.

Hanno un ruolo importante nell'innescare la risposta immunitaria. Infatti, sono in grado di esprimere una serie di molecole (Toll-like receptors, Nod-like receptors) che riconoscono componenti di organismi patogeni. Inoltre, producono numerose chemochine e citochine.

I melanociti sono cellule di derivazione neuroectodermica localizzati a livello dello strato basale dell'epidermide.

La funzione fondamentale dei melanociti è quella di produrre pigmento melanico, che viene incluso nei melanosomi.

Anche i melanociti, inoltre, sono in grado di presentare l'antigene e producono un neuropeptide dalle molteplici funzioni, denominato α -melanocyte stimulating hormone. Questa molecola solo è in grado di espletare effetti immunomodulanti e immunosoppressivi.

Prevalentemente nello strato spinoso dell'epidermide si trovano le **cellule di Langerhans**. Sono circa il 2-3% delle cellule epidermiche. Hanno un esclusivo antigene di superficie (langherina) e si differenziano dalle altre cellule dendritiche della cute.

Si ammette l'esistenza di due differenti popolazioni di cellule di Langerhans: la prima, numericamente più consistente, di derivazione midollare; la seconda, invece, costituita da cellule CD14+ residenti nel derma, che acquisiscono il fenotipo di cellula di Langerhans sotto lo stimolo del TGF- β . Un altro elemento che rende uniche queste cellule è il granulo di Birbeck, evidenziabile a livello del citoplasma con la microscopia elettronica.

Le cellule di Langerhans sono ben note per essere cellule presentanti "professionali" e hanno una capacità maggiore rispetto alle altre cellule dendritiche di presentare l'antigene alle cellule linfocitarie T CD8+. Le cellule di Langerhans sono anche in grado di indurre la differenziazione di linfociti T citotossici altamente specifici per le cellule neoplastiche maligne.

Le cellule di Merkel sono cellule di tipo neuro-endocrino e si localizzano poco al di sopra della membrana basale dell'epidermide.

I linfociti cutanei sono linfociti T di memoria (*memory*), distribuiti nell'epidermide (prevalentemente CD8+) e nel derma (per lo più CD4+).

Il loro numero è abbastanza elevato. Il 8 - 10 % di questi sono linfociti T di tipo regolatorio. Si ritiene che siano proprio i linfociti T cutanei (e non quelli che derivano dal circolo periferico) a svolgere un ruolo determinante contro gli agenti patogeni esterni).

Nel derma i fibroblasti rappresentano la cellula tipica per eccellenza. Producono diverse sostanze, tra le quali il TGF- β , che promuove la sintesi del collagene e stimola i cheratinociti a produrre diversi componenti della membrana basale.

I mastociti, localizzati principalmente intorno ai vasi, hanno funzione di cellule secretive altamente specializzate. I loro granuli contengono istamina, e alcune citochine.

Tra queste, sono da ricordare l'IL-4, in grado di modulare la differenziazione dei linfociti T, l'IL-1 e il TNF- α , in grado di attivare le cellule endoteliali. Inoltre, in caso di attivazione, producono un numero estremamente elevato di molecole, tra le quali ricordiamo l'IL-8 (attivazione e reclutamento dei neutrofili), l'IL-3 e l'IL-5, coinvolte entrambe nell'attivazione e nel reclutamento dei leucociti eosinofili.

I **dendrociti dermici** "residenti" sono altre cellule del sistema immunitario cutaneo. Se ne possono riconoscere due tipi, distinti in base alla presenza o all'assenza del CD14.

Le cellule CD14- sono considerate immature, in grado di determinare solo moderate risposte immunitarie mediate dai linfociti T; quelle CD14+ sono, invece, ritenute estremamente importanti nella regolazione dell'immunità umorale. Se attivate, rilasciano IL-6 e IL-12, stimolano le cellule B naïve attivate a secernere grandi quantità di IgM.

La cute è dotata di una fitta rete di vasi che nel derma reticolare formano il plesso orizzontale. Da questo si dipartono verso l'alto diramazioni che raggiungono la giunzione dermo-epidermica, formando il plesso vascolare sub-papillare. Le sue diramazioni raggiungono le papille dermiche, irrorate da capillari di tipo arterioso.

Al di sotto del derma si colloca l'ipoderma, caratterizzato da tessuto lasso areolare, tessuto adiposo. Vi ritroviamo vasi sanguigni e terminazioni nervose. Questo strato connette la cute ai tessuti sottostanti ⁽¹¹⁾.

ASPETTI FUNZIONALI NELLA RISPOSTA IMMUNITARIA CUTANEA

Per comprendere con buona cognizione di causa il complesso delle azioni svolte dalla cute nei diversi strati dobbiamo considerare l'organo "cute" come un network di costituenti che interagiscono continuamente fra loro.

Esistono numerose strategie messe in atto, alcune sono implicite nell'anatomia strutturale (costrutto fisico, elementi chimici, barriere microbiologiche), altre sono derivate dall'interazione delle cellule immunitarie, cruciali sia per finalità strettamente difensive sia per la stessa omeostasi della pelle.

A conferma di questo importante ruolo, il pool delle cellule immunocompetenti presenti nei diversi strati della cute, svolge anche una funzione riparativa utilizzabile *in situ* per la ricostituzione cellulare in caso di una lesione con breccia e distruzione di tessuto. Se il network non funziona bene una ferita può tardare a guarire e la stessa ricostituzione del tessuto può essere incompleta o parziale.

Alcuni peptidi con funzione antimicrobica e alcuni lipidi formano un complesso di biomolecole che svolgono una diretta funzione antibatterica. Sulla cute della specie umana sono state studiate le catalicidine (prodotte da un gran numero di cellule) e le così dette defensine. Alcuni peptidi oltre a una vera azione terapeutica sembrano in grado di modulare la risposta immunitaria, per esempio inducendo differenziazione di cellule dendritiche, agendo sulla produzione di citochine e modulando l'espressione di molecole co-stimolatorie (per es. CD86).

Lipidi come le sfingomieline, i glucosilceramidi e i fosfolipidi, rapidamente trasformati in sfingosine e di-idrosfingosine, sono in grado di svolgere una vera azione antibatterica verso lo *Staphylococcus aureus*, lo *Streptococcus pyogenes*, il *Micrococcus leutus*, e il *Propionibacterium acnes*.

L'insieme dei componenti la barriera chimica, originariamente definiti AMP per antimicrobial peptides/proteins (AMPs), hanno stimolato

numerosi studi: infatti queste molecole sono secrete da cheratinociti, sebociti, fagociti, linfociti T, mastociti e svolgono un'azione ad ampio spettro verso batteri, virus, parassiti vari, funghi, giocando un ruolo non secondario nell'attività della risposta immunitaria innata e adattativa.

Le conoscenze sono a tal punto evolute che anche per le iniziali in lingua inglese è stato proposto il termine HDP (Host Defense Peptide). Si usa quindi il termine AMP/HDP che include varie molecole come le defensine, le catalicidine, le proteine S100, le ribonucleasi e altre. In alcune ricerche si è inoltre osservato come AMP/HDP, oltre a svolgere un ruolo protettivo, possono essere implicate in alcune patologie (psoriasi, dermatite atopica, acne vulgaris, e anche forme di sclerosi sistemica e lupus eritematosus sistemico).

Per rendere difficile la vita ai potenziali patogeni cutanei è importante il valore del pH sulla pelle.

Il pH si aggira tra 5,5 e 5,9. Allo scopo può essere utile ricordare come la netta differenza tra pH cutaneo ed ematico (circa 7,4) sia un ulteriore strumento di difesa se una lesione cutanea consente ai microrganismo di raggiungere il torrente circolatorio. D'altro canto il pH cutaneo favorisce la presenza di batteri commensali (tipicamente lo *Staphylococcus epidermidis*) con lo scopo di prevenire lo stabilirsi di patogeni a rischio (come per esempio, nel caso dello *Staphylococcus aureus*).

Quando il gioco si fa duro...

La definizione Skin Immune System (SIS) è quanto mai opportuna per dare forza al concetto di sistema. Per comprendere le singole interazioni cellulari si deve considerare sia il complesso della flora batterica sulla cute sia il pool delle cellule coinvolte. Dopo un'infezione l'immunità adattativa viene indotta dalle cellule di Langerhans e altre cellule dendritiche. Queste cellule catturano, processano e presentano l'antigene ai linfociti T nel sistema linfatico locale. I linfociti si spostano verso l'epidermide (prevalentemente in forma *memory*).

Ma i sistemi di sorveglianza non si limitano al ruolo dei linfociti T. Infatti l'azione di controllo sulla cute nasce da vari livelli di integrazione di cellule e molecole. In questo scenario si attivano,

come protagonisti i cheratinociti, le stesse cellule di Langerhans, le cellule dendritiche cutanee, i mastociti, i linfociti a localizzazione cutanea e le cellule dell'endotelio. Il teatro delle interazioni è il territorio dell'epidermide (strato basale, strato spinoso, strato granuloso, strato corneo) e quello del derma.

Le cellule specializzate presenti nell'epidermide includono le cellule di Langerhans, come abbiamo già visto. Linfociti TCD8+ (ad azione citotossica) si localizzano nello strato basale e in quello spinoso. Nel derma (ricco di collagene, fibre elastiche e reticolari) si riconoscono altre cellule dendritiche, tra le quali il sottotipo delle DC dermiche e le pDC (plasmocitoidi). Nell'insieme di cellule immunocompetenti troviamo i Thelper [Th1; Th2], i linfociti Th17, le cellule $T\gamma\delta$ e le iNKT (invariant NKT). Ad arricchire lo scenario sono identificabili altre componenti come i macrofagi, i mastociti e i fibroblasti.

Le cellule della risposta immunitaria residenti nella cute espletano funzioni di controllo e sia quelle mieloidi che i subset linfocidi si trovano in una sorta di *steady state*.

In buona sostanza alcune delle cellule residenti, identificato l'antigene, migrano nei linfonodi con lo scopo di indurre una tolleranza periferica o di iniziare una efficace reazione.

Quindi se una lesione altera il continuum anatomico le cellule immunocompetenti della cute e quelle che derivano dal sangue per infiltrazione periferica costruiscono un complesso *network* con lo scopo di contenere l'aggressore e i danni provocati e contemporaneamente stabilendo le condizioni anatomo-funzionale per il ripristino dello stato originario di integrità.

ECOSISTEMA CUTANEO ED OMEOSTASI

La presenza di microrganismi sulla cute ha un'importante ruolo di regolazione e contrasto, coinvolgendo le specie batteriche residenti, le cellule epiteliali e la risposta immunitaria.

Per la costituzione di un ecosistema "operativo" si deve ricordare che durante la vita fetale l'organismo non possiede una vera e propria flora batterica, perché la placenta impedisce il passaggio della stragrande maggioranza dei microrganismi.

Dopo il parto la situazione muta: il neonato viene a contatto con il tratto urogenitale della madre. In poco tempo, già nelle ore e nei giorni immediatamente successivi alla nascita, i microrganismi dell'ambiente e presenti nelle persone che accudiscono il neonato trasferiscono la propria flora batterica.

Gradualmente i germi si organizzano e danno origine al pool delle componenti che formano l'ecosistema. I batteri presenti sulla pelle utilizzano i nutrienti che fornisce la cute stessa e formano uno strato di protezione che limita e/o impedisce lo sviluppo di altri microrganismi, anche in funzione di potenziali aggressione di patogeni.

D'altro canto batteri di solito non dannosi possono acquisire un potenziale di rischio se continuano a moltiplicarsi in modo eccessivo o si spostano verso altre aree corporee. La flora batterica cutanea è rappresentata dai batteri aerobi (che necessitano di ossigeno) e anaerobi.

Già nel 2008 il NIH (National Institutes of Health) ha proposto un "Integrated Human Microbiome Project" per caratterizzare la diversità microbica di cinque siti caratteristici del corpo (cute, naso, cavità orale, intestino e vagina).

L'approccio, che ha utilizzato nuove metodiche per identificare il genoma, ha consentito di definire quattro Phyla [*Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* e *Proteobacteria*]. In genere si tratta di flora microbica residente e stabile⁽¹²⁾.

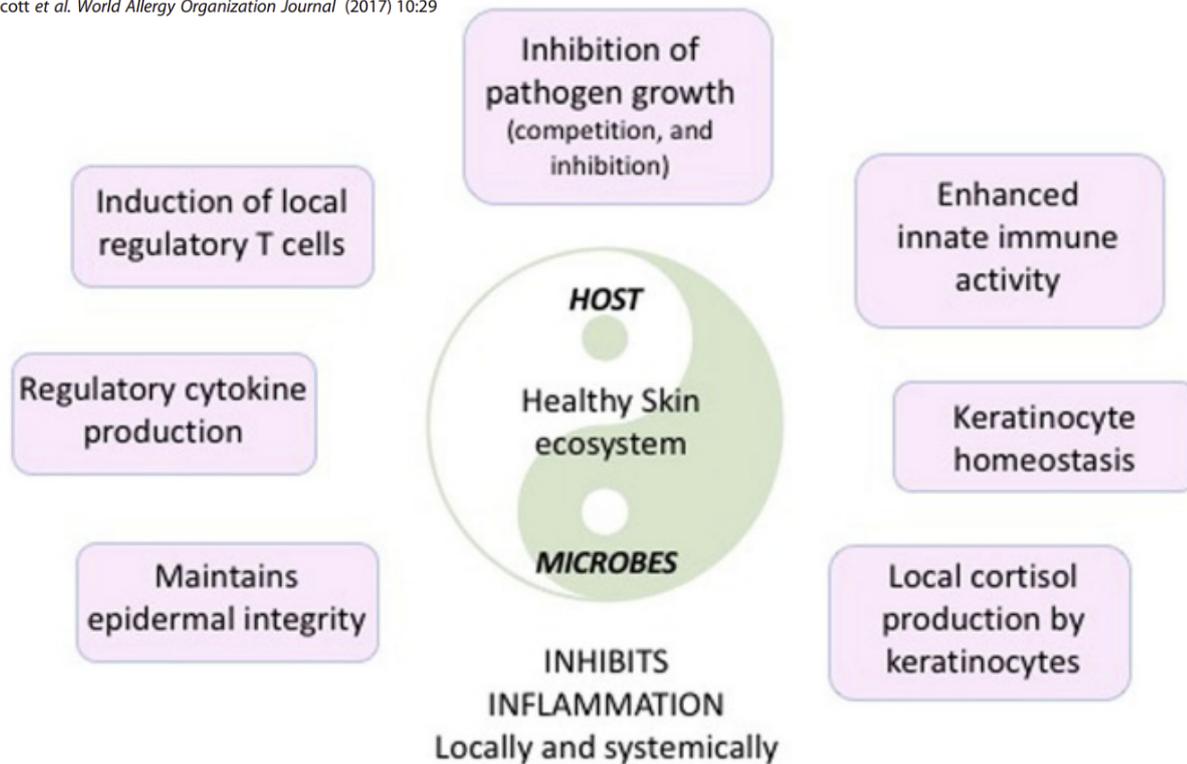


Fig. 1 The interdependent mutualistic relationship between commensal microbes and the host maintains tissue homeostasis, inhibiting local inflammation. Regulatory responses generated in the skin also have systemic immunomodulatory effects

ASPETTI FUNZIONALI NELLA RISPOSTA IMMUNITARIA DELLE MUCOSE

Le mucose, disposte anatomicamente al confine tra ambiente esterno e organismo, sono protette da tessuto linfatico diffuso od organizzato (follicoli linfatici delle tonsille, apparato respiratorio e digerente).

Si usa l'acronimo MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue) per descrivere in generale la distribuzione del tessuto linfatico associato alle mucose. Un particolare aspetto della risposta immunitaria mucosale consiste nella sua relativa autonomia rispetto alla reazione sistemica.

Nell'apparato digerente si possono descrivere noduli linfatici nella lamina propria e nella sottomucosa.

Inoltre esistono alcune formazioni specializzate (placche del Peyer) che costituiscono un vero e proprio filtro per il controllo degli antigeni che attraversano la barriera mucosale.

Le placche del Peyer si trovano nella lamina propria del tenue, al confine con la sottomucosa, e presentano nel loro aggregato cellulare macrofagi, linfociti T e B, plasmacellule; talora è addirittura possibile riconoscere una zona follicolare (B linfociti) e una parafollicolare con T e APC (Antigen Presenting Cell). D'altro canto la stessa risposta umorale si giova di particolari molecole (IgA) prodotte dai linfociti B situati in prossimità delle mucose.

Le IgA possono resistere all'azione litica delle secrezioni grazie a una molecola-scudo, chiamata SC (Secretory Component), che esse acquisiscono quando si riversano nel lume dopo l'attraversamento delle cellule parietali.

Le IgA sono stimulate da esposizioni frequenti o prolungate di antigeni. Esse probabilmente, assieme ad alcune sottopopolazioni linfocitarie T, entrano nel meccanismo di tolleranza per determinati antigeni.

Un'altra sede anatomica nella quale avviene l'interazione tra mondo esterno e organismo è l'apparato respiratorio e, in particolare, il polmone.

La struttura “funzionale” del polmone è l'alveolo. La sottile parete alveolare che permette gli scambi gassosi per diffusione è formata da epitelio pavimentoso semplice costituito da cellule alveolari, cellule ghiandolari che secernono il liquido alveolare che mantiene umida la superficie di contatto fra cellule e aria e contiene il surfactante, una miscela di fosfolipidi e lipoproteine che riduce la tendenza degli alveoli a collassare e i macrofagi alveolari, fagociti che rimuovono dallo spazio alveolare polveri sottili e detriti. Intorno agli alveoli vi sono sottilissimi capillari sanguigni, che si immergono in parte nell'alveolo e trasportano anidride carbonica.

All'interno dell'alveolo il sangue è separato dall'aria inspirata da un sottile strato di endotelio; le cellule che formano questa sottilissima membrana consentono al sangue di ossigenarsi.

Analizzando nel dettaglio l'epitelio alveolare troviamo macrofagi e due particolari tipi di cellule (pneumociti di I e II tipo). I macrofagi alveolari possono trovarsi sia nei setti interalveolari sia nell'epitelio, sia nel lume dell'alveolo stesso. Fagocitano particelle carboniose del pulviscolo atmosferico che arriva negli alveoli con l'aria inspirata e lo depositano nei setti interlobulari. L'equilibrio omeostatico del polmone dipende dal ruolo delle membrane e dal reticolo di interazioni che riguardano le cellule “residenti”.

Il ruolo di queste cellule è importante per la tolleranza immunitaria (verso componenti non pericolose) e nel riconoscimento dei potenziali patogeni.

Una funzione non secondaria è svolta dal microbiota che si colloca al centro di questo punto critico: stabilizzare l'equilibrio fra tolleranza e processo infiammatorio. I macrofagi che risiedono nel lume delle vie aeree possono identificare stimoli esterni grazie a vari recettori di superficie. A seconda del tipo di recettore, si potrà avere una risposta regolatoria positiva o negativa.

Gran parte di queste risposte è condizionata dai microrganismi residente in situ.

I macrofagi residenti nel lume delle vie aeree (definiti anche AM, airway macrophages) sono cellule a lunga vita che derivano da progenitori embrionali

in grado di colonizzare le vie aeree subito dopo la nascita e in grado di rinnovarsi. In corso di un processo infiammatorio cellule provenienti dal midollo osseo colonizzano il polmone.

Il risultato finale deriva da un insieme di relazioni che coinvolgono tessuti, microrganismi e derivati del metabolismo. Anche la risposta adattativa viene costitutivamente interessata ed presente nel controllo dei meccanismi messi in atto per mantenere l'equilibrio tra difesa e tolleranza.

Un esempio “critico” sull'importanza della risposta immunitaria locale nel polmone lo fornisce quanto abbiamo osservato nell'infezione da SARS-CoV-2.

Ripercorrendo la patogenesi vediamo che il virus, avvenuto il contagio, si lega agli pneumociti di tipo II e comincia a interferire con la produzione del surfactante. Per questo, mentre gli alveoli iniziano a collassare, SARS-CoV-2, attraverso l'adesione con il recettore ACE2 presente sugli alveoli, entra nelle cellule. All'interno delle cellule vengono prodotti nuovi virioni. I macrofagi alveolari producono le citochine IL-6, IL-8, TNF- α .

Il progressivo danno alveolare può causare, in ambito clinico, una grave insufficienza respiratoria. Successivamente vengono liberate altre citochine (IL-8, TNF, IL-6) che contribuiscono ad una ulteriore invasione da parte dei macrofagi e dei neutrofili. I neutrofili causano a loro volta un progressivo danno strutturale che facilita l'accumulo di liquidi e la genesi dell'edema polmonare. Si genera una sorta di feed-back positivo che, amplificando l'infiammazione, causa un aggravamento che può evolvere con exitus.

SARS-CoV-2 possiede una maggiore affinità di legame con l'ACE2 rispetto a quella di SARS-CoV, fattore che potrebbe spiegare, almeno in parte, la maggiore trasmissibilità di SARS-CoV-2. L'attivazione, inoltre, della risposta del sistema immunitario innato viene alterata dallo stesso SARS-CoV-2, che inibisce l'attività degli interferoni di tipo I (INF- α/β) e promuove la produzione di una serie di citochine pro-infiammatorie.

Nei pazienti con COVID-19, livelli sierici più elevati di IL-6 sembrano correlati ai livelli di fibrinogeno e ad una prognosi peggiore ^{(13) (14) (15) (16) (17)}.

La **bocca** rappresenta per la sua struttura anatomica un'area di transito che coinvolge sia l'apparato digerente sia quello respiratorio.

Il suo complesso anatomico funzionale, strettamente correlato alle vie aree nasali, è un importante crocevia per la risposta immunitaria, sia ad espressione "locale" sia in ambito sistemico ⁽¹⁸⁾.

VACCINARSI AL "FRONTE PER PREVENIRE L'INVASIONE"

La risposta immunitaria delle mucose consente un buon equilibrio omeostatico a livello dei confini anatomici tra organismo e ambiente. In condizioni di buona salute, per esempio, a livello polmonare i meccanismi di controllo distinguono fra patogeni pericolosi e altri microrganismi. Egualmente si può affermare per quanto accade a livello intestinale e cutaneo.

D'altro canto, è sul fronte del rapporto ambiente/organismo che avvengono gli scontri strategici, prima del coinvolgimento partenterale. Prendiamo, per esempio nel caso della cute, le modalità di vaccinazione che si potrebbero utilizzare per SARS-CoV-2. Lo schema classico prevede una somministrazione intramuscolare, ma è verosimile che utilizzando la risposta immunitaria cutanea una minore quantità di vaccino sarebbe egualmente efficiente.

Sappiamo che vaccinare per via cutanea non è concettualmente una rivoluzione. Sistemi di questo tipo sono noti per rabbia, febbre gialla e altre malattie. La cute è ricca di cellule dendritiche in grado di presentare l'antigene e di rendere efficace l'informazione per l'organismo.

Si tratta di giocare bene la dislocazione anatomica delle prime linee di difesa, tutt'altro che sguarnite e prive di adeguata capacità di reazione. Per la distribuzione delle mucose si può fare un'analogia considerazione: a livello polmonare e nell'intestino meccanismi di "homing" locale sono un utile strumento in grado di fornire una risposta immunitaria efficiente. Nel preparare un vaccino anti SARS-CoV-2 da somministrare a livello mucosale sono già stati presi in esame esperienze acquisite su SARS-CoV-1 e MERS-CoV-2 ⁽¹⁹⁾.

CRESCITA NEOPLASTICA E CUTE

Le forme di tumore cutaneo più frequenti hanno origine dai cheratinociti e si distinguono in basali e carcinomi squamosi: i non-melanoma skin cancer (NMSC).

Carcinomi spinocellulari e basocellulari rappresentano la oltre il 99 per cento dei tumori della pelle non melanomi, ma sono note altre rare tipologie di tumore cutaneo come per esempio il carcinoma a cellule di Merkel, il sarcoma di Kaposi e il linfoma cutaneo.

Sia in NMSC sia nel caso dei melanoma sempre maggiore interesse si è concentrato sul ruolo della risposta immunitaria durante la patogenesi e la progressione di malattia. L'approccio concettuale si basa sul significato di immunosorveglianza e di immunoediting.

Con il termine *immunoediting* si intende un rimodellamento delle caratteristiche antigeniche delle cellule neoplastiche tumore da parte del sistema immunitario.

Si distinguono tre fasi nell'interazione tra tumore e risposta immunitaria:

- 1) eliminazione di cloni fortemente immunogenici [vera immunosorveglianza];
- 2) fase di equilibrio durante la quale il sistema immunitario seleziona varianti tumorali per rendere più efficace l'azione di contenimento;
- 3) fase di escape attraverso la quale i cloni del tumore si espandono e non sono più controllati dalla risposta immunitaria.

Il melanoma è stato studiato da lungo tempo proprio in relazione al particolare tipo di crescita immunogenica che lo caratterizza e al complesso di relazione tra cellule neoplastiche e microambiente che le circonda. Cellule NK, cellule dendritiche, T e B linfociti agiscono inizialmente a eliminare le cellule tumorali con varie sequenze di interazioni. L'equilibrio che si instaura non è una fase realmente quiescente, ma si basa sul controllo delle varianti emergenti, operazione nella quale i linfociti svolgono una funzione critica.

Nel melanoma

l'interazione cellulare basata sul modello di editing è una delle dimostrazioni più evidenti, anche in tumore cutaneo, sul ruolo dell'immunosorveglianza nel controllo della crescita neoplastica.

Il tempo dell'eliminazione include eventi sequenziali che svolgono all'inizio un'azione citotossica anti-melanoma (NK, cellule dendritiche, linfociti B e T, afferenti nel microambiente tumorale o dalla periferia).

Segue poi un tempo più lungo durante il quale le cellule tumorali vengono costantemente sopresse e, in particolare, si osserva la selezione di varianti che esprimono nuove forme di immunogenicità. In pratica la quiescenza è tempo variabile nel contesto attacco/difesa che poi evolve con la produzione di assetti neoplastici non più controllabili ⁽²⁰⁾.

BIBLIOGRAFIA

1. Varadé L, Susana Magadán S, González-Fernández A review article - *Human immunology and immunotherapy: main achievements and challenges* (2021) 18:805–828.
2. Baviera G, Capra L, Cipriani F et al. *Ecosistema microbico nella cute sana e nell'eczema* Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica 2014; 1: 2 - 7.
3. Peterson J, Garges S, Giovanni M, et al. - *The NIH human microbiome project*. *Genome Res* 2009;19:2317-23.
4. Naik S - *Compartmentalized control of skin immunity by resident commensals*. *Science* 2012;337:1115.
5. Matejuk A - *Skin Immunity Arch. Immunol. Ther. Exp.* DOI 10.1007/s00005-017-0477-3. Published on line 16 june 2017.
6. Nguyen AV, Soulika AM Review *The Dynamics of the Skin's Immune System Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20.: 1811 – 1814.
7. Mayer L. *Mucosal immunity*. *Immunol Rev* 2005; 206:5-9 .
8. Mowat AM. *Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens*. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 331 – 341 .
9. Kabat AM, Srinivasan N, Maloy KJ. *Modulation of immune development and function by intestinal microbiota*. *Trends Immunol* 2014; 35:507–17.
10. Hill DA, Artis D. *Intestinal bacteria and the regulation of immune cell homeostasis*. *Annu Rev Immunol* ; 2010; 28: 623–667.
11. Didona D – *La cute nel sistema immunitario- cap 1 pp 2 -14, in Immunodermatologia (a cura di B. Didona, D. Didona e G. Luzi) - ed Aracne, 2020 – Roma .*
12. Prescott, S L., Larcombe, D-L., Logan, A C., West, C., Burks, W. et al. (2017) *The skin microbiome: impact of modern environments on skin ecology, barrier integrity, and systemic immune programming*. *World Allergy Organization Journal*, 10: 29 <https://doi.org/10.1186/s40413-017-0160-5>.
13. Dominik Hartla D, Tirouvanziame R, Lavala JC et al. *Innate Immunity of the Lung: From Basic Mechanisms to Translational Medicine J Innate Immun* 2018;10:487–501.
14. World Health Organization. *COVID-19 Clinical management*. WHO/2019-nCoV/clinical/2021.1 2.
15. AIPO. *Approccio pragmatico alla diagnosi di polmonite da SARS-CoV-2 [COVID-19] AIPO Ricerche Ed. – Milano. Versione del 29 Aprile 2020.*
16. Ballou M, Haga CL. *Why Do Some People Develop Serious COVID-19 Disease After Infection, While Others Only Exhibit Mild Symptoms?* *J Allergy ClinImmunolPract* 2021;9:1442-8.
17. Poland GA et al. *SARS-CoV-2 immunity: review and applications to phase 3 vaccine candidates*. *Lancet*. 2020 Nov 14; 396 (10262):1595-1606 .
18. Valentich MA, Analis T, Marcelo Serra H *Current Immunology Reviews*, 2011, 7, 000-000 1 1573-3955/11 *Current Immunology Reviews*, 2011, 7, 000-000 1 1573-3955/11 Bentham Science Publishers Ltd.
19. W. Russell M , Moldoveanu Z , Ogra PL and Mestecky J *Mucosal Immunity in COVID-19: A Neglected but Critical Aspect of SARS-CoV-2 Infection Front. Immunol.*, 30 November 2020 | <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.611337>.
20. Passarelli A, Mannavola F, et al. - *Immune system and melanoma biology: a balance between immunosurveillance and immune escape*. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, (No. 62), pp: 106132-106142.