

ECOSISTEMA VAGINALE: ESPRESSIONE DI UN EQUILIBRIO DINAMICO

F.De Seta, S.Sacco, E.Bianchini, S.Smiroldo, Businelli C., S.Guaschino

Clinica Ostetricia e Ginecologia- IRCCS B.Garofolo
Università degli studi di Trieste

Il sistema immunitario del tratto genitale rappresenta una parte dell'esteso sistema di difesa che lambisce le membrane mucose del corpo umano. Sebbene esso, in tal sede, abbia notevoli similarità con altre mucose dell'organismo, per molti aspetti esso risulta essere unico e funzionalmente separato dalle difese immuni mucosali, come quelle del polmone o dell'intestino, per esempio. Tale specifico sistema, infatti, deve proteggere adeguatamente l'apparato genitale ed essere in grado di rispondere ai patogeni sessualmente trasmissibili, alcuni dei quali potenzialmente letali come il *virus HIV*, il *papilloma virus*, ed altri che possono avere delle conseguenze devastanti per quanto riguarda la capacità riproduttiva. Contemporaneamente, però tale sistema deve poter garantire la tolleranza nei confronti di antigeni come le molecole presenti nello sperma e nei confronti del prodotto del concepimento.

La normale flora batterica vaginale presiede un importante meccanismo di difesa contro possibili agenti patogeni. La vagina infatti può essere paragonata ad una nicchia ecologica nella quale coesistono microrganismi in equilibrio dinamico con l'ambiente e fra loro. Tale equilibrio è altamente suscettibile di modificazioni da parte di fattori endogeni ed esogeni quali: età, funzionalità ovarica (che determina attraverso la produzione di estrogeni, la quantità di glicogeno presente nell'epitelio), attività sessuale, fase del ciclo mestruale, impiego di contraccettivi orali, gravidanza, presenza di stati patologici, terapie farmacologiche in atto.

Il secreto vaginale contiene una carica batterica pari a circa $10^6 - 10^9$ unità formanti colonie/gr. ed ospita numerose specie microbiche acido tolleranti come: *Escherichia Coli*, *Streptococco*, *i Difteroidi*, il *Corynebacterium vaginalis* e molti anaerobi e microaerofili.

ORGANISMI AEROBI	ORGANISMI ANAEROBI
COCCHI GRAM POSITIVI Streptococchi A (piogeni) Streptococchi B (agalactiae) Streptococchi D (faecalis) Stafilococchi epidermidis	COCCHI GRAM POSITIVI Peptococchi Peptostreptococchi
COCCHI GRAM NEGATIVI Neisseria	COCCHI GRAM NEGATIVI Villanella Spp
BACILLI GRAM POSITIVI Lattobacilli Listeria monocytogenes	BACILLI GRAM POSITIVI Lattobacilli Clostridium spp Actinomyces spp
BACILLI GRAM NEGATIVI Escherichia coli Gardnerella vaginalis Klebsiella pneumoniae Enterobacter spp Proteus spp Pseudomonas spp	BACILLI GRAM NEGATIVI Bacteroides Prevotella Mobiluncus
ALTRI MICRORGANISMI Miceti, micoplasmi urogenitali	

Delle migliaia di differenti ceppi batterici e fungini ai quali è esposto il nostro organismo, solo alcuni sono in grado di colonizzare le aree corporee, ed in particolare la vagina. Ciò dipende dalle più diverse condizioni di temperatura, ossigenazione, umidità locale, mentre a livello vaginale sono soprattutto i valori del pH a condizionare il tipo di colonizzazione batterica. I microbioti predominanti nella vagina, dal menarca alla menopausa, sono rappresentati dai lactobacilli di Doderlein che comprendono il *L.Acidophilus*, *L.Casei*, *L.Fermentum* ed il *L.Celloblosus*. Tali microrganismi hanno la capacità di fermentare il glicogeno, proveniente dal disfacimento delle cellule parabasali delle mucosa vaginale eutrofica, ad acido lattico il cui l'effetto finale è l'elevata concentrazione di idrogenioni H^+ che rendono l'ambiente vaginale acido (con valori di pH in condizioni fisiologiche di 4 – 4.5).

Gli H^+ derivanti dall'acido lattico si legano all'acqua formando perossido di idrogeno. Tale molecola è tossica per un gran numero di specie batteriche, se prive dell'enzima catalasi, a 0.75–5 $\mu\text{g/mL}$, concentrazioni che vengono facilmente raggiunte a livello del secreto vaginale. L'azione combinata di perossido di idrogeno, perossidasi uterina (prodotto dalla cervice e dall'endometrio) e ioni Cl^- e I^- , limita la crescita batterica per attivazione diretta dei polimorfonucleati, che esplicano un'azione battericida negli spazi intercellulari epiteliali. Inoltre alcuni ceppi di lactobacilli possono produrre una notevole quantità di molecole ad azione antimicrobica come Lactocidina, Acidolina, Acidofillina, Lactacina. Infine i lactobacilli interferiscono anche con l'aderenza batterica alle cellule epiteliali della vagina. Da queste ultime infatti viene detenuto il ruolo di prima linea protettiva contro i microrganismi patogeni.

Numerose le evidenze sperimentali e cliniche che delineano l'importanza di un pH acido (< 4.5) per il mantenimento di una normale flora batterica vaginale e la conservazione di un fisiologico ecosistema. E' noto infatti, che un pH acido è in grado di inibire le crescite di batteri anaerobi che possono essere le cause di infezioni vaginali ed in particolare di vaginosi batterica (VB).

Nelle donne in menopausa, l'innalzamento del pH vaginale si accompagna ad una significativa colonizzazione dell'ambiente da parte dei batteri fecali ed in particolare l'*Escherichia coli*. Questa alterazione viene ritenuta da diversi autori responsabile dell'aumentata incidenza non solo delle infezioni vaginali ma, soprattutto, di infezioni delle vie urinarie che si osservano nelle donne in età climaterica.

	<i>GLICOGENO</i>	<i>LACTOBACILLI</i>	<i>Ph</i>	<i>MICROFLORA</i>
Pubertà	+ -	10 ⁵ mg/gr	>4,5	Anaerobi, cocchi
Età fertile	++	10 ⁶ -10 ⁹ mg/gr	<4,5	G.vaginalis
Menopausa	--	--	5,2	E.coli, enterococchi Stafilococchi
Menopausa HRT	+ -	+ -	4,4	S. viridans, cocchi
Gravidanza	++	+++	< 4,5	GBS, micoplasm anaerobi, Gram-

Un pH vaginale acido favorisce l'adesione dei lactobacilli acidofili all'epitelio della mucosa stessa, favorendone quindi la colonizzazione con la conseguente produzione di H₂O₂. Inoltre sarebbe in grado di inattivare enzimi batterici ed attività proteolitiche, come quelle della sialidasi. Anche taluni batteri sono in grado, infatti, di produrre enzimi come prolidasi e la sopraenunciata sialidasi, attivando quindi prima una risposta innata e poi una specifica.

Infine da ricordare che il secreto vaginale è costituito per il 5% da trasudato vaginale e per il 95% dal muco cervicale e dalle secrezioni che in questo confluiscono. Il muco ostacola la colonizzazione microbica sia per una azione meccanica, mediante le sue proprietà di viscosità e di eluizione, sia perché in esso sono presenti macrofagi e anticorpi (IgA e IgE).

Inoltre a livello vaginale intervengono sia meccanismi immunitari aspecifici quale l'immunità innata, che un'immunità acquisita specificamente indotta.

L'immunità innata costituisce la prima linea di difesa contro i microrganismi patogeni e gioca un ruolo importante nell'induzione della risposta immunitaria specifica.

Il sistema immune innato comunica con quello acquisito principalmente attraverso 2 meccanismi:

- processazione dell'antigene attraverso il Complesso Maggiore di Istocompatibilità di classe I e II ai linfociti,

- produzione di mediatori specifici capaci di attirare, chemiotatticamente, specifici cloni cellulari.

In particolar modo a livello vaginale è molto sviluppato questo secondo sistema attraverso la produzione di mediatori solubili come IL1 α , IL1 β , IL-6, IL-8, G-M-GSF, M-GSF, TGF- β , MIP1 α , MIP1 β acario delle cellule epiteliali, endoteliali e dei monociti attivati.

Oltre alle chemochine e alle citochine sopra citate le cellule epiteliali hanno la capacità di produrre altre sostanze di difesa come le defensine, piccoli (< 4KDa) peptidi cationici dotati di attività citotossica aventi un ampio spettro di attività antimicrobica che include batteri sia gram+ che gram-, funghi, protozoi e perfino l'envelope di alcuni virus. Ma non solo le cellule endoteliali sono in grado di agire da link tra immunità innata e acquisita nel ruolo di APC (antigen presenting cell) secondo meccanismi tuttora non completamente noti.

Vi sono poi una serie di sostanze aspecifiche contenute nel muco vaginale aventi funzione di difesa come: lactoferrina, lisozima, zinco, defensine, calproteina, proteine istoniche. Appartengono poi alla risposta immune di tipo innato anche alcuni cloni cellulari come macrofagi tissutali e natural killer. La loro presenza a livello vaginale viene però influenzata da diversi fattori, primo fra tutti quello ormonale. Infatti essi sono molto abbondanti durante la fase mestruale per poi ridursi nella fase proliferativa del ciclo. Non vengono però influenzati dal pH molto acido come avviene per i linfociti ma possono subire una notevole riduzione della loro funzionalità a contatto con sostanze esogene quali gli spermicidi.

Un'altro sistema particolarmente attivo, anche a livello vaginale è quello complementare le cui funzioni possono essere così riassunte:

- favorisce l'uccisione dei microrganismi mediante l'opsonizzazione per fagocitosi;
- è in grado di eliminare direttamente i microrganismi per lisi;
- i peptici che si generano dalla sua attivazione (C3a,C5a) sono in grado di richiamare per chemiotassi leucociti nel sito di infiammazione;
- rimuovere efficacemente gli immunocomplessi;
- induce e potenzia le risposte anticorpali specifiche.

Si ricorda inoltre che la cascata complementare viene innescata attraverso tre vie:

via classica;

via alternativa;

via lectinica.

Interviene nell'immunità innata ed è attualmente oggetto di numerosi studi la proteina MBL, appartenente alla famiglia delle collectine, di cui fanno parte anche le proteine A e D che compongono il surfactante polmonare, prodotte a livello epatico.

L'MBL è una proteina che interviene nell'immunità innata e la cui concentrazione sierica aumenta di 3-5 volte durante la fase acuta.

A tale molecola viene riconosciuto il ruolo di pre-anticorpo per la sua capacità di riconoscere i residui capsulari non-self (lipopolisaccaride, lipooligosaccaride,acido lipoteicoico) e di legarsi quindi alla superficie microbica.

Le principali funzioni dell'MBL sono l'attivazione del complemento e l'opsonizzazione dei microrganismi con conseguente fagocitosi monocito-macrofagica.

I meccanismi di difesa a livello vaginale sono il risultato di un equilibrio di numerosi fattori anatomici, fisici e chimici, che intervengono precocemente e in modo aspecifico in caso di esposizione ad un antigene potenzialmente patogeno prima che venga innescata una risposta immunitaria specifica, in grado di rispondere in maniera diversa a microbi di differenti e con una intensità che è direttamente proporzionale al numero di esposizioni ad uno stesso agente patogeno.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Martina Johansson and Nils Y.Lycke "Immunology of the human genital tract". *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2003; 16: 43-49
- [2] A.J. Quail "The innate and early immune response to pathogen challenge in the female genital tract and the pivotal role of epithelial cells" *J.Reproductive Immunology* 2002; 57: 61-79
- [3] Sharon L.Hillier "Normal vaginal flora" *Sexually Trans. Diseases* 1999; Chapter 14: 191-205
- [4] Myron S. Cohen Deborah J. Anderson "Genitourinary mucosal defenses sexually transmitted diseases" Chapter 13: 173-184
- [5] N.Blasi, A. Zurlo, M.K.Maggipinto, R.Cassetta, T.M. D'Acquino, D.Raimondi, L.M.Shonauer, V.Borracino "Ruolo del Ph vaginale" *Minerva Ginecologica* 1998; 50: 265-231
- [6] Abul K. Abbas, Andrei H. Lichtman, Jordan S. Pober "Immunologia Cellulare" Piccin 1998; Sez.1, Capitolo 1: 4-5
- [7] Jannie Borst, Andrew cope "Turning the immune system on" *Immunology today* 1999; 20(4): 156-158

- [8] James W. Lillard, JR, Prosper N.Boyaka, Oleg Chertov, Joost J.Oppenheim, Jerry R. McGhee "Mechanisms for induction of acquired host immunity by neutrophil peptide defensins" *Immunology* 1999; 96: 651-656
- [9] Erikav Valore, MS, Christina H.Park, BS, Sorina L.Igreti, BS, and Tomas Ganz, Phd,MD "Antimicrobial components of vaginal fluid" Sept 2002 *Am J Obstet. Gynecol.*187: 561-568
- [10] StaatsHF, Ennis FA Jr. "IL-1 is an effective adjuvant for mucosal and systemic immunological responses when coadministered with protein immunogens" *J.Immunology*, May 1999; 162 (10): 6141-7
- [11] Alberto Mantovani "The chemokine system: redundancy for robust outputs" *Immunology Today*, June 1999; 20 (6): 254-257
- [12] Ivan Roitt, Jonathan Brostoff, David Male "Immunologia" Zanichelli 1998; Cap.4: 43-58
- [13] R.A. Goldsday T.J.Kindt, B.A. Osborne "Kuby Immunologia" Utet 2001; Cap.13: 333-354
- [13] A-Misefari E.Jirillo "Immunopatologia" EDISES 1994; 96: 94-115
- [14] Malcom W.Turner "Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system" *Immunology today* 1996; 17 (11): 532-539
- [15] Dominic L.Jack, Nigel J.Klein, Macom W.Turner "Mannose binding lectin: targeting the microbial world for complement attack and opsonophagocytosis" *Immunological Review* 201; 180: 86-99
- [16] R.Allan Ezekawitz "Role of the mannose-binding lectin in innate immunity" *JID* 2003; 187 (Suppl.2):S 335
- [17] D.C. Kilpatrick "Mannan binding lectin and its role in innate immunity" 2002; 12: 335-351
- [18] Russell Wallis "Structural and functional aspects of complement activation by mannose-binding protein" *Immunobiol.*2002; 205: 433-445