

Questionario ECM FAD
 disponibile su: www.siaip.it

Immunità e sistema nervoso: le complicità neurologiche delle immunodeficienze primitive (Parte 1)

Alessandra Gori¹, Lucia Leonardi¹, Annarosa Soresina², Baldassarre Martire³, Bianca Cinicola¹, Alberto Spalice¹, Marzia Duse¹

¹ Dipartimento Materno-Infantile e Scienze Urologiche, Università Sapienza, Roma; ² Clinica Pediatrica, Unità di Immunologia Pediatrica, Università di Brescia, ASST Spedali Civili, Brescia; ³ Dipartimento Materno-Infantile ASL BAT Ospedale "Monsignor Dimiccoli", Barletta

ABSTRACT

La maturazione dei sistemi immunitario e neurologico, così come la colonizzazione microbica, inizia nel periodo fetale e evolve nel tempo attraverso i primi mesi e primi anni di vita. Qualunque alterazione, difetto o interferenza in questa fase può causare cambiamenti nello sviluppo e nella plasticità cerebrale con alterazioni comportamentali. In questa ottica, le Immunodeficienze Primitive (IDP) possono costituire un *experimentum naturae* e un modello ideale in cui valutare se il difetto immunologico è in qualche misura responsabile delle alterazioni neurologiche eventualmente associate. Il coinvolgimento del sistema nervoso, centrale e periferico, può causare sintomi ad esordio precoce o tardivo, che si associano all'IDP in maniera sfumata, oppure caratterizzandone il decorso con un grande impatto sulla qualità di vita dei pazienti. Nella pratica clinica, si devono affrontare a volte bambini con immunodeficienze maggiori o minori o con problemi neurologici o comportamentali difficilmente inquadrabili. Si è tentato quindi di rispondere documentatamente ai seguenti quesiti: 1. Quali sono le relazioni tra SI e SN? 2. In che modo il sistema immunitario influenza il neuro sviluppo? 3. È possibile sistematizzare le complicità neurologiche delle immunodeficienze? 4. Ci sono dati sulle relazioni tra sistema immunitario e sistema nervoso periferico? Le ricadute assistenziali di queste nuove acquisizioni interessano e interesseranno sempre di più il Pediatra che ha in primis la responsabilità non solo di diagnosticare precocemente queste condizioni, ma anche di prevenirne le complicità e gli esiti a distanza, se possibile.

CORRISPONDENZA

Maria Duse

marzia.duse@fondazione.uniroma1.it

Conflitto di interessi: gli Autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interessi rispetto agli argomenti trattati nell'articolo.

Come citare questo articolo: Gori A, Leonardi L, Soresina A, et al. Immunità e sistema nervoso: le complicità neurologiche delle immunodeficienze primitive (Parte 1). Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica 2020;34:I-XVI.

© Copyright by Società Italiana di Allergologia e Immunologia Pediatrica



OPEN ACCESS

L'articolo è OPEN ACCESS e divulgato sulla base della licenza CC-BY-NC-ND (Creative Commons Attribuzione - Non commerciale - Non opere derivate 4.0 Internazionale). L'articolo può essere usato indicando la menzione di paternità adeguata e la licenza; solo a scopi non commerciali; solo in originale. Per ulteriori informazioni: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.it>

Introduzione

La clinica è nata e si è sviluppata applicando il metodo riduzionista ovvero dividendo un sistema complesso (il corpo umano) in parti più semplici (organi e apparati) e studiandone separatamente le proprietà. La moderna medicina è sostanzialmente una medicina d'organo che vede gli apparati isolati, ulteriormente scomponibili e diversamente connessi.

Questo approccio ha enormi pregi perché consente uno studio sempre più analitico anche del minimo dettaglio, ottenendo dati che andranno poi riportati nel sistema generale per avere la visione d'insieme e studiarne le interconnessioni. Il processo è relativamente semplice quando si studiano patologie acute e brevi perché il rapporto causa effetto è in genere identificabile ma diviene assai più difficile nelle patologie croniche soprattutto se congenite in cui i rapporti tra causa ed effetto, o più specificatamente tra genotipo e fenotipo, sono molto meno evidenti; ne sono un esempio le immunodeficienze e le malattie neurodegenerative. Sono malattie altamente complesse in cui risultano o possono risultare alterati diversi organi e sistemi o per mera associazione o perché mutualmente interferenti. In particolare il sistema immunitario risulta essere un sistema estremamente complesso, costituito da moltissimi protagonisti che continuano a essere identificati, basti pensare alla cellula epiteliale, che fino a qualche anno fa non era considerata cellula immunologicamente attiva e che ora sappiamo rivestire un ruolo cruciale nella infiammazione. Le componenti

cellulari e molecolari agiscono attraverso molteplici interazioni locali e a distanza, in maniera non lineare ma con meccanismi ridondanti e a feedback. Una qualunque alterazione del sistema immunitario (SI) si traduce in effetti a cascata – e quindi in quadri clinici – estremamente eterogenei e si comprende quindi la difficoltà di trovare una relazione causa-effetto tra i difetti del sistema immune, le Immunodeficienze, e le manifestazioni neurologiche eventualmente associate.

Adirittura è stato dimostrato che alterazioni quantitative o qualitative del sistema immunitario già evidenti durante lo sviluppo cerebrale precoce, possono avere ripercussioni sulla funzione neurale che si rendono manifeste clinicamente in età più avanzate della vita. Il filone scientifico della neuro-immunologia studia proprio la comunicazione bidirezionale tra sistema nervoso (SN) e il SI e la interdipendenza tra funzione cerebrale e immunitaria, valutandone le possibili conseguenze sul neurosviluppo e sulla strutturazione della psiche. Il campo è molto affascinante sia dal punto di vista speculativo sia traslazionale perché può aprire la strada allo sviluppo di strategie efficaci per migliorare la diagnosi, la terapia e in qualche misura anche la prevenzione delle patologie immunomediata del SN. Le ricadute cliniche di queste acquisizioni interessano e coinvolgono sempre più il Pediatra che ha in primis la responsabilità e l'opportunità di osservare il bambino in tutte le fasi di crescita e di sviluppo e che ne rappresenta il case manager a livello territoriale e ospedaliero.

Nella pratica clinica, spesso ci si trova di fronte a bambini con immunodeficienze maggiori o minori o, per converso, a bambini con problemi neurologici o comportamentali difficilmente inquadrabili. In considerazione dell'alta frequenza con cui si presentano disturbi del SI e del SN, viene qui affrontata una revisione della letteratura mirata a rispondere in modo aggiornato e documentato ai seguenti quesiti:

1. Quali sono le relazioni tra SI e SN?
2. In che modo il sistema immunitario influenza il neurosviluppo?
3. È possibile sistematizzare le complicità neurologiche delle immunodeficienze?
4. Ci sono dati sulle relazioni tra sistema immunitario e sistema nervoso periferico?

1. Quali sono le relazioni tra SI e SN?

1.1 Il Sistema immunitario è il nostro settimo senso: nuove funzioni oltre la difesa dalle infezioni

Nella sua definizione classica, il sistema immunitario è costituito da una complessa rete di fattori umorali e cellulari altamente specializzati, estremamente mobili e interattivi, che sono responsabili della difesa dell'ospite dagli agenti patogeni infettivi e dalle cellule tumorali^{1,2}. Ma le conoscenze sul sistema immunitario si sono molto approfondite in questi ultimi 20 anni e questa definizione pur corretta risulta riduttiva e semplicistica perché non tiene conto di altre importanti funzioni che riguardano la regolazione, sviluppo, riparazione, mantenimento

e ripristino dell'omeostasi tissutale in condizioni fisiologiche e in corso di infezione³.

Si vanno infatti via via chiarendo i ruoli cruciali giocati dal sistema immunitario nella riproduzione, nello sviluppo embrionale^{4,6}, angiogenesi⁷, crescita, modellamento, riparazione e rigenerazione tissutale^{3,8}.

Se queste funzioni riguardano tutti i tessuti del nostro organismo, i rapporti tra SI e SN appaiono privilegiati, ancor più evidenti e stretti: è ad esempio sorprendente quanto sia sovrapponibile il linguaggio chimico per la comunicazione intra e inter cellulare del sistema nervoso e del sistema immune, con ampia condivisione di ligandi e recettori, tanto da configurare un sistema di comunicazione bidirezionale⁹.

Negli anni '80 Blalock dimostrò che l'IFN mimava tra l'altro gli effetti di alcuni agenti adrenergici, neurotrasmettitori e ormoni peptidici; era infatti in grado di aumentare la frequenza cardiaca, la frequenza di scarica neuronale e di attivare la steroidogenesi nelle cellule surrenali¹⁰.

A seguire si vide che l'IL-1 era un prodotto endogeno anche dei neuroni e che molte altre interleuchine, così come gli IFN, erano prodotte sia dal SN centrale che periferico^{9,11}. Per converso, i linfociti esprimono anche m-RNA per la depro-opiomelanocortina (POMC, un proormone comune a molti ormoni peptidici, tra cui l'ACTH) e le sequenze amminoacidiche e nucleotidiche di ACTH e POMC splenici e pituitari sono identiche¹²⁻¹⁴.

Ad oggi sono riconosciuti come prodotti endogeni del sistema immunitario numerosi neurotrasmettitori e ormoni neuroendocrini, elencati in Tabella I, tra cui l'acetilcolina, la adrenalina, le endorfine e la melatonina^{9,15}.

Il termine "sinapsi immunologiche" è entrato oggi lessico proprio per porre l'accento su questi nuovi aspetti del SI e le sue somiglianze con il SN. In effetti il SN, così come il SI, integra gli stimoli dall'ambiente e ne coordina le risposte reclutando cellule altamente specializzate; entrambi rispondono, si adattano e hanno memoria dei cambiamenti omeostatici a cui sono sottoposti ed usano citochine e neurotrasmettitori per la comunicazione a distanza e le "sinapsi" per le interazioni cellula-cellula. Tutto ciò ha portato a formulare la ipotesi che il SI costituisca una sorta di sesto senso⁹ o settimo senso, considerando come sesto la propriocezione mediata dal nervo vago¹⁶, aprendo la strada a nuovi, straordinari scenari, che vedono il SI capace di mandare al SNC stimoli in grado di influenzare i circuiti neurali e attraverso questi adirittura i comportamenti sociali.

Ad esempio, sia l'IFN- γ che la IL-17, così come altre interleuchine (IL-1, TNF- α) influenzando direttamente gli strati neuronali inibitori I/II e regolano i circuiti alla base del comportamento sociale¹⁷. Un esempio di tale rapporto, di comune esperienza nella pratica clinica, è il cosiddetto *sickness behavior* – "comportamento di malattia" – ovvero l'insieme delle risposte comportamentali all'infezione o alla infiammazione che vanno dalla letargia, sonnolenza, depressione/anedonia fino alla anoressia, ansia/irritabilità, diminuzione delle interazioni sociali, calo della libido o diminuzione della concentrazione, dell'apprendimento e della memoria¹⁸. Il comportamento di malattia, almeno a breve termine, è adattativo in quanto riorganizza le priorità dell'ospite per far fronte all'infezione o infiammazione, ma apre la strada alla comprensione dei proces-

TABELLA I. Tabella I. Neurotrasmettitori ed ormoni prodotti dalle cellule del Sistema Immunitario (adattato da Blalock 2005 ⁹⁾).

Tipo cellulare	Neurotrasmettitori/Ormoni
Linfociti T	ACTH, endorfine, TSH, gonadotropina corionica, GH, PRL, Met-enkefalina, PTHrP, IGF-1, VIP
Linfociti B	ACTH, endorfine, GH, IGF-1
Macrofagi	ACTH, endorfine, GH, IGF-1, sostanza P, peptide natriuretico atriale
Splenociti	LH, FSH, CRH, adrenalina, endorfine
Timociti	CRH, LHRH, AVP, OT, adrenalina
Polimorfonucleati e mastociti	VIP, somatostatina
Megacariociti	Neuropeptide Y

ACTH: ormone adrenocorticotropo; AVP: Arginin-vasopressina; CRH: *Corticotropin releasing hormone*; FSH: ormone follicolo-stimolante; GH: ormone della crescita; IGF-1: fattore di crescita insulina simile; LH: ormone luteinizzante; LHRH: *LH-releasing hormone*; OT: ossitocina; PRL: prolattina; PTHrP: peptide correlato al paratormone; TSH: ormone tireostimolante; VIP: peptide intestinale vasoattivo

si psico-neuroimmuni che lo sottendono ^{18,19}. Come dimostrato in molti modelli animali, un sistema immunitario compromesso o disregolato può innescare risposte somatiche e comportamentali alterate a causa di un impatto negativo sulla funzione cerebrale ^{16,20-23} e per converso molte condizioni neurodegenerative ²⁴ sono associate a disfunzione o danneggiamento delle cellule immunitarie residenti nel SNC (microglia).

Comprendere appieno i circuiti e i meccanismi sottesi al funzionamento dell'asse neuro-immunitario potrebbe spiegare l'origine di alcune manifestazioni neurologiche e psichiatriche delle immunodeficienze e fornire nuove prospettive di terapia.

Box riassuntivo

Il SI regola l'omeostasi tissutale in condizioni di sterilità oltre che durante le infezioni.

Esiste un linguaggio chimico/citochinico comune tra SI e SN che consente una interazione bidirezionale tra i due sistemi.

Le risposte immunitarie periferiche in salute e in malattia possono modulare le frequenze di scarica neuronale.

Alterazioni comportamentali possono suggerire alterazioni del SI e viceversa.

Il SI può essere visto come settimo senso in quanto fornisce al SN stimoli in grado di alterare il comportamento sociale.

1.2 Barriera ematoencefalica e immunoprivilegio: dogmi da rivalutare

Con la nascita di questa nuova visione del SI e con le nuove prove del suo rapporto diretto con il SN, ci si è ovviamente chiesto come i due sistemi comunicassero e se i dogmi riguardanti il privilegio immunitario di quest'ultimo e l'impenetrabilità della barriera emato-encefalica (BEE) da parte del SI, andassero rivisitati.

Il privilegio immunitario era considerato assoluto e il suo superamento associato solo a stati patologici che portano conseguenze disastrose per il sistema nervoso centrale ¹⁸.

Ben sappiamo che la BEE svolge un ruolo fondamentale per lo svolgimento delle normali funzioni del SNC. Le diverse componenti della BEE, come endotelio microvascolare, astrociti, membrana basale e periciti, costituiscono una "unità neurovascolare" in grado di proteggere il sistema nervoso centrale dalle fluttuazioni di nutrienti, ormoni, metaboliti e composti endogeni o esogeni presenti nel sangue ^{25,26}. Per svolgere questa funzione le cellule endoteliali della BEE presentano caratteristiche morfologiche e proprietà fisiologiche peculiari, rispetto alle altre cellule endoteliali dell'organismo, che si possono riassumere nella significativa diminuzione di permeabilità intercellulare e cellulare, in quanto le cellule esprimono livelli molto bassi di trasportatori non specifici ²⁷.

Inoltre la barriera ematoencefalica appariva priva di un sistema di drenaggio linfatico, con relativamente poche cellule presentanti l'antigene che oltre a tutto avevano scarsa espressione di MHC sia di Classe I che di Classe II ²⁸. Per questo il sistema nervoso centrale è stato sempre considerato ermeticamente sigillato, senza alcun legame con il sistema immunitario periferico. E questo dogma – l'immunoprivilegio – ha retto ogni nostra conoscenza fino a pochissimi anni fa. È nel 2015 infatti che Jonathan Kipnis e Antoine Laveau, con sofisticate tecniche di *neuroimaging*, dimostrano in via definitiva che il sistema nervoso centrale è anatomicamente collegato al sistema immunitario periferico, identificando i vasi linfatici drenanti il liquido cerebrospinale ²⁹. La presenza di vasi linfatici classici a livello meningeo conferma quindi l'esistenza di una sorveglianza immunitaria del sistema nervoso centrale ^{29,30}.

Queste osservazioni non solo vengono confermate, ma viene dimostrato anche che questa fino ad allora ignota rete linfatica è collegata ai linfonodi cervicali profondi ³¹, quindi decisamente inserita nella rete linfatica sistemica e non confinata localmente. A partire da queste osservazioni, gli studi si sono moltiplicati e si è accumulata una mole considerevole di dati in letteratura che hanno confermato come non solo le cellule del sistema immune, ma anche moltissime interleuchine e citochine attraversino la BEE come la IL-1, IL-6, IL-15, TNF, CCL2, CCL11, CXCL-13, CCL-19, fattore di crescita epidermica e altri fattori di crescita ^{28,32}.

Pertanto sistema immune e sistema nervoso centrale comunicano regolarmente con fattori solubili e cellule immunologicamente attive che possono entrare nel sistema nervoso centrale attraverso il plesso coroidale, risiedere negli spazi perivascolari o spostarsi²⁸. Il privilegio immunitario del SN non è quindi assoluto e la BEE avrebbe il compito non di impedire ma semmai di modulare il passaggio di elementi immunitari (umorali o cellulari) lungo l'asse neuro immune e con ciò l'impatto degli eventi immunitari periferici sul SNC¹⁸. Va sottolineato che gli studi sono recentissimi, per la maggior parte in progress e che di questo speciale sito di controllo immune sono ancora in gran parte oscuri i meccanismi regolatori.

Tuttavia già solo la considerazione del SN come "organo immunologicamente attivo" anziché immunoprivilegiato, stravolgendo i vecchi dogmi, permette di vedere e interpretare in modo molto più preciso le connessioni tra patologie immuni e complicanze neurologiche e di comprendere meglio la patogenesi – e quindi anche le prospettive terapeutiche – delle patologie neurodegenerative. Merita ricordare infatti che moltissime malattie neurologiche – ad esempio la malattia di Alzheimer, molte epilessie, il morbo di Parkinson, ma le stesse infezioni del SNC – **vedono le attuali e le future – in fase di studio** – strategie terapeutiche basate soprattutto su agenti antinfiammatori, immunoglobuline intravenose, anticorpi monoclonali e vaccinazioni².

Box riassuntivo

L'immunoprivilegio del SN è relativo e non assoluto.

La BEE modula l'impatto degli eventi immunitari periferici su SNC.

Esiste un sistema di drenaggio linfatico classico a livello meningeo che collega anatomicamente SI e SNC.

Il SN andrebbe considerato immunologicamente attivo, come "special immune-controlled site".

2. In che modo il sistema immunitario influenza il neurosviluppo?

2.1. Lo sviluppo del Sistema Nervoso Centrale e le Interazioni con il Sistema Immunitario

È ben noto che la maturazione e lo sviluppo del sistema nervoso sono regolati anche dagli stimoli dell'ambiente in cui il bambino cresce e molti di questi sono mediati proprio dal sistema immunitario³³.

Tuttavia gran parte degli studi in merito sono in corso e le informazioni sono ancora frammentarie e basate su studi in modelli animali o, per l'uomo, su autopsie. Per praticità si riportano solo alcuni spunti che fotografano una estrema complessità di relazioni, ancora in gran parte da spiegare

Linfociti T

Nel topo e nell'uomo i T linfociti sono stati localizzati negli spa-

zi meningei e nel plesso coroidale. Gli studi sul loro ruolo nello sviluppo neurologico embrionale e neonatale sono scarsi e limitati ai modelli murini, ma i risultati di questi esperimenti dimostrerebbero che i T linfociti sono inaspettatamente implicati nell'apprendimento spaziale, nella memoria, nel comportamento emotivo e nella risposta allo stress. Studiando i topi con immunodeficienza combinata grave, è stato osservato che i topi RAG-knockout oltre alla linfopenia presentavano una sorta di perdita di memoria sociale, in quanto risultavano incapaci di riconoscere i propri simili, con pesanti ripercussioni sul comportamento e scarsa risposta allo stress. Straordinario è il fatto che reintegrando il patrimonio immunologico con T linfociti di topi immunocompetenti, veniva riattivata la memoria sociale e lo stesso risultato si otteneva iniettando intracranialmente IFN gamma³⁴. Analogamente, topi con immunodeficienza da difetto di espressione degli antigeni HLA di classe II – che pertanto non riescono a produrre linfociti CD4 positivi, quindi T helper – dimostravano di non avere memoria spaziale e capacità di apprendimento quando sottoposti al test di Morris-Water-Maze (MWM), un test comportamentale usato per valutare l'apprendimento e la memoria spaziale³⁵.

Si è speculato che i linfociti T helper CD4 + vengano selezionati per popolare gli spazi meningei e, una volta reclutati, stimolino – attraverso la produzione di IL-4 – macrofagi e microglia ad assumere il fenotipo M2 (antinfiammatorio) e nel contempo gli astrociti a produrre fattore neurotrofico cerebrale, favorendo lo sviluppo dell'apprendimento spaziale e della memoria^{33,36}.

Linfociti B:

le cellule B abbondano nel SNC neonatale e diminuiscono in numero con l'avanzare dell'età. Si ipotizza che vengano reclutate nello spazio meningeo e nel ventricolo laterale in risposta al CXCL13 secreto dal plesso coroidale; in gran parte presentano fenotipo B-1a³⁶. Le cellule B-1a secernono anticorpi naturali IgM che promuovono la proliferazione e la maturazione delle cellule progenitrici della oligodendroglia (OPCs: *Oligodendrocyte Progenitor Cells*) che esprimono il recettore per l'Fc delle IgM (Fc α / μ R), contribuendo così al mantenimento dell'omeostasi tissutale³³.

Quando infatti si depletano le cellule B-1a in modelli murini, si osserva la riduzione consensuale del numero di oligodendrociti con conseguente riduzione degli assoni mielinizzati nel SNC neonatale e del numero di macrofagi della microglia nella zona sub ventricolare³⁶.

MHC di classe I

L'espressione delle molecole di istocompatibilità di classe I (MHCI), fondamentali per la presentazione/riconoscimento dell'antigene, è stata evidenziata già nei primi giorni di vita sui neuroni a livello assonale, dendritico e sinaptico e nelle cellule gliali. Queste molecole sembrano essere coinvolte nella plasticità del sistema visivo, nella regolazione della plasticità sinaptica e dell'apprendimento motorio a livello cerebellare, ma ne sono ancora ignoti i meccanismi. Se svolgano funzioni prettamente immunologiche, ovvero se realmente presentino l'antigene ed eventualmente quali antigeni, rimane tutt'ora oscuro³³.

Il complemento

I fattori del complemento vengono prodotti dai neuroni e dalle cellule gliali, in particolare da microglia e astrociti, fin dalla nascita e contestualmente sono espressi nella microglia residente i recettori per il CR3 e CR5 del complemento (CD11b/CD18, Mac-1 e integrina $\alpha M\beta 2$). Le proteine del complemento sono coinvolte nel raffinamento sinaptico delle proiezioni delle cellule gangliari retiniche (RGC), nella neurogenesi, nella migrazione e nella sopravvivenza neuronale durante lo sviluppo e l'età adulta. Tuttavia poco/nulla si sa sui meccanismi, sui segnali che attivano/controllano la cascata enzimatica e sulle molecole critiche che potrebbero costituire bersagli farmacologici nei deficit dello sviluppo neurale e nelle patologie neurodegenerative^{36,37}.

Microglia

La microglia, ovvero le cellule dell'immunità innata residenti del SNC, contribuisce virtualmente a tutte le fasi dello sviluppo cerebrale, dalla angiogenesi alla proliferazione, migrazione e morte cellulare programmata di neuroni e cellule gliali; dalla formazione e mielinizzazione di sinapsi alla creazione di nuovi circuiti neuronali³⁸. In particolare giocherebbe un ruolo fondamentale nel "pruning", un sistema di sfoltimento sinaptico che esita nella sopravvivenza delle sinapsi che vengono utilizzate con frequenza ed efficienza. In pratica i fagociti della microglia fagocitano le sinapsi inutilizzate o difettose.

In conclusione e in estrema sintesi, si può affermare che praticamente tutte le componenti del sistema immunitario, sia cellulari che solubili sono state dimostrate essere presenti nel SNC in via di sviluppo, comprese le cellule natural killer (NK)³⁹, tutte le citochine e chemochine e i TLRs³³ e che sono più o meno attivamente coinvolte nella funzione cerebrale. Nella misura in cui il SI influenza o modula direttamente i processi di sviluppo neurologico in un SN altamente plastico come quello del feto/neonato/bambino, è facilmente immaginabile come una disfunzione del SI possa costituire un potenziale innesco di condizioni patologiche cognitivo-comportamentali e neurologiche dell'età evolutiva e come queste si possano manifestare in modo clinicamente evidente anche in età adulta³³. Ovviamente l'estrinsecazione clinica potrà essere diversa in funzione del background genetico e dei fattori epigenetici individuali⁴⁰.

Box riassuntivo

Tutte le componenti del SI hanno ruoli specifici nello sviluppo del SN.

Le cellule B promuovono l'oligodendrogenesi, le cellule T modulano la plasticità neuronale dei neuroni inibitori, la microglia regola le sinapsi, la sopravvivenza neuronale e lo sviluppo neurovascolare cerebrale.

I linfociti T helper sono implicati nell'apprendimento e nella memoria spaziale.

Alterazioni funzionali o numeriche del SI potrebbero influenzare il neuro sviluppo ed essere il potenziale innesco di alterazioni comportamentali e neurologiche dell'età evolutiva.

Un sistema immunitario competente e ben regolato è necessario per una corretta funzione cerebrale.

3. È possibile sistematizzare le complicanze neurologiche delle immunodeficienze?

Come si è visto, la complessità e le ancora limitate conoscenze sulla interconnessione dei due sistemi, immune e nervoso, rendono estremamente difficile legare con un rapporto di causa-effetto le complicanze o le comorbidità neurologiche e psichiatriche ai singoli quadri di immunodeficienza primitiva (IDP). Tuttavia conoscerle e/o prevederle può aiutare il Pediatra nella gestione di questi pazienti complessi o può allertarlo al sospetto diagnostico di immunodeficienza a fronte di manifestazioni neurologiche anche modeste. Per questo si è pensato di sistematizzare, per quanto possibile, i sintomi o le malattie neuro-psichiatriche più frequentemente riscontrate in alcune IDP.

Le immunodeficienze primitive (IDP) costituiscono un eterogeneo gruppo di malattie, caratterizzate da deficit quantitativi e/o qualitativi del sistema immunitario¹. Il numero di IDP riconosciuto è aumentato considerevolmente nel corso degli ultimi 30 anni, parallelamente all'aumento delle nostre conoscenze sulle molteplici funzioni del sistema immune e sui sofisticati meccanismi di regolazione. Grazie allo studio molecolare dei fenotipi clinici già noti e alla caratterizzazione di nuovi, ad oggi conosciamo le basi molecolari di oltre 350 IDP⁴¹. I difetti genetici individuati comportano alterazioni dello sviluppo o della funzione del sistema immunitario o ancora della regolazione della risposta/infiammazione, ma i tentativi di darne una classificazione basata sul genotipo o sul fenotipo sono falliti in quanto la stessa mutazione genica può dare quadri clinici differenti e difetti genetici diversi possono dare lo stesso quadro clinico¹. Ancora oggi dunque la miglior classificazione delle IDP è rimasta quella su base funzionale, con un'ulteriore sotto stratificazione sulla base dei fenotipi immunologici, genetici o clinici. Per adeguarla alle via via emerse nuove acquisizioni sulla patogenesi della malattia e sulle componenti molecolari e cellulari coinvolte viene continuamente aggiornata e rivista, in genere ogni due anni^(42 p. 41).

Tuttavia la sua complessità può essere disorientante e rendere difficoltosa la ricerca di correlati clinici, soprattutto per il medico non immunologo, dando almeno in parte ragione della difficoltà di diagnosticare – e quindi del ritardo di diagnosi – che caratterizza molte IDP. A questo va aggiunto che nonostante i progressi delle tecniche diagnostiche e della conoscenza delle basi genetiche, sono ancora relativamente poche le PID identificabili alla nascita mediante screening neonatale.

Per superare le difficoltà di consultazione, potrebbe essere di grande utilità disporre di classificazioni sistematiche basate sulle manifestazioni cliniche o d'organo/apparato delle IDP che potrebbero guidare il pediatra non immunologo e portarlo, attraverso il sintomo, alla diagnosi o al sospetto diagnostico precoce. Questo sarebbe un vantaggio non irrilevante in quanto le IDP pur essendo singolarmente malattie rare, globalmente sono relativamente frequenti. I registri nazionali e il Jeffrey Modell Network stimano che nel mondo siano all'incirca sei milioni i pazienti affetti da IDP e in particolare in Europa la stima si attesta intorno ai 638.000 casi, con una prevalenza di 1/1.200 persone^{43,44}.

Nell'ambito delle PID, il coinvolgimento del sistema nervoso centrale – e periferico – è relativamente frequente e responsabile di sintomi quanto mai eterogenei, ad esordio precoce o tardivo, più o meno sfumati, ma tutti con pesanti interferenze su decorso e prognosi della malattia e con significativo impatto su qualità e prospettiva di vita dei pazienti⁴⁵⁻⁴⁷.

È stata perciò elaborata la Tabella II, che seppur grossolanamente, dovrebbe orientare il pediatra dal sintomo neurologico-psichiatrico-comportamentale alla/e immunodeficienza/e. Per facilitare il compito di consultazione e reperire informazioni dettagliate sulla caratterizzazione clinica e immunologica della PID, si è fatto riferimento alla attuale classificazione IUIS (*International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity*⁴²: che pur nella sua complessità ha il pregio di raggruppare le PID a seconda del difetto funzionale e secondariamente genetico, che ne sta alla base. Il numero tra parentesi in Tabella fa riferimento al raggruppamento classificativo che di seguito si ricorda:

- I. Immunodeficienze dell'immunità cellulare e umorale
- II. Immunodeficienze associate a sindromi
- III. Immunodeficienze principalmente anticorpali
- IV. Malattie da immunodisregolazione
- V. Difetti congeniti della fagocitosi: numerici, funzionali o entrambi
- VI. Difetti dell'immunità innata
- VII. Difetti autoinfiammatori
- VIII. Deficit di complemento
- IX. Fenocopie di immunodeficienze

Immunodeficienze dell'immunità cellulare e umorale

Le immunodeficienze combinate sono caratterizzate da difetti sia dell'immunità umorale che cellulare e vengono sottoclassificate per gravità in SCID (*Severe Combined Immuno Deficiency*, le più gravi) e CID (*Combined Immuno Deficiency*, meno gravi). Nelle SCID i gravi difetti quantitativi e/o funzionali dei linfociti T e B, con o senza difetto delle cellule NK, si manifestano con linfopenia che quindi rappresenta il miglior indicatore di sospetto di SCID. La linfopenia (in genere marcata) si associa alla assenza di risposta proliferativa a mitogeni in vitro e ad elevato rischio di infezioni da virus, batteri, funghi e germi opportunisti. L'esordio è molto precoce, nei primi giorni/mesi di vita con diarrea cronica, deficit di accrescimento, candidiasi muco cutanea e infezioni delle basse vie respiratorie. Le infezioni possono assumere caratteristiche granulomatose soprattutto a livello della cute e del polmone. Clinicamente sono evidenti distrofia, linfoadenopatia diffusa ed epatosplenomegalia. Il quadro clinico può rapidamente complicarsi con manifestazioni autoimmuni (soprattutto citopenia autoimmune) o degenerare in forme linfoproliferative. In alcune forme con specifico difetto genetico, sono evidenziabili displasia ectodermica, miopia congenita, verruche e/o grave allergia. La prognosi è invariabilmente infausta se non si interviene con trapianto di cellule staminali o con terapia genica. Difetti genetici che riducono, ma non abrogano, la differenziazione linfocitaria sono invece responsabili di CID caratterizzate da alterazioni meno gravi di numero e/o funzione dei linfociti circolanti

e da quadri clinici più tardivi e sfumati. Spesso questi difetti si ritrovano nel contesto di forme sindromiche più complesse¹. Per l'esito rapidamente infausto delle SCID, le complicanze neurologiche vengono descritte principalmente nelle forme a insorgenza tardiva o nelle forme combinate meno gravi. Di seguito vengono descritte due forme la cui componente neurologica complessa è più frequente.

Deficit di ADA: Il deficit di adenosinadeaminasi è un raro disordine autosomico recessivo del metabolismo delle purine responsabile del 10-15% delle SCID⁴⁸ e caratterizzato da linfopenia, scarso accrescimento, infezioni opportunistiche, potenzialmente fatali. La carenza dell'enzima ADA causa l'accumulo sia extracellulare che intracellulare di metaboliti tossici dell'adenosina (deossadenosina e deossadenosina trifosfato) che non viene catabolizzata a adenina con compromissione della funzionalità e morte cellulare⁴⁹. Si assiste perciò a una progressiva perdita di linfociti T, B e di cellule NK, con precoce (già nelle prime settimane di vita nei difetti totali) o tardiva (nei primi anni di vita nei difetti parziali responsabili delle forme late-onset) compromissione della immunità cellulare e umorale. L'accumulo dei metaboliti interessa tutti i tipi cellulari, dando conto delle alterazioni anche non immunologiche che caratterizzano il quadro clinico dei pazienti con ADA-SCID, dalle alterazioni scheletriche alle alterazioni della funzionalità polmonare, epatica e renale^{48,49}. Con il successo delle terapie attuali (sostitutiva con PEG-ADA, trapianto e terapia genica) e l'aumento della sopravvivenza di questi pazienti, i problemi neurologici sono emersi come tratto quasi dominante della malattia perché le manifestazioni sono raramente presenti all'esordio della malattia e compaiono tardivamente, anche dopo anni e anche nei soggetti trattati con successo con terapia genica o trapianto. Sono descritte soprattutto anomalie cognitive, comportamentali e neurologiche, in particolare ritardo mentale, iperattività, deficit di attenzione, comportamento aggressivo e problemi sociali, tanto più gravi quanto peggiore è la capacità mentale, oltre che alterazioni degenerative^{50,51}. In uno studio retrospettivo⁵⁰ su 21 pazienti ADA-SCID – in trattamento o meno con PEG-ADA – la risonanza magnetica cerebrale ha evidenziato leucoencefalopatia, dilatazione dei ventricoli e degli spazi subaracnoidali in tutti i gruppi di pazienti indipendentemente dal trattamento (Tab. II). Inizialmente la causa di queste lesioni/manifestazioni venne attribuita al regime terapeutico, all'isolamento da trapianto e alle limitazioni ambientali dettate dalla immunodeficienza^{52,53}, ma in seguito Rogers et al. valutarono le capacità cognitive dei bambini con SCID, comparandole tra gruppi di malattia e osservarono che tutti i pazienti con SCID raggiungevano punteggi di QI inferiori alla media – e questo poteva essere compatibile con le cause ambientali –, ma quelli con ADA-SCID ottenevano i risultati significativamente peggiori suggerendo l'effetto additivo di altre cause⁵⁴. Attualmente l'etiologia è ancora controversa: alcuni ipotizzano una tossicità diretta da accumulo di ADA che nel SNC ha azione neuromodulatoria, influenzando la trasmissione sinaptica e integrando diversi pathways di segnalazione⁵⁴. Altri ricercatori sostengono invece che le manifestazioni neurologiche siano effetto di accumulo dei metaboliti tossici, come sembrerebbe accreditato dalla dimostrazione di una signifi-

TABELLA II. Principali manifestazioni neurologiche delle IDP (adattata e integrata da Picard et al., 2018⁴¹, Bou-sfiha et al., 2018⁴²).

Manifestazioni neurologiche	Principali immunodeficienze primitive
Atassia	Atassia-telangectasia (II) Atassia-telangectasia-like disorder (II) Aciduria mevalonica (II) Discheratosi congenita X-linked (II) Disordine congenito della glicosilazione (III) Linfocitopenia emofagocitica familiare (IV) PNP-SCID* (I) ICF (II) Sindrome Iper-IgE (II) Sindrome da Iper-IgD (VII) Sindrome di Griscelli tipo 2 (IV) Sindrome di Hermansky-Pudlak tipo 2 (IV) Sindrome di Roifman (II) Sindrome di Chediak-Higashi (IV) XLP-1 (IV)
Disturbi psichiatrici e del comportamento Deficit di attenzione/ iperattività, fobie, ansia, isolamento sociale, disordini dello spettro autistico, disordine bipolare, schizophrenia	CVID (III) Sindrome di DiGeorge (II) Neutropenia congenita grave (V) ADA- SCID (I) LAD-2 (V) Displasia immuno-ossea di Schimke (II) PNP-SCID (I) Sindrome di Nijmegen (II) Sindrome di Shwachman-Diamond (V)
Epilessia	CVID (III) Aciduria mevalonica (II) ADA- SCID (I) LAD-2 (V) Discheratosi congenita X-linked (II) Disordini congenito della glicosilazione (III) Displasia immuno-ossea di Schimke (II) FHL (IV) Neutropenia congenita severa (V) Purnina nucleoside fosforilasi (PNPasi) SCID (I) Sindrome CINCA (VII) Sindrome da instabilità centromerica, immunodeficienza e dismorfismi (ICF) (II) Sindromi da Iper-IgE (II) Sindrome da iperimmunoglobulinemia D (VII) Sindrome di Chediak-Higashi (IV) Sindrome di DiGeorge (II) Sindrome di Griscelli tipo 2 (IV) Sindrome di Hermansky-Pudlak tipo 2 (IV) Sindrome di Roifman (II) Sindrome di Vici (II) Sindrome linfoproliferativa X-linked tipo 1 (IV)
Ipotonia	Aciduria mevalonica (II) CID da disfunzione del canale del Ca ²⁺ (CRAC) Disordine congenito della glicosilazione (III) Sindrome da instabilità centromerica, immunodeficienza e dismorfismi (ICF) (II) Sindrome di Griscelli syndrome tipo 2 (IV) Sindrome di Vici (II)



Tabella II. (continua)

Manifestazioni neurologiche	Principali immunodeficienze primitive
Malformazioni del SNC (difetti del tubo neurale, difetti migrazione, riduzione volumetrica sostanza grigia/bianca, malformazioni del corpo calloso etc..)	Disordine congenito della glicosilazione (III) Sindrome da instabilità centromerica, immunodeficienza e dismorfismi (ICF) (II) Sindrome da rotture cromosomiche tipo Nijmegen (II) Sindrome di DiGeorge (II) Sindrome di Shwachman-Diamond (V) Sindrome di VICI (II)
Microcefalia	Aciduria mevalonica (II) Deficit di adesione leucocitaria tipo-II (LAD-2) (V) Deficit di Cernunnos (I) Deficit di DNA ligasi IV (I) Discheratosi congenita X-linked (II) Disordini congeniti della glicosilazione (III) Sindrome di Nijmegen (II) Sindrome di Aicardi-Goutieres tipo 1 (VII) Sindrome di Riddle (II) Sindrome di Vici (II)
Movimenti involontari (tremore, corea, distonia, etc)	Atassia-telangectasia (II) Atassia-telangectasia-like disorder (II) PNP- SCID (I) Sindrome di Aicardi-Goutieres tipo 1 (VII) Sindrome di Chediak-Higashi (IV) Sindrome di Hermansky-Pudlak tipo 2 (IV)
Neuropatia centrale /periferica	Atassia-telangectasia (II) Atassia-telangectasia-like disorder (II) Disordine congenito della glicosilazione (III) Displasia immuno-ossea di Schimke (II) FHL (IV) Sindrome CINCA (VII) Sindrome da iper-IgE (II) Sindrome di Hermansky-Pudlak tipo 2 (IV) Sindrome di Blau (VII) Sindrome di Chediak-Higashi (IV) Sindrome di Griscelli tipo 2 (IV) XLP tipo 1 (IV)
Ritardo dello sviluppo neurocognitivo	Aciduria mevalonica (II) ADA-SCID (I) LAD-2 (V) Deficit di Cernunnos (I) Deficit di DNA ligasi IV (I) Deficit di β -Actina (V) Discheratosi congenita X-linked (II) Disordini congeniti della glicosilazione (III) Displasia immuno-ossea di Schimke (II) CVID (III) Neutropenia congenita grave (V) Purnina nucleoside fosforilasi (PNPasi) SCID (I) Sindrome CINCA (VII) Sindrome da instabilità centromerica, immunodeficienza e dismorfismi (ICF) (II) Sindromi da Iper-IgE (II) Sindrome da iper IgD (VII) Sindrome da rotture cromosomiche tipo Nijmegen (II) Sindrome di Aicardi-Goutieres tipo 1 (VII)

Tabella II. (continua)

Manifestazioni neurologiche	Principali immunodeficienze primitive
Ritardo dello sviluppo neurocognitivo	Sindrome di Chediak-Higashi (IV) Sindrome di DiGeorge (II) Sindrome di Griscelli tipo 2 (IV) Sindrome di Hermansky-Pudlak tipo 2 (IV) Sindrome di Riddle (II) Sindrome di Roifman (II) Sindrome di Shwachman-Diamond (V) Sindrome di Vici (II)
Ritardo nello sviluppo del linguaggio	Deficit di ADA (I) Disordine congenito della glicosilazione (III) Neutropenia congenita severa (V) Purina nucleoside fosforilasi (PNPasi) SCID (I) Sindrome da instabilità centromerica, immunodeficienza e dismorfismi (ICF) (II) Sindromi da Iper-IgE (II) Sindrome di DiGeorge (II) Sindrome di Roifman (II)
Sordità neurosensoriale	Deficit di ADA (I) Deficit di TNFRSF11A (VI) Deficit di CLCN7 (VI) Deficit di OSTM1 (VI) Disordine congenito della glicosilazione (III) Neutropenia congenita severa (V) Purina nucleoside fosforilasi (PNPasi) SCID (I) Sindrome CINCA (VII) Sindrome da Iper-IgE (II) Sindrome di Blau (VII)
Stroke	Deficit di DOCK8 (I) Disordini congeniti della glicosilazione (III) Displasia immune-ossea di Schimke (II) Sindrome CINCA (VII) Sindrome di Blau (VII) Sindrome da Iper-IgE (II)

ADA-SCID: immunodeficienza combinata grave da deficit di adenosin deaminasi; CVID: immunodeficienza comune variabile; FHL: linfocitocitosi emofagocitica familiare; ICF: *Immunodeficiency, Centromeric instability and Facial dysmorphism*; LAD2: Deficit di proteine di adesione tipo 2; PNP-SCID: immunodeficienza combinata grave da deficit di purina nucleoside fosforilasi; XLP-1: Sindrome linfoproliferativa X-linked di tipo 1

cativa correlazione inversa tra i livelli di dATP alla diagnosi e il QI totale⁵⁵; tanto più alti (e tossici) i metaboliti nelle prime età della vita (alla diagnosi) tanto peggiore il danno cerebrale. Inoltre con crescente frequenza vengono segnalati danni neurosensoriali e sordità. I report di due coorti di pazienti seguiti in due grandi centri trapiantologici, a Londra e a Ulm, danno risultati pressochè sovrapponibili. In un periodo di follow up medio di 12 anni, i bambini ADA-SCID trapiantati con successo, presentavano la comparsa nel tempo di sordità neurosensoriale, ritardo mentale e disturbi motori nel 50-58% dei casi⁵⁶ (p. 55) per cui sembrerebbe che neppure la correzione immunologica sia in grado di bloccare l'evoluzione neurologica della malattia. Ma l'inefficacia potrebbe essere dovuta al ritardo nell'inizio della terapia sostitutiva o molecolare, come sembrerebbe emergere da studi di modelli ani-

mali. Xu et al. hanno recentemente segnalato che la terapia sostitutiva può migliorare significativamente la sordità. Topini ADA-SCID con sordità, dopo terapia con PEG-ADA mostravano un recupero non solo immunologico, ma anche neurosensoriale, a patto che fosse iniziata nei primissimi giorni di vita. La stessa terapia instaurata più tardivamente non sortiva alcun effetto⁵⁷. Se è vero che elevati livelli di dATP possono essere neurotossici sia nell'embrione che nel feto e nel neonato – e quindi le possibili lesioni non si possono prevenire adeguatamente – si può in ogni caso sperare che riducendo il ritardo di diagnosi – che grava soprattutto sulle forme late onset – e instaurando una precoce terapia sostitutiva questi danni possano essere limitati e addirittura evitati. Anche alla luce di questi dati i diviene straordinariamente rilevante la diagnosi precoce, meglio ancora lo screening neonatale.

Deficit di Dock8: delezioni o mutazioni puntiformi di DOCK8 sottendono una delle forme di sindrome da iper IgE autosomica recessiva (AR-HIES) caratterizzata dal difetto combinato dell'immunità umorale e cellulare. Il gene DOCK8 (*Dedicator of Cytokines 8*) codifica per una proteina che svolge un ruolo fondamentale nella regolazione del citoscheletro e controlla perciò la corretta migrazione delle cellule dendritiche e dei fagociti, con diminuzione dei T linfociti e scarsa produzione di IFN gamma. Caratteristico è l'aumento dei livelli sierici di IgE^{58,59}.

Il quadro clinico è condizionato dalla abnorme suscettibilità alle infezioni virali e allo sviluppo di tumori: più della metà dei pazienti presenta infezioni ricorrenti e gravi da Herpes virus compresi HSV, VZV, CMV e EBV; più di un terzo presenta infezioni gravi e ricorrenti da Mollusco contagioso e da HPV⁵⁸⁻⁶¹. Le infezioni sono localizzate soprattutto a livello delle vie aeree (polmoniti e sinusiti) e a livello della cute, spesso nel contesto di un quadro di grave dermatite atopica complicata da colonizzazione da *Staphylococcus aureus* e allergia a trofoallergeni ed inalanti⁶⁰.

Patologie psichiatriche e disturbi del comportamento sono segnalati con una certa frequenza: disabilità intellettive, ritardo nello sviluppo neuro cognitivo, disturbi dello spettro autistico, comportamento aggressivo, spesso associati a dimorfismo facciale. La frequenza di queste complicanze non è nota: un recente studio retrospettivo su una corte di 82 pazienti affetti da deficit di DOCK8 di età 6 mesi-45 anni, riporta che di questi, 20 presentavano coinvolgimento del SNC (vasculiti, meningiti, encefaliti virali e encefalopatie, ascessi cerebrali, stroke, emiparesi e diplegia, linfomi)⁶¹. Queste manifestazioni sono forse imputabili al fatto che il gene viene espresso anche a livello del SNC, principalmente nel nucleo caudato, dove appare regolare la formazione di sinapsi e la trasduzione del segnale, risultando fondamentale per il corretto funzionamento cognitivo⁶². Peraltro microdelezioni e riarrangiamenti a carico del gene DOCK8, sono state riportate anche in pazienti con sintomi esclusivamente psichiatrici⁶²⁻⁶⁴.

Immunodeficienze umorali

Le immunodeficienze umorali sono le più frequenti immunodeficienze primitive. Nell'ambito dell'ampio spettro di difetti umorali, le forme più impegnative ovvero la XLA e la CVID sottendono la abnorme suscettibilità alle infezioni batteriche che tendono a ricorrere soprattutto a carico delle vie aeree e del tratto gastrointestinale. I pazienti in genere non presentano infezioni gravi fino al secondo semestre di vita, quando le IgG acquisite per via transplacentare dalla madre vengono perse e i livelli di immunoglobuline sieriche scendono sotto livelli protettivi. Tuttavia, nelle forme ad esordio più tardivo, i quadri immunologici possono essere eterogenei ed accompagnarsi ad autoimmunità. La maggior parte dei pazienti con carenza anticorpale può condurre una vita normale se protetta con terapia sostitutiva con Immunoglobuline e pronta aggressione antibiotica degli episodi infettivi, soprattutto a carico delle vie respiratorie. Ritardi nella diagnosi e inadeguata gestione possono causare lesioni polmonari permanenti, come bronchiectasie e fibrosi polmonare. Molte manifestazioni neurologi-

che delle IDP umorali hanno patogenesi infettiva, autoimmune e autoinfiammatoria, tuttavia nella maggior parte dei casi il nesso immunodeficienza umorale-coinvolgimento neurologico non è stato chiarito¹. Qui di seguito la descrizione delle due forme di più frequente osservazione.

Agammaglobulinemia X-recessiva o XLA

L'agammaglobulinemia legata all'X o XLA è sostenuta da mutazioni del gene Btk che codifica per una proteina citoplasmatica che guida la maturazione delle cellule B⁶⁵. La mutazione causa l'arresto della differenziazione nella fase pre-B a livello midollare, per cui vengono a mancare linfociti B maturi e le immunoglobuline sieriche di tutti gli isotipi immunoglobulinici⁶⁶. Numero e funzione dei T linfociti sono conservati. Dal momento che non si formano – o sono ipoplasici – i centri germinativi nel tessuto linfatico, linfonodi e tonsille sono fortemente ipoplasici e questo segno clinico è molto indicativo e va valorizzato in diagnosi differenziale con le altre ipogammaglobulinemie⁶⁶. Il quadro clinico è dominato dalla abnorme suscettibilità alle infezioni, soprattutto da batteri capsulati (come *Streptococcus p.*, *Staphylococcus a.* e *Haemophilus i.*) oltre ad una ancor non ben spiegata suscettibilità agli enterovirus (ad es. Poliovirus, coxsackievirus, echovirus). L'esordio è in genere dopo i 6 mesi-anno di età e il registro italiano (IPInet) segnala una età media alla diagnosi di 2,5 anni⁶⁷⁻⁷⁰.

I sintomi neurologici che classicamente caratterizzano la XLA erano legati soprattutto alle encefaliti da Echovirus, con infiammazione cronica, progressiva atrofia cerebrale, perdita delle funzioni cognitive e cambiamenti comportamentali che portavano infine ad un esito fatale. Fortunatamente, il rischio è attualmente minimo e da quando sono state introdotte le IVIG che garantiscono una copertura ottimale, non sono più stati segnalati nuovi casi.

Altri sintomi neurologici o neurodegenerativi sono eccezionali e questo è davvero inatteso, dal momento che il gene BTK è ubiquitario e che la sua espressione a livello del sistema nervoso sembra importante per la differenziazione embriogenetica e per il normale sviluppo neuronale⁷¹.

Immunodeficienza comune variabile (CVID): L'immunodeficienza comune variabile (CVID) è relativamente frequente (1:25000) e caratterizzata da livelli sierici ridotti di immunoglobuline (soprattutto IgG, < 2SD rispetto ai valori normali per età) con numero normale o ridotto di linfociti B e difettiva risposta anticorpale⁷². Nella maggior parte dei casi la CVID è sporadica, tuttavia il 10-20% di casi pediatrici presenta familiarità e l'80% dei casi ad esordio in età adulta presenta ereditarietà autosomica dominante, ma le basi molecolari sono eterogenee e a tutt'oggi in gran parte sconosciute¹.

Il quadro clinico è caratterizzato da infezioni recidivanti sino-polmonari, malattie granulomatose, aumento del rischio di tumori e malattie autoimmuni^{1,72}. La maggior parte dei soggetti affetti da CVID ha un'età compresa tra i 20 ei 30 anni, ma la condizione può esordire ad ogni età, con picco di incidenza nell'infanzia e nelle prime due decadi di vita e un ritardo medio di 4-6 anni tra la comparsa dei sintomi e la diagnosi¹.

Le complicanze neurologiche sono poco documentate e aneddotiche^{73,74}. Sono stati segnalati quadri estremamente

eterogenei e poco caratterizzanti: mielopatia, encefalopatia o encefalomielite, neuropatia periferica⁷⁵⁻⁷⁸, astrogliosi, lesioni cerebellari⁷³, epilessia, granulomatosi e polineurite demielinizzante⁷⁹⁻⁸¹. Il nesso causale è sfuggente e probabilmente giocano diversi fattori, dalla suscettibilità alle infezioni alla autoimmunità⁷⁸. In letteratura sono stati segnalati infatti casi di “mielite” su base infiammatoria con un’età media alla diagnosi di 31 anni, debolezza motoria, parestesie, perdita sensoriale e ritenzione urinaria associati a disturbi neuroendocrini su base autoimmune (carenza di GH, diabete insipido e deficit isolato di ACTH) o su base carenziale, in particolare di vitamina E e B12 a loro volta secondarie all’enteropatia associata alla CVID. I pazienti con carenza di vitamina E presentano tremori, parestesie e instabilità con ampie variazioni di segnale nella sostanza bianca dei lobi frontali e parietali alla RMN. Curiosamente in questi pazienti il miglioramento dei sintomi dopo integrazione vitaminica è stato solo parziale, con persistenza delle alterazioni alla RMN. La carenza di vitamina B12 è invece secondaria al malassorbimento da anticorpi anti-cellule parietali. Inoltre sono stati riportati in letteratura disturbi dello spettro autistico, anomalie comportamentali, ritardo neurocognitivo^{72,73}.

Le stesse IVIG sono state imputate di indurre la neuropatia, sulla base del fatto che tra gli effetti gli effetti collaterali delle IVIG siano segnalati anche sintomi neurologici: meningiti asettiche, cefalea e stroke. Sono stati perciò analizzati – in una analisi retrospettiva multicentrica – 12 pazienti con immunodeficienza ed encefalopatia progressiva di natura oscura, studiandone il possibile rapporto con le infusioni di IVIG. Pur non potendo escludere che nei preparati fossero presenti fattori in qualche modo causativi (virus sconosciuti?), gli autori concludevano che il ruolo delle IVIG poteva ragionevolmente essere escluso⁸².

Immunodeficienze da immunodisregolazione

Tutti i difetti genetici che coinvolgono molecole con attività regolatoria dei diversi checkpoint infiammatori possano portare a una attivazione incontrollata dell’infiammazione anche in assenza di infezioni. Questa disregolazione si traduce in quadri clinici variabili, a seconda della molecola/tipo cellulare coinvolto, ma la febbre ne rappresenta invariabilmente il minimo comun denominatore¹.

Linfoistocitosi emofagocitica (HLH): Linfoistocitosi emofagocitica familiare (FHL): prevale per frequenza tra le malattie da immunodisregolazione e comprende un gruppo di malattie potenzialmente letali geneticamente determinate (attualmente se ne conoscono 5 forme (FHL1-5) causate da una proliferazione incontrollata di istiociti e linfociti attivati che infiltrano numerosi organi e producono elevate quantità di citochine infiammatorie. La presentazione clinica iniziale della malattia è altamente variabile. Nella maggior parte dei pazienti è presente febbre alta che non risponde all’antibiototerapia, spesso ondulante, associata a pallore, vomito, calo ponderale, epatosplenomegalia pronunciata e progressiva, linfoadenopatia, ittero, edema, eruzioni cutanee non specifiche, pancitopenia, porpora e sanguinamento^{1,83,84}.

Il coinvolgimento del sistema nervoso è molto frequente e vie-

ne segnalato nel 30-73% dei casi; in un recente studio monocentrico retrospettivo su 179 bambini cinesi affetti da HLH, 19 presentavano la forma familiare e di questi poco meno della metà (9 bambini) aveva presentato sintomi neurologici (convulsioni, irritabilità, sonnolenza, ipomiotonia, paralisi e coma) e 2/3 (13 bambini) e aveva alterazioni morfologiche documentate (riduzione del volume cerebrale, calcificazioni, dilatazione dei ventricoli ed edema)⁸⁴.

I sintomi neurologici possono manifestarsi all’esordio anche in assenza delle altre manifestazioni cliniche ma più frequentemente compaiono in corso di progressione della malattia e comprendono disfagia, disartria, ipotonia o ipertonia, nistagmo, disturbi del visus, paralisi nervi cranici, meningismo, opistotono, convulsioni e coma. La risonanza magnetica cerebrale di alcuni pazienti mostra dilatazioni subdurali pericerebrali o diffuse, aree necrotiche cerebrali, ventricolomegalia, emorragia, coinvolgimento leptomenigeo e atrofia diffusa⁸⁵. L’infiltrazione del SNC da parte di linfociti e macrofagi inizia tipicamente nelle meningi, procede con una diffusa infiltrazione della sostanza bianca seguita – se la infiammazione non è controllata rapidamente e persiste nel tempo – da necrosi multifocale, astrogliosi reattiva e leucomalacia⁸⁶. Le manifestazioni neurologiche dipendono dalla sede ed estensione delle aree cerebrali coinvolte. È possibile che i reperti neuroradiologici precedono la comparsa dei sintomi. Pertanto, in considerazione del basso potenziale rigenerativo del tessuto nervoso, è importante richiedere il monitoraggio attento delle manifestazioni neurologiche in pazienti con FLH onde attuare tempestivamente un regime chemioterapico e immunosoppressivo appropriato così come è importante mantenere un alto livello di sospetto nei pazienti che presentano febbre, citopenia, splenomegalia di origine sconosciuta e insensibilità alla terapia convenzionale anche dopo la prima infanzia, in considerazione del fatto che il ritardo diagnostico di FHL3 può essere fatale o portare a sequele neurologiche irreversibili⁸⁶⁻⁸⁸.

Difetti congeniti della fagocitosi

I granulociti neutrofili rappresentano un’importante difesa di prima linea contro i microrganismi invasori, rapidamente attivi nei siti di infezione e responsabili della fagocitosi. I difetti possono essere quantitativi o qualitativi (da difetto metabolico o di espressione recettoriale). I disordini ereditari quantitativi sono rappresentati dalla neutropenia congenita (costante, intermittente o periodica) che viene sotto classificata in base alla conta assoluta dei neutrofili nel sangue periferico in lieve ($1,0-1,5 \times 10^9/l$), moderata ($0,5-1,0 \times 10^9/l$) o grave ($< 0,5 \times 10^9/l$). I pazienti con neutropenia congenita presentano infezioni ricorrenti sostenute da batteri e funghi: cellulite, polmonite, sepsi, aftosi orale, parodontite o perdita dei denti. Può evolvere talvolta in una sindrome mielodisplastica (MDS) o in leucemia mieloide acuta (LMA). I disordini ereditari qualitativi dei neutrofili consistono in difetti funzionali di motilità e adesione, di fagocitosi o del burst respiratorio. La gestione dei pazienti affetti dipende dal tipo e dalla gravità della immunodeficienza¹.

Neutropenia congenita grave (SNC): è causata da un arresto di maturazione della granulopoiesi nella fase promielociti-

ca che provoca una profonda neutropenia ($< 0,2 \cdot 10^9/L$) evidente già nelle prime settimane di vita ^{1,89}. Il quadro clinico è caratterizzato da gravi infezioni batteriche recidivanti ascessi, onfalite, polmonite, otite, diarrea – e da ulcere orali e stomatite aftosa, che nel tempo causano iperplasia gengivale e perdita dei denti ^{1,90}. Sono stati identificate mutazioni a carico di diversi geni responsabili di malattia, ma la maggior parte dei pazienti con SCN hanno mutazioni nel gene ELA2 o del gene HAX1; quest'ultimo in particolare sottende la forma autosomica recessiva, nota anche come Sindrome di Kostmann ^{1,91}. Nei pazienti lungo sopravvivenza i disturbi neurologici tendono a comparire intorno alla seconda decade di vita con epilessia, encefalopatia, neuropatia periferica ⁹². Deficit d'attenzione, comportamento aggressivo e ritardo dello sviluppo cognitivo e motorio possono rendersi via via manifesti già nella prima decade di vita e in alcuni casi possono portare a quadri particolarmente gravi di deficit mentale, soprattutto nei pazienti con mutazioni del gene HAX1 ^{89,90,91,93}. Questo gene codifica per una proteina che sembra influenzare la trasduzione del segnale, l'organizzazione del citoscheletro e la regolazione della apoptosi. In particolare HAX-1 proteggerebbe dall'apoptosi le cellule mieloidi e tenendo conto che la microglia è di origine mieloide, è possibile speculare che l'arresto maturativo riguardi anche queste cellule causando alterazione dello sviluppo del SNC e dei processi di apoptosi neuronale. Inoltre HAX-1 è ampiamente espresso in tutto il tessuto nervoso e la sua perdita funzionale può contribuire alla neuro-degenerazione con diversi meccanismi, in gran parte ancora da chiarire ⁹¹.

Malattia granulomatosa cronica (CGD): rappresenta il più comune deficit ereditario della fagocitosi ed è caratterizzata da difetti della NADPH-ossidasi, il complesso enzimatico responsabile del burst respiratorio che porta alla generazione di anione superossido e altri radicali dell'ossigeno che contribuiscono al killing intracellulare di batteri e funghi ¹. Responsabile del difetto è la mutazione del gene CYBB, che sottende le forme di CGD legate alla X; mutazioni di altri geni codificanti per il NADH sono responsabili delle rare forme autosomico-recessive ⁹⁴. Il quadro clinico è dominato da infezioni profonde (ascessi, osteomieliti) e polmoniti sostenute da germi catalasi positivi (*Stafilococco a.*, *Pseudomonas*, *Klebsiella p.*, *Salmonella*, *Serratia m.*) e da funghi. Inoltre possono associarsi malattie infiammatorie intestinali e formazione di granulomi ¹.

I pazienti con CGD possono sviluppare numerose complicanze neurologiche, in genere secondarie a infezioni: sono stati descritti ascessi cerebrali, anche con aspetto simil tumorale, panencefaliti fungine, granulomi e meningiti da *Streptococco* e *Candida*. Più raramente sono state segnalate altre complicanze, come degenerazione della sostanza bianca, granulomatosi delle leptomeningi e infiltrazione cerebrale focale di macrofagi pigmentati e carichi di lipidi, ma non è chiaro se siano riconducibili alla malattia di base o se siano reperti occasionali ⁹⁴.

Malattie autoinfiammatorie

I disturbi autoinfiammatori sono caratterizzati da infiammazione generalizzata ricorrente o continua, in cui non sono dimostrabili cause infettive o autoimmunitarie. Sono dovute a muta-

zioni mendeliane monogeniche o poligeniche che interessano l'inflammosoma e in genere le proteine della cascata infiammatoria. L'infiammazione si innesca così con grande facilità e con altrettanta difficoltà si spegne, coinvolgendo di fatto molti protagonisti dell'immunità innata e innescando una vera e propria tempesta citochinica e danni da infiammazione cronica. L'età di esordio varia a seconda della forma – riguarda anche l'età adulta nel 10% dei casi – e anche lo spettro clinico è piuttosto eterogeneo in quanto ogni organo è potenzialmente coinvolto dall'infiammazione ¹.

Nel corso degli episodi acuti, sono marcatamente elevati gli indici infiammatori e il numero dei GB; i sintomi più caratteristici sono la febbre persistente/ricorrente associata a malessere, rash cutanei, artrite/artralgia, dolore addominale e manifestazioni neurologiche ¹. I sintomi neurologici possono essere presenti come sintomi di accompagnamento, in conseguenza allo stato infiammatorio sistemico: la diffusa infiltrazione di macrofagi attivati delle strutture meninge, perivascolari e dei plessi coroidei causa ipertensione intracranica con conseguente idrocefalo, nausea, cefalea, vomito e convulsioni. Ma possono anche rappresentare sintomi d'esordio caratterizzanti che variano in base alle sedi neurologiche coinvolte e alle forme di malattia ⁹⁵.

Le malattie autoinfiammatorie vengono classicamente distinte in sottogruppi: febbri periodiche (FMF, HIDS, TRAPS), criopirinopatie (CINCA, MWS, FCAS), malattie granulomatosi (S. di Blau) e disordini piogenici (PAPA, DIRA, S. di Majeed). Tra le **febbri periodiche** merita una nota la Mevalonico aciduria, la forma più grave di Iper-IgD in cui l'attività enzimatica della Mevalonato chinasi non è solo ridotta, ma completamente assente. Il quadro clinico assume connotazioni prettamente neurologiche con ritardo mentale, ipotonia, atassia associate a miopatia, ipostaturalità e – ovviamente – febbre. Tra le **criopirinopatie**, CINCA e MWS sono anch'esse caratterizzate da quadri di sofferenza neurologica sin dall'esordio. Più grave nella CINCA, in cui dominano sordità neurosensoriale e progressiva atrofia cerebrale con ritardo mentale ad esordio neonatale, meno importante nella MWS in cui la sordità neurosensoriale può manifestarsi più tardivamente ¹.

In conclusione si può affermare che non solo i sintomi neurologici sono molto frequenti nelle forme autoinfiammatorie, ma anche che se compaiono in fase acuta febbrile costituiscono un importante campanello di allarme e necessitano di un intervento pronto e aggressivo con immunosoppressori ⁹⁵. Inoltre va sottolineato che la febbre ricorrente associata a sintomi specifici (in particolare la sordità) deve indurre il sospetto diagnostico ed essere rapidamente inquadrata, anche in considerazione delle attuali e promettenti prospettive terapeutiche con biologici.

Immunodeficienze associate a sindromi

Proprio perché la condizione di immunodeficienza è associata a altri sintomi, nell'ambito di questo raggruppamento le manifestazioni neurologiche sono particolarmente frequenti, ma meritano di essere ricordate in dettaglio soprattutto la Atassia Teleangectasia e la Sindrome da Delezione 22q11, in cui l'aspetto neurologico è particolarmente rilevante.

Atassia teleangeectasia: è la più “neurologica” delle immunodeficienze e probabilmente al già grave danno neurologico di base contribuisce in qualche misura anche la profonda e ingravescente condizione di immunodeficienza. È causata da mutazioni nel gene ATM che codifica per la chinasi ATM, principale regolatore della risposta alla rottura a doppio filamento di DNA (double stand break, DSB). Il gene è espresso ubiquitariamente ma i sintomi sono riferibili a difetti di espressione soprattutto a livello delle cellule di Purkinje del cervelletto e delle cellule cerebrali, delle cellule endoteliali della congiuntiva, della cute e, ovviamente dei linfociti. Trasmessa con modalità autosomica recessiva, presenta un quadro clinico caratterizzato da segni/sintomi cutanei, immunologici e neurologici, che compaiono progressivamente, con la crescita del bambino e non sono ravvisabili alla nascita. In genere la diagnosi viene sospettata quando il bambino incomincia a camminare con andatura atassica per atassia troncale. Lentamente e progressivamente compaiono movimenti involontari (coreoatetosi) e poco coordinati che rendono difficile eloquio e deglutizione (rischio ab ingestis) e in genere entro la seconda decade di vita i pazienti perdono completamente la capacità di deambulazione autonoma. Le teleangeectasie compaiono più tardivamente, in tempi e gravità variabili, a livello di sclere, cute del viso e dei padiglioni auricolari. La condizione di immunodeficienza combinata si instaura lentamente e progressivamente con ipogammaglobulinemia (principalmente IgG2, IgA e IgE) e linfopenia con mancata risposta a una vasta gamma di antigeni. La immunodeficienza aumenta la suscettibilità alle infezioni sinopolmonari e allo sviluppo di neoplasie di natura linfoide in età infantile e di natura epiteliale in età adolescenziale/giovane adulto. Il decorso della malattia, proprio per la instabilità cromosomica, può venire accelerato dalla esposizione a radiazioni ionizzanti (radiografie, TAC, scintigrafie e radioterapia) e a farmaci radiomimetici^{96,97}.

La degenerazione cortico-cerebellare che coinvolge soprattutto le cellule di Purkinje progressivamente compromette anche il sistema extrapiramidale, il midollo spinale, i gangli della base e il tronco encefalico. Nel complesso, il quadro è di una neuro degenerazione progressiva, marcata e inarrestabile, in cui tuttavia non è chiaro il ruolo dei singoli fattori e le informazioni al riguardo rimangono frammentarie. In modelli murini ad esempio, la mutazione in ATM causa la perdita da parte degli astrociti della capacità di secernere fattori neurotrofici e di interagire con il sistema vascolare con un importante contributo allo sviluppo di lesioni degenerative. Tuttavia ancora poco è conosciuto nell'uomo, soprattutto per quanto riguarda la variabilità di espressione e di progressione di malattia; si ipotizza che possano entrare in gioco geni regolatori o surrogati in grado di modulare l'espressione clinica e l'outcome della AT, rendendone ancor più difficile la comprensione della fisiopatologia⁹⁸.

Sindrome da Delezione 22q11: la sindrome da delezione 22q11 (DS), o sindrome di Di George è sottesa da una microdelezione relativamente frequente, stimata in un caso su 3000-6000 nascite, che comporta la perdita di 1,5-3 milioni di paia di basi sul braccio lungo del cromosoma 22, una delle regioni strutturalmente più complesse del genoma. Nella forma pienamente espressa è caratterizzata dalla triade sintomato-

logica: immunodeficienza, anomalie cardiache e ipocalcemia da ipoparatiroidismo. A questi si possono associare anomalie palatali, malattia da reflusso gastroesofageo, agenesia renale, difetti del tubo neuronale, ploidattilia, anomalie della colonna vertebrale, del viso, dell'orecchio, del naso, delle palpebre o degli occhi variamente espresse e combinate. Anche da un punto di vista immunologico vi è una grande eterogeneità sia del fenotipo che della gravità dei difetti: valori e funzione dei linfociti T possono essere da normali a totalmente deficitari fino a configurare quadro sovrapponibile all'immunodeficienza combinata grave T-negativa (SCID) con ipoplasia o assenza del timo I pazienti affetti soffrono di infezioni opportunistiche e, come altri neonati con SCID, se non trattati possono precocemente andare incontro ad exitus. Le cellule B sono generalmente presenti con valori normali mentre le cellule NK presentano valori normali o alti^{99,100}. Con l'incremento del follow up di questi pazienti sono andate via via emergendo come del tutto caratteristiche le complicanze neuropsichiatriche. Sono segnalati con grande frequenza sintomi neurologici come convulsioni e malattia di Parkinson ad esordio precoce, ma prevalgono di gran lunga i disturbi psichiatrici, presenti in circa il 60% dei pazienti. Il range di espressione è vasto, dalla disabilità intellettiva, disturbi dello spettro autistico, deficit di attenzione e iperattività o disturbi d'ansia fino alla schizofrenia e altre psicosi e si manifestano – paradossalmente – con maggior frequenza nei pazienti affetti da forme mild¹⁰¹.

Sebbene la patogenesi di questi danni neurologici sia ancora poco conosciuta, sono stati ben documentati sia una riduzione della sostanza grigia neuronale – soprattutto dell'ippocampo, con diminuzione delle connessioni sinaptiche – che alterazioni nel rilascio dei neurotrasmettitori. Alla luce delle acquisizioni sul ruolo giocato dal sistema immune nello sviluppo neuronale e sinaptico, si può ipotizzare che l'immunodeficienza della sindrome di Di George contribuisca in misura rilevante alla espressione di queste patologie psichiatriche, in aggiunta ovviamente al contributo ben più rilevante delle basi genetiche, tutt'ora oggetto di intensa ricerca, dal momento che la microdelezione è sede di geni certamente coinvolti nello sviluppo dei disturbi psichiatrici. Purtroppo ad oggi non abbiamo nessun marker di progressione o rischio di complicanze neurologiche¹⁰¹.

4. Ci sono dati sulle relazioni tra sistema immunitario e sistema nervoso periferico?

Un breve cenno alle interazioni neuro immuni a livello del sistema nervoso periferico.

È noto che le risposte immunitarie sono influenzate anche dagli stimoli del sistema nervoso autonomo, sensoriale e motorio¹⁰². In particolare, le cellule immunitarie e le cellule neurali possono colocalizzare e interagire in siti anatomici discreti formando complesse piattaforme multicellulari, note come unità neuro-immunitarie (NICU)^{103,104}. La complessità delle NICU riflette la diversità dei neuroni e dei tipi di cellule immunitarie che le formano e la molteplicità degli stimoli che ne modulano

il funzionamento. Le NICU rilevano e integrano più segnali ambientali e dell'ospite, mantenendo e vegliando la omeostasi fisiologica dei tessuti. Tuttavia rimane da chiarire come le NICU siano regolate dal SNC e viceversa e se risposte immunitarie alterate possano influenzare lo sviluppo, la funzione e il comportamento neuronale anche a livello periferico¹⁰⁵.

Una delle sedi più studiate del cross talk neuro-immune a livello periferico è rappresentata dalle superfici di barriera, intestinali, respiratorie e cutanee. Queste aree ben si prestano allo studio, sia per l'accessibilità sia perché sono densamente popolate da neuroni e cellule immunitarie e sono costantemente sottoposte a stimoli molteplici¹⁰².

Il tratto gastrointestinale (GI) ad esempio nei suoi 5 metri di lunghezza e 32 metri quadrati di superficie epiteliale¹⁰⁶ ospita il 70-80% delle cellule immunologicamente attive¹⁰⁷, oltre 100 milioni di neuroni¹⁰⁸ e fino a 100.000 terminazioni nervose estrinseche¹⁰⁹, oltre a circa 40 trilioni di cellule microbiche costituenti il microbiota¹¹⁰⁻¹¹². Alla nascita, con la colonizzazione del microbiota e i primi contatti con antigeni alimentari si attivano neuro e gliogenesi post-natali che sembrerebbero mantenersi per tutta la vita, come osservato in modelli murini^{104,105}. L'alterazione della composizione del microbiota fisiologico (disbiosi) potrebbe perciò influenzare l'attività cognitiva e comportamentale, la risposta allo stress, l'ansia e la memoria¹¹³⁻¹¹⁵. Oltre alla celiachia, in cui il rapporto tra disbiosi e alterazioni dell'umore è stato più studiato, un numero crescente di disturbi neurocomportamentali e malattie neurodegenerative (ad esempio il morbo di Parkinson, disturbi dello spettro autistico, alcune forme di schizofrenia, il morbo di Alzheimer e la stessa depressione) viene segnalato associato ad alterazioni del microbiota e alla conseguente produzione di metaboliti e prodotti batterici tossici¹¹⁶.

Anche in modelli sperimentali il ruolo del microbiota sull'organizzazione del SNE è in qualche misura confermato: topi non colonizzati (GermFree-GF) presentano un ridotto numero di neuroni enterici e associati deficit della motilità, probabilmente conseguenti alla minor eccitabilità dei neuroni afferenti primari¹¹⁷⁻¹¹⁹. Inoltre, i topi GF in cui viene ricostituito il microbiota fisiologico normalizzano la densità delle cellule neuronali^{120,121}. Sembrerebbe quindi che anche il microbiota intestinale possa contribuire direttamente o indirettamente alla neurogenesi, mielinizzazione, potatura sinaptica e funzione delle cellule gliali. In modelli animali, è stato osservato che le citochine prodotte in risposta ai microbi intestinali possono raggiungere il sistema nervoso centrale, influenzandone lo sviluppo e condizionando il comportamento^{104,105,120}.

È ormai peraltro acquisito che la stimolazione batterica della colonizzazione intestinale è fondamentale per la completa maturazione del sistema immunitario, stimolando la formazione di centri germinativi nel tessuto linfatico sottomucoso e la produzione di immunoglobuline, soprattutto IgA¹²². Quello che invece è totalmente da dimostrare è che sia non già il microbiota in genere, ma determinate specie batteriche a condizionare lo sviluppo del sistema immune¹²². Questo è davvero difficile da documentare, tenendo conto di due considerazioni basilari: 1- il microambiente intestinale ha troppe variabili metaboliche, alimentari, geografiche per poter concludere che una variabile influenzi in misura prioritaria le altre e 2- la pressione selettiva

data dal buono o cattivo funzionamento del sistema immune (e non solo del neonato, ma soprattutto della mamma e della sua esperienza antigenica precedente) è il meccanismo base che favorisce lo sviluppo di determinate colonie batteriche su altre.

Analoga enfasi viene posta sul microbiota polmonare, seppur meno studiato.

Biesbroek et al.¹²³ hanno analizzato lo sviluppo del microbiota nel tratto respiratorio superiore e rinofaringeo in bambini seguiti longitudinalmente dalla nascita fino a 2 anni di vita dimostrandone un'ampia variabilità nel tempo. Tuttavia i risultati analitici dello studio suggeriscono che la colonizzazione precoce di alcuni particolari microrganismi potrebbe influenzare la suscettibilità alle infezioni polmonari. Al contrario, lo studio del microbiota in topi GF nelle prime settimane della vita ha dimostrato che la colonizzazione microbica del polmone non si associa a variazioni del sistema immunitario e il repertorio immune era sovrapponibile tra topi GF e topi normalmente colonizzati¹²⁴. Pertanto, anche se l'osservazione di Biesbroek fosse confermata, l'influenza clinica del microbiota non sembrerebbe mediata dal sistema immunitario. In conclusione, il microbiota e il sistema immunitario si sviluppano e influenzano reciprocamente e o direttamente o indirettamente soprattutto a livello intestinale e contribuiscono entrambi alla modulazione nervosa periferica.

Bibliografia

- 1 Rezaei N, Aghamohammadi A, Notarangelo LD. Primary Immunodeficiency Disease. Definition, diagnosis and management. Second edition. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag 2017.
- 2 Spitzer MH, Gherardini PF, Fragiadakis GK, et al. Immunology. An interactive reference framework for modeling a dynamic immune system. *Science* 2015;349:1259425.
- 3 Sattler S, Kennedy-Lydon T. The Immunology of Cardiovascular Homeostasis and Pathology, *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1003. s.l. Springer, 2017.
- 4 Galvão AM, Ferreira-Dias GM, Chelmonska-Soyta A, et al. Immune-endocrine cross-talk in reproductive biology and pathology. *Mediators Inflamm* 2014;856465.
- 5 Negishi Y, Takahashi H, Kuwabara Y, et al. Innate immune cells in reproduction. *J Obstet Gynaecol Res* 2018;44:2025-36.
- 6 Zhang X, Zhivaki D, Lo-Man R. Unique aspects of the perinatal immune system. *Nat Rev Immunol.* 2017;17:495-507.
- 7 Varricchi G, Loffredo S, Galdiero MR, et al. Innate effector cells in angiogenesis and lymphangiogenesis. *Curr Opin Immunol* 2018;53:152-60.
- 8 Rankin LC, Artis D. Beyond host defense: emerging functions. *Cell* 2018;173:554-67.
- 9 Blalock JE. The immune system as the sixth sense. *J Intern Med* 2005;257: 126-38.
- 10 Blalock JE. Relationships between neuroendocrine hormones and lymphokines. In: Pick E, ed. *Lymphokines*. Orlando, FL: Academic Press 1984, pp. 1-13.
- 11 Blalock JE. A molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems. *Physiol Rev* 1989;69:1-32.
- 12 Oates EL, Allaway GP, Armstrong GR, et al. Human lymphocytes produce pro-opiomelanocortin gene-related transcripts. Effects of lymphotropic viruses. *J Biol Chem* 1988;263:10041-4.
- 13 Buzzetti R, McLoughlin L, Lavender PM, et al. Expression of pro-opiomelanocortin gene and quantification of adrenocorticotropic hormone-like immunoreactivity in human normal peripheral mononuclear cells and lymphoid and myeloid malignancies. *J Clin Invest* 1989;83:733-7.
- 14 Galin FS, LeBoeuf RD, Blalock JE. A lymphocyte mRNA encodes the adrenocorticotropic/b-lipotropin region of the pro-opiomelanocortin gene. *Prog Neuroendocr Immunol* 1990;3:205-8.
- 15 Chavan SS, Pavlov VA, Tracey KJ. Mechanisms and therapeutic relevance of neuro-immune communication. *Immunity* 2017;46:927-42.

- 16 Kipnis J. Immune system: the seventh sense. *J Exp Med* 2018;215:397-8.
- 17 Filiano AJ, Xu Y, Tustison NJ, et al. Unexpected role of interferon- γ in regulating neuronal connectivity and social behaviour. *Nature* 2016;535:425-9.
- 18 Erickson MA, Banks WA, Dantzer R. Neuroimmune axes of the blood-brain barriers and blood-brain interfaces: bases for physiological regulation, disease states, and pharmacological interventions. *Pharmacol Rev* 2018;70:278-14.
- 19 Danuta W. Neural-immune interactions: an integrative view of the bidirectional relationship between the brain and immune systems. *J Neuroimmunol* 2006;172:38-58.
- 20 Kipnis J, Cohen H, Cardon M, et al. T cell deficiency leads to cognitive dysfunction: implications for therapeutic vaccination for schizophrenia and other psychiatric conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:8180-5.
- 21 Dantzer R, Kelley KW. Twenty years of research on cytokine-induced sickness behavior. *Brain Behav Immun* 2007;21:153-60.
- 22 Ziv Y, Ron N, Butovsky O, et al. Immune cells contribute to the maintenance of neurogenesis and spatial learning abilities in adulthood. *Nat Neurosci* 2006;9:268-75.
- 23 Derecki NC, Cardani AN, Yang CH, et al. Regulation of learning and memory by meningeal immunity: a key role for IL-4. *J Exp Med* 2010;207:1067-80.
- 24 Erny D, Prinz M, Hagemeyer N. Ontogeny and homeostasis of CNS myeloid cells. *Nat Immunol* 2017;18:385-92.
- 25 Hawkins BT, Davis TP. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol Rev* 2005;57:173-85.
- 26 Weiss N, Miller F, Cazaubon S, et al. The blood-brain barrier in brain homeostasis and neurological diseases. *Biochim Biophys Acta* 2009;1788:842-57.
- 27 Shrestha R, Millington O, Brewer J, et al. Is central nervous system an immune-privileged site?. *Kathmandu Univ Med J* 2013;41:102-7.
- 28 Negi N, Das BK. CNS: not an immunoprivileged site anymore but a virtual secondary lymphoid organ. *Int Rev Immunol* 2018;37:57-68.
- 29 Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature* 2015;523:337-41.
- 30 Louveau A, Harris TH, Kipnis J. Revisiting the mechanisms of CNS immune privilege. *Trends Immunol* 2015;36:569-77.
- 31 Aspelund A, Antila S, Proulx ST, et al. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *J Exp Med* 2015;212:991-9.
- 32 Ransohoff RM, Brown MA. Innate immunity in the central nervous system. *J Clin Invest* 2012;122:1164-71.
- 33 Morimoto K, Nakajima K. Role of the immune system in the development of the central nervous system. *Front Neurosci* 2019;13:916.
- 34 Clark S.M, Vaughn CN, Soroka JA, et al. Neonatal adoptive transfer of lymphocytes rescues social behaviour during adolescence in immune-deficient mice. *Eur J Neurosci* 2018;47:968.
- 35 Radjavi A, Smirnov I, Kipnis J. Brain antigen-reactive CD4+ T cells are sufficient to support learning behavior in mice with limited T cell repertoire. *Brain Behav Immun* 2014;35:58-63.
- 36 Tanabe S, Yamashita T. The role of immune cells in brain development and neurodevelopmental diseases. *Int Immunol* 2018;30:437-44.
- 37 Veerhuis R, Nielsen HM, Tenner AJ. Complement in the brain. *Mol Immunol* 2011;48:1592-603.
- 38 Wu Y, Dissing-Olesen L, Macvicar D, et al. Microglia: dynamic mediators of synapse development and plasticity. *Trends Immunol* 2015;36:605-13.
- 39 Korin B, Ben-Shaanan TL, Schiller M, et al. High-dimensional, single-cell characterization of the brain's immune compartment. *Nat Neurosci* 2017;20:1300-9.
- 40 Gottfried C, Bambini JV. Insights into the relationship of the immune system with neurodevelopmental and psychiatric disorders. *Neuroimmunomodulation* 2018;25:243-5.
- 41 Picard C, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, et al. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee report on inborn errors of immunity. *Clin Immunol* 2018;38:96-128.
- 42 Bousfiha A, Jeddane L, Picard C, et al. The 2017 IUIS phenotypic classification for primary immunodeficiencies. *J Clin Immunol* 2018;38:129-43.
- 43 Bousfiha AA, Jeddane L, Ailal F, et al. Primary immunodeficiency diseases worldwide: more common than generally thought. *J Clin Immunol* 2013;33:1-7.
- 44 Modell V, Orange JS, Quinn J, et al. Global report on primary immunodeficiency: 2018 update from the Jeffery Modell Centrs Network on disease classification, regional trends, treatment modalities and physician reported outcomes. *Immunol Res* 2018;66:367-80.
- 45 Dehkordy SF, Aghamohammadi A, Ochs HD, et al. Primary immunodeficiency diseases associated with neurological manifestation. *J Clin Immunol* 2012;32:1.
- 46 Aydin OF, Banu A. Neurological manifestation of primary immunodeficiency diseases. *Clin Pediatr* 2018;57:761-74.
- 47 Chavoshzadeh Z, Hashemitarai A, Darougar S. Neurological manifestation of primary immunodeficiencies. *Iran J Child Neurol* 2018;12:7-23.
- 48 Flinn AM, Gennery AR. Adenosine deaminase deficiency: a review. *Orphanet J Rare Dis* 2018;13:65.
- 49 Cagdas D, Gur Cetinkaya P, Karaatmaca B, et al. ADA deficiency: evaluation of the clinical and laboratory features and the outcome. *J Clin Immunol* 2018;38:484.
- 50 Sauer AV, Hernandez RJ, Fumagalli F, et al. Alterations in the brain adenosine metabolism cause behavioral and neurological impairment in ADA-deficient mice and patients. *Sci Rep* 2017;7:40136.
- 51 Rogers MH, L Rebekah, Fairbanks L, et al. Cognitive and behavioral abnormalities in adenosine deaminase deficient severe combined immunodeficiency. *J Pediatr* 2001;139:9-11.
- 52 Kramer JH, Crittenden MR, DeSantes K, et al. Cognitive and adaptive behavior 1 and 3 years following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1997;19:607-13.
- 53 Phipps S, Dunavant M, Srivastava DK, et al. Cognitive and academic functioning in survivors of pediatric bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 2000;18:1004-11.
- 54 Whitmore KV, Gaspar HB. Adenosine deaminase deficiency – more than just an immunodeficiency. *Front Immunol* 2016;7:314.
- 55 Rogers MH, Lwin R, Fairbanks L, et al. Cognitive and behavioral abnormalities in adenosine deaminase deficient severe combined immunodeficiency. *J Pediatr* 2001;139:44-50.
- 56 Höning M, Albert MH, Schulz A, et al. Patients with adenosine deaminase deficiency surviving after hematopoietic stem cell transplantation are at high risk of CNS complications. *Blood* 2007;109:3595-602.
- 57 Xu X, Negandhi J, Min W, et al. Early enzyme replacement therapy improves hearing and immune defects in adenosine deaminase deficient-mice. *Frontiers Immunol* 2019;10:416.
- 58 Engelhardt KR, McGhee S, Winkler S, et al. Large deletions and point mutations involving the dedicator of cytokinesis 8 (DOCK8) in the autosomal-recessive form of hyper-IgE syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:1289-302.
- 59 Zhang Q, Davis JC, Lamborn IT, et al. Combined immunodeficiency associated with DOCK8 mutations. *N Engl J Med* 2009;361:2046-55.
- 60 Biggs CM, Keles S, Chatila TA. DOCK8 deficiency: insights into pathophysiology, clinical features and management. *Clin Immunol* 2017;181:75-82.
- 61 Engelhardt KR, Gertz ME, Keles S, et al. The extended clinical phenotype of 64 patients with dedicator of cytokinesis 8 deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136:402-12.
- 62 Krgovic D, Vokac NK, Zagorac A, et al. Rare structural variants in the DOCK8 gene identified in a cohort of 439 patients with neurodevelopmental disorders. *Sci Rep* 2018;8:9449.
- 63 Griggs BL, Ladd S, Saul RA, et al. Dedicator of cytokinesis 8 is disrupted in two patients with mental retardation and developmental disabilities. *Genomics* 2008;91:195-202.
- 64 Tassano E, Accogli A, Pavanello M, et al. Interstitial 9p24.3 deletion involving only DOCK8 and KANK1 genes in two patients with non-overlapping phenotypic traits. *Eur J Med Genet* 2016;59:20-5.
- 65 Lackey AE, Ahmad F. X-linked Agammaglobulinemia. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing* 2020.
- 66 El-Sayed ZA, Abramova I, Aldave JC, et al. X-linked agammaglobulinemia (XLA): P phenotype, diagnosis, and therapeutic challenges around the world. *World Allergy Organ J* 2019;12:100018.
- 67 Pac M, Bernatowska EA, Kierkuś J, et al. Gastrointestinal disorders next to respiratory infections as leading symptoms of X-linked agammaglobulinemia in children - 34-year experience of a single center. *Arch Med Sci* 2017;13:412-7.
- 68 Bazregari S, Azizi G, Tavakol, et al. Evaluation of infectious and non-infectious complications in patients with primary immunodeficiency. *Cent Eur J Immunol* 2017;42:336-41.
- 69 Xu Y, Qing Q, Liu X, et al. Bruton's agammaglobulinemia in an adult male due to a novel mutation: a case report. *J Thorac Dis* 2016;8:E1207-E1212.
- 70 Sigmon JR, Kasasbeh E, Krishnaswamy G. X-linked agammaglobulinemia diagnosed late in life: case report and review of the literature. *Clin Mol Allergy* 2008;6:5.
- 71 Yang EJ, Yoon J-H, Chung KC. Bruton's tyrosine kinase phosphorylates cAMP-responsive element-binding protein at serine 133 during neuronal differentiation in immortalized hippocampal progenitor cells. *J Biological Chem* 2004;279:1827-37.
- 72 Pescador Ruschel MA, Vaqar S. Common variable immunodeficiency (CVID). *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing* 2020.

- ⁷³ Nguyen T-U, Green A, Wilson MR, et al. Neurologic complications of common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2016;36:793-800.
- ⁷⁴ Hermaszewski RA, Webster ADB. Primary hypogammaglobulinaemia: a survey of clinical manifestations and complications. *Q J Med* 1993;86:31-42.
- ⁷⁵ Kondo M, Fukao T, Teramoto T, et al. A common variable immunodeficient patient who developed acute disseminated encephalomyelitis followed by the Lennox-Gastaut syndrome. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16: 357-60.
- ⁷⁶ Larne AJ, Webster ADB, Thomas DJ. Peripheral neuropathy associated with common variable immunodeficiency. *Eur J Neurol* 2000;7:573-5.
- ⁷⁷ Rudge P, Webster ADB, Revesz T, et al. Encephalomyelitis in primary hypogammaglobulinaemia. *Brain* 1996;119:1-15.
- ⁷⁸ Long CP, Suzuki H, Vitale K. Peripheral neuropathy due to common variable immunodeficiency: case report and narrative review. *Gerontol Geriatr Med* 2019; 5: 2333721419850644.
- ⁷⁹ van de Ven A, Mader I, Wolff D, et al. Structural noninfectious manifestations of the central nervous system in common variable immunodeficiency disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019;S2213-2198(19)31026-8.
- ⁸⁰ Najema CE, Springer J, Prayson R, et al. Intracranial granulomatous disease in common variable immunodeficiency: case series and review of the literature. *Sem Arthritis and Rheumatism* 2018;47:890-6.
- ⁸¹ Özdemir Ö, Okan MS, Kilic SS. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy in common variable immunodeficiency. *Pediatric Neurology* 2012;46:260e262.
- ⁸² Ziegner UHM, Kobayashi RH, Cunningham-Rundles C, et al. Progressive neurodegeneration in patients with primary immunodeficiency disease on IVIG treatment. *Clin Immunol* 2002;102:19-24.
- ⁸³ Giardino G, De Luca M, Cirillo, et al. Two brothers with atypical UNC13D-related hemophagocytic lymphohistiocytosis characterized by massive lung and brain involvement. *Front Immunol* 2017;8:1892.
- ⁸⁴ Zhao YZ, Li ZG, Zhang L, et al. Central nervous system involvement in 179 Chinese children with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Chin Med J* 2018;131:1786-92.
- ⁸⁵ Deiva K, Mahlaoui N, Beaudonnet F, et al. CNS involvement at the onset of primary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Neurology* 2012;78:1150-6.
- ⁸⁶ Jovanovic A, Kuzmanovic M, Kravljanc R, et al. Central nervous system involvement in hemophagocytic lymphohistiocytosis: a single-center experience. *Pediatr Neurol* 2014;50:233e237.
- ⁸⁷ Zheng HY. Current treatment for central nervous system involvement in children with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Chin Med J* 2018;131:1765-6.
- ⁸⁸ Kim M-M, Yum M-S, Choi H-W, et al. Central nervous system (CNS) involvement is a critical prognostic factor for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Korean J Hematol* 2012;47(4):273-80.
- ⁸⁹ Munzer GRM, Carpentier Barthez MA, et al. Neurological findings and genetic alterations in patients with Kostmann syndrome and HAX1 mutations. *Pediatr Blood Cancer* 2014;61:1041-8.
- ⁹⁰ Carlsson G, Fasth A. Infantile genetic agranulocytosis, morbus Kostmann: Presentation of six cases from the original "Kostmann family" and a review. *Acta Paediatr* 2001;90:757-64.
- ⁹¹ Carlsson G, van't Hooft I, Melin M, et al. Central nervous system involvement in severe congenital neutropenia: neurological and neuropsychological abnormalities associated with specific HAX1 mutations. *J Intern Med* 2008;264:388-400.
- ⁹² Kostmann R. Infantile genetic agranulocytosis. *Acta Paediatr Scand* 1975;64:362-8.
- ⁹³ Lanciotti M, Indaco S, Bonanomi S, et al. Novel HAX1 gene mutations associated to neurodevelopment abnormalities in two Italian patients with severe congenital neutropenia. *Haematologica* 2010;95:168-9.
- ⁹⁴ Song EK, Jaishankar GB, Saleh H, et al. Chronic granulomatous disease: a review of the infectious and inflammatory complications. *Clin Mol Allergy* 2019:10.
- ⁹⁵ Uccelli A, Gattorno M. Neurological manifestations in autoinflammatory diseases. *Clin Exp Rheumatol* 2018;36 (Suppl. 110):S61-S67.
- ⁹⁶ Ming JE, Stiehm ER, Graham JM. Syndromic immunodeficiencies: genetic syndromes associated with immune abnormalities. *J Crit Rev Clin Lab Sci* 2003;40:587-642.
- ⁹⁷ Bitona S, Barzilaib A, Shiloha Y. The neurological phenotype of ataxia-telangiectasia: Solving a persistent puzzle. *DNA REPAIR* 2008;7:1028-38.
- ⁹⁸ Chin Wai H, Herrup K. Individual cytokines modulate the neurological symptoms of atm deficiency in a region specific manner. *eNeuro* 2015;2,4.
- ⁹⁹ Graham DE. Immunodeficiency in digeorge syndrome and options for treating cases with complete athymia. *Frontiers Immunol* 2013;4 322.
- ¹⁰⁰ Kraus C, Vanicek T, Weidenauer A, et al. DiGeorge syndrome: relevance of psychiatric symptoms in undiagnosed adult patients. *Wien Klin Wochenschr* 2018;30:283-7.
- ¹⁰¹ Jonas RK, Montojo CA, Bearden CE. The 22q11.2 deletion syndrome as a window into complex neuropsychiatric disorders over the lifespan. *Biol Psychiatry* 2014;75: 351-60.
- ¹⁰² ThyagaRajan S, Priyanka HP. Bidirectional communication between the neuroendocrine system and the immune system: relevance to health and diseases. *Ann Neurosci* 2012;19:40-6.
- ¹⁰³ Godinho-Silva C, Cardoso F, Veiga-Fernandes H. Neuro-immune cell units: a new paradigm in physiology. *Annu Rev Immunol* 2019;37:19-46.
- ¹⁰⁴ Veiga-Fernandes H, Pachnis V. Neuroimmune regulation during intestinal development and homeostasis. *Nat Immunol* 2017;18:116-22.
- ¹⁰⁵ Veiga-Fernandes H, Mucida D. Neuro-immune interactions at barrier surfaces. *Cell* 2016;165:801-11.
- ¹⁰⁶ Helander HF, Fändriks L. Surface area of the digestive tract - revisited. *Scand J Gastroenterol* 2014;49:681-9.
- ¹⁰⁷ Kagnoff MF. Immunology of the digestive system. *Physiology of the gastrointestinal tract*. New York: Raven 1987.
- ¹⁰⁸ Furness JB, Callaghan BP, Rivera LR, et al. The enteric nervous system and gastrointestinal innervation: integrated local and central control. *Adv Exp Med Biol* 2014;81:39-71.
- ¹⁰⁹ Grundy D, Brookes S. Neural control of gastrointestinal function. *Biota Publishing* 2011. (Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to function).
- ¹¹⁰ Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012;489:220-30.
- ¹¹¹ Sender R, Fuchs S, Milo R. Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. *Cell* 2016;164:337-40.
- ¹¹² Mazmanian SK, Yoo BB. The enteric network: interactions between the immune and nervous systems of the gut. *Immunity* 2017;46:910-26.
- ¹¹³ Janzon A, Goodrich JK, Koren O, et al. Interactions between the gut microbiome and mucosal immunoglobulins A, M, and G in the developing infant gut. *mSystems* 2019;4:e00612-19.
- ¹¹⁴ Berbers RM, Franken IA, Leavis HL. Immunoglobulin A and microbiota in primary immunodeficiency diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2019;19:563-70.
- ¹¹⁵ Lacorte E, Gervasi G, Bacigalupo I, et al. A systematic review of the microbiome in children with neurodevelopmental disorders. *Front Neurol* 2019;10:727.
- ¹¹⁶ Olofsson LE, Heiss CN. The role of the gut microbiota in development, function and disorders of the central nervous system and the enteric nervous system. *J Neuroendocrinol* 2019;31:e12684.
- ¹¹⁷ Abrams GD, Bishop JE. Effect of the normal microbial flora on gastrointestinal motility. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967;126:301-4.
- ¹¹⁸ Gustafsson BE, Midtvedt T, Strandberg K. Effects of microbial contamination on the cecum enlargement of germfree rats. *Scand J Gastroenterol* 1970;5:309-14.
- ¹¹⁹ McVey Neufeld KA, Mao YK, Bienenstock J, et al. The microbiome is essential for normal gut intrinsic primary afferent neuron excitability in the mouse. *Neurogastroenterol Motil* 2012;25:183-e88.
- ¹²⁰ Kabouridis PS, Lasrado R, McCallum S, et al. Microbiota controls the homeostasis of glial cells in the gut lamina propria. *Neuron* 2015;85:289-95.
- ¹²¹ Kashyap PC, Marcobal A, Ursell LK, et al. Complex interactions among diet, gastrointestinal transit, and gut microbiota in humanized mice. *Gastroenterology* 2013;144:967-77.
- ¹²² Rosado MM, Aranburu A, Scarsella M. Spleen development is modulated by neonatal gut microbiota. *Immunol Lett* 2018;199:1-15.
- ¹²³ Biesbroek G, Tsvitvadze E, Sanders E, et al. Early respiratory microbiota composition determines bacterial succession patterns and respiratory health in children. *Am J Respir Crit Care Med* 2014;190:1283-92.
- ¹²⁴ Mathieu E, Escribano-Vazquez U, Descamps D, et al. Paradigms of lung microbiota functions in health and disease, particularly, in asthma. *Front Physiol* 2018;9:1168.