12. La risposta immunitaria

II edizione

(vale per tutto il capitolo)

12. La risposta immunitaria..... 377
12.1. Principali caratteristiche delle risposte immunitarie.....379
12.1.1. Caratteristiche funzionali del sistema immunitario.....380
12.1.2. Specificità..... 381
12.1.3. Diversità antigenica..... 382
12.1.4. Memoria.....383
12.1.5. Auto-limitazione..... 384
12.1.6. Discriminazione del self dal non-self.....385
12.2. Fasi della risposta immunitaria.....386
12.2.1. Fase di riconoscimento.....387
12.2.2. Fase di attivazione..... 388
12.2.3. Fase effettrice..... 390
12.3. Il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC).....391
12.3.1. Antigeni e geni di istocompatibilità.....392
12.3.2. La restrizione MHC.....393
12.4. Ruolo dell'HLA nell'immunità: antigeni di classe I.....394
12.4.1. Interazione con le cellule T citotossiche CD8+.....394
12.4.2. Antigeni di derivazione intra- o extra-cellulari e MHC.....395
12.5. Antigeni di classe II..... 396
12.5.1. Meccanismo d'azione delle molecole MHC di classe II.....396
12.5.2. Il ruolo degli antigeni di classe II nell'induzione delle cellule T helper....397
12.6. HLA ed associazione con le malattie.....398
12.6.1. Associazioni più comuni tra HLA e malattie e rischio relativo.....399
12.7. Generazione della diversità: il meccanismo della selezione clonale..... 400
12.7.1. Evoluzione di una risposta B ad un agente infettivo.....401
12.8. Meccanismi di regolazione della risposta T.....402
12.8.1. Meccanismi periferici di regolazione..... 402
12.8.2. Meccanismi intrinseci di controllo dell'attivazione dei linfociti T indotta dall'antigene..... 403
12.8.3. Controllo dei linfociti T attivati da parte dei linfociti T suppressor.....405
12.8.4. Via regolatoria mediata dalle cellule CD8+ dipendenti da HLA-E.....407

12.9. Produzione di citochine..... 409
12.9.1. Induzione di risposte non immunitarie.....409
12.9.2. Attività delle interleuchine IL-1 e IL-6..... 410
12.9.3. Citochine particolari: gli interferoni..... 412
12.10. Risposte immunitarie cellulari non adattative.....413
12.10.1. Le cellule B 1..... 413
12.10.2. Le cellule T γ:δ.....414
12.10.3. Cellule natural killer..... 415
12.11. Principali fonti utilizzate.....416

12.1. Principali caratteristiche delle risposte immunitarie

Le risposte immunitarie con tentativo di eliminazione dell'antigene prevedono due modalità principali:

- la risposta umorale, basata sulla produzione di molecole solubili, gli anticorpi
- la risposta cellulo-mediata: basata sulla azione diretta da parte di cellule effettrici immunitarie e non; queste ultime reclutate ed attivate dalle cellule immunitarie stesse

In riferimento al fatto che le risposte siano rivolte verso antigeni accessibili al liquido interstiziale (umorale) o antigeni che siano intra-cellulari (risposta cellulo-mediata)

Infatti gli anticorpi non sono in grado di passare la membrana citoplasmatica e le cellule possono aggredire antigeni intra-citoplasmatici eliminando la cellula portatrice dell'antigene

Le risposte umorali e cellulo-mediate nei confronti degli antigeni hanno alcune caratteristiche fondamentali

- ***Specificità***: *le risposte immuni sono specifiche per i diversi antigeni*
- ***Diversità:*** *il numero totale delle specificità antigeniche dei linfociti in un singolo individuo*
- ***Memoria***: *l'esposizione del sistema immunitario ad un antigene estraneo aumenta la sua capacità di rispondere a quel particolare antigene in una seconda occasione*
- ***Auto-limitazione***: *tutte le risposte immunologiche normali si esauriscono progressivamente dopo la cessazione della stimolazione antigenica dovuta all'eliminazione dell'antigene*
- ***Discriminazione del self dal non-self***: *capacità di rispondere con tolleranza agli antigeni propri presenti in maniera geograficamente e quantitativamente corretta (self) e di rispondere con tentativo di eliminazione ad ogni variazione endogena o esogena (non self)*

12.1.1. Caratteristiche funzionali del sistema immunitario

Caratteristiche fondamentali dell'immunità specifica necessarie perché il sistema immunitario sia in grado di svolgere la sua normale funzione di difesa dell'individuo sono:

- la specificità e la memoria che rendono il sistema immune capace di generare risposte immuni più intense verso stimolazioni persistenti o ricorrenti da parte dello stesso antigene, così da combattere efficacemente infezioni prolungate o ripetute
- la diversificazione è essenziale per la difesa degli individui nei confronti della miriade di possibili patogeni ambientali e delle possibili alterazioni patologiche del *self* (es.: i tumori)
- l'auto-limitazione consente al sistema di ritornare ad uno stato di riposo dopo aver eliminato l'agente estraneo, rendendo quindi possibile una risposta ottimale ad altri antigeni che eventualmente si presentino
- la tolleranza al *self*, è essenziale per prevenire risposte verso i propri costituenti cellulari e tissutali, pur mantenendo la ricchezza del repertorio di diversi cloni di linfociti

12.1.2. Specificità

Le risposte immuni sono specifiche per i diversi antigeni

- le risposte immuni sono specifiche per i differenti componenti strutturali: ciò che viene riconosciuto è la superficie di contatto fisica, cioè la nuvola elettronica e di cariche, indipendentemente dalla natura chimica (come avviene per tutti i riconoscimenti ligando/recettore)
- le porzioni degli antigeni riconosciute dai singoli linfociti sono denominate **determinanti** o **epitopi**
- un antigene macromolecolare può contenere molti determinanti uguali o diversi tra loro
- i linfociti antigene-specifici si sviluppano senza stimolazione antigenica: cloni di linfociti con differenti recettori per l'antigene e diversa specificità sono già presenti in soggetti non immunizzati

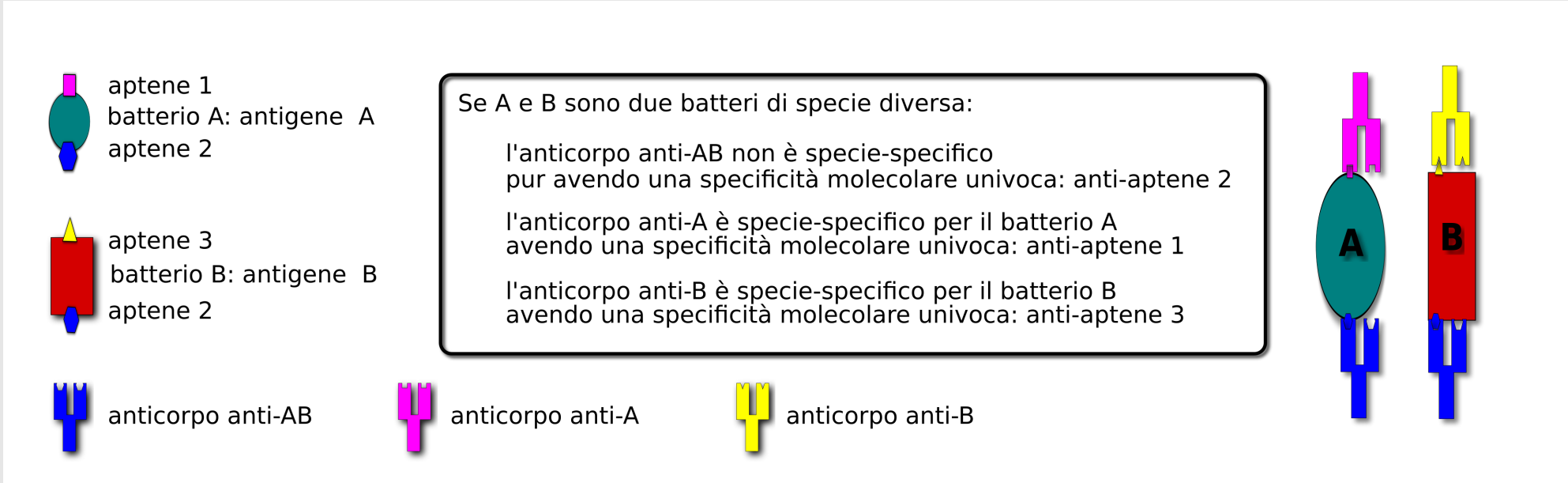


Figura 12.1. Specificità nel caso di anticorpi anti-batteri. Determinante antigenico o aptene

12.1.3. Diversità antigenica

Il numero totale delle specificità antigeniche dei linfociti in un singolo individuo, chiamato **repertorio linfocitario**, è estremamente ampio: oltre 10^{10} diversi determinanti antigenici

Ogni singolo linfocita ha una sola specificità: quindi il numero potenziale di linfociti con specificità diverse è pari a quello dei determinanti riconosciuti

La specificità è un fenomeno quantitativo misurato dall'affinità

Ogni linfocito reagisce con l'antigene specifico con la massima affinità, ma anche con le altre strutture fisicamente simili, anche se con minore affinità

L'affinità immunitaria può raggiungere livelli altissimi, tanto da produrre un legame difficilmente dissociabile

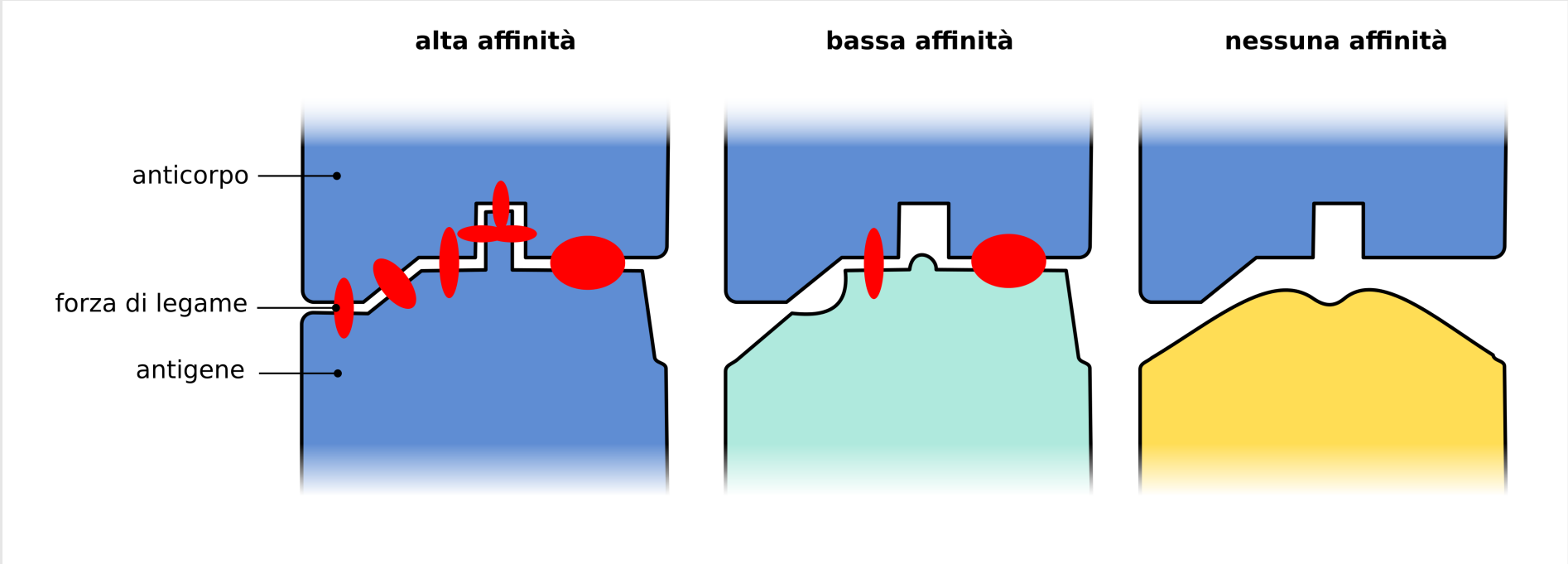


Figura 12.2. Diversa affinità dello stesso anticorpo per differenti antigeni

12.1.4. Memoria

Memoria immunologica: le risposte ad una seconda o a successive esposizioni allo stesso antigene, riposte secondarie, sono più rapide, più intense, e anche qualitativamente diverse dalla risposta originale (o risposta primaria)

- i linfociti proliferano in risposta alla stimolazione antigenica, e la progenie di un singolo linfocita antigene-specifico possiede lo stesso recettore per l'antigene e quindi la stessa specificità della cellula progenitrice. Di conseguenza, ogni successiva esposizione espande numericamente i cloni di linfociti specifici per quel dato antigene
- poiché hanno massima probabilità di legarsi all'antigene (ed essere così stimolati) i cloni a più alta affinità, ad ogni successiva esposizione i cloni amplificati sono sempre più affini (specifici)
- le cellule di memoria, rappresentate da linfociti che hanno già risposto alla stimolazione antigenica, sopravvivono per periodi prolungati anche in assenza dell'antigene
- i linfociti B di memoria sono in grado di rispondere a concentrazioni più basse di antigene e di produrre anticorpi dotati di affinità maggiore per l'antigene stesso di quanto non facciano i linfociti B non precedentemente stimolati

12.1.5. Auto-limitazione

☞ Da un punto di vista evolutivo, il fatto che la risposta immune si spegnesse dopo il raggiungimento del suo scopo, cioè l'eliminazione dell'antigene, è stato premiante:

- per ragioni di economia biologica (una risposta immune costa molto all'organismo ed ha effetti collaterali dannosi)
- per ragioni di spazio (non c'è sufficiente spazio fisico per conservare molti cloni espansi)

☞ I meccanismi della auto-limitazione sono:

- le risposte immuni sono indotte dall'antigene, e sono strutturate per eliminarlo; questo si traduce ovviamente nell'eliminazione dello stimolo per l'attivazione linfocitaria
- alla scomparsa dell'antigene i linfociti perdono il principale stimolo attivatorio e quindi o vanno in apoptosi (maggioranza) o o si trasformano in cellule quiescenti di memoria (piccoli numeri)
- gli antigeni e le risposte immunologiche verso di essi avviano un gran numero di meccanismi, la cui principale funzione è il *feedback* negativo sulla risposta stessa

☞ Altro aspetto di questa economia evolutiva è il fatto che contro un antigene complesso generalmente prevale la risposta contro uno solo (o molto pochi) tra i molti determinanti antigenici presenti sull'antigene stesso

12.1.6. Discriminazione del *self* dal *non-self*

I linfociti di ogni individuo sono in grado di riconoscere e rispondere con reazione di eliminazione a un gran numero di antigeni, mentre la risposta non porta all'eliminazione delle sostanze antigeniche proprie di quello stesso individuo

Questa non responsività immunologica è chiamata **tolleranza**

- la tolleranza al *self* costituisce un processo attivo, e presuppone l'istruzione dei linfociti di ogni singolo individuo
- questo processo si verifica grazie al fatto che i linfociti, nel corso del loro sviluppo, passano attraverso una fase in cui l'incontro con l'antigene si traduce o nella loro morte o nella sospensione delle loro attività
- alterazioni nei processi di induzione o di mantenimento della tolleranza al *self* possono portare a risposte immunologiche verso componenti autologhi, e potenzialmente a gravi malattie, chiamate malattie autoimmuni

Durante la vita del sistema immunitario la norma è rappresentata dall'incontro con antigeni *self* verso cui c'è tolleranza, mentre rappresenta una eccezione l'innesco di una reazione di eliminazione (risposta immunitaria propriamente detta)

12.2. Fasi della risposta immunitaria

- *Fase di riconoscimento*
- *Fase di attivazione*
- *Fase effettrice*
- *Fase di spegnimento*

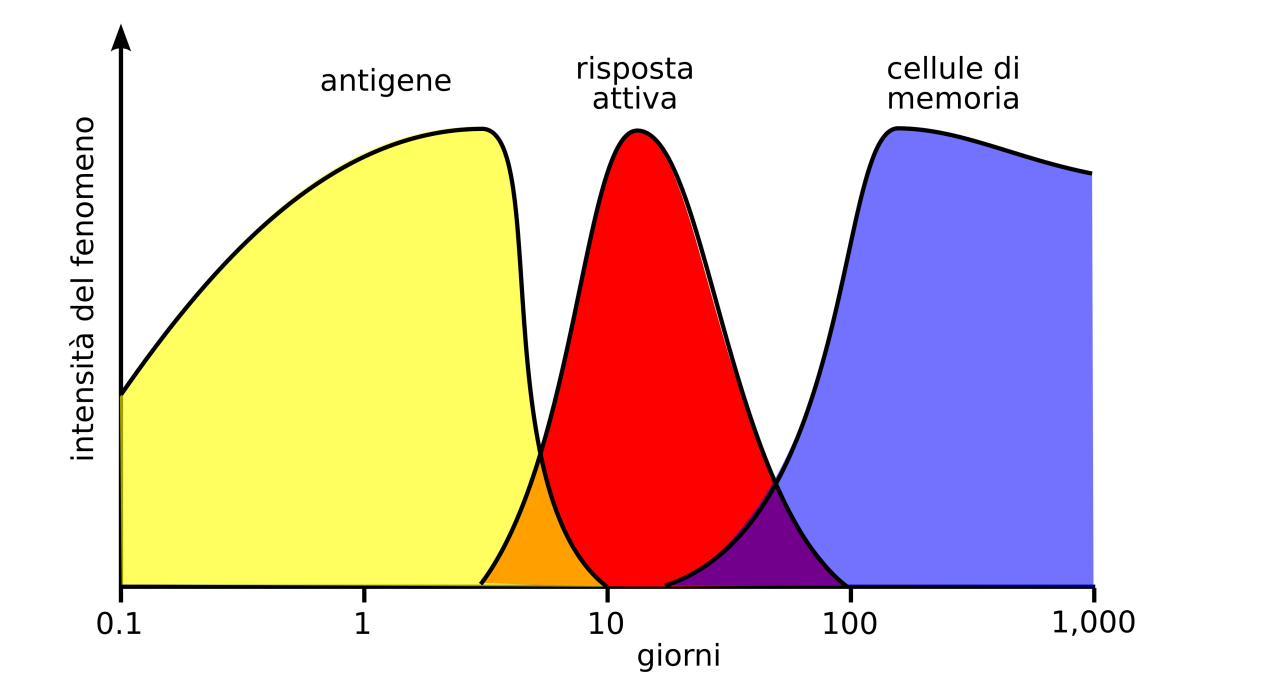


Figura 12.3. Fasi della risposta immunitaria

12.2.1. Fase di riconoscimento

☞ La fase di riconoscimento dell'antigene consiste nel legame degli antigeni a recettori specifici presenti su linfociti maturi, già esistenti prima della stimolazione antigenica

Il riconoscimento necessita quindi di un contatto fisico diretto tra antigene e linfocita

---

☞ Il riconoscimento può essere mediato da due tipi di linfociti:

- ***linfociti B***
- ***linfociti T***

☞ I **linfociti B** sono le cellule cardine dell'immunità umorale (anticorpi)

I **linfociti T** sono responsabili dell'immunità cellulo-mediata e della regolazione della risposta

I **linfociti B** esprimono sulla loro superficie molecole di anticorpi che possono legare proteine, polisaccaridi o lipidi esogeni in fase fluida

I **linfociti T** esprimono invece recettori che riconoscono solo brevi sequenze peptidiche nell'ambito di antigeni proteici presenti sulla superficie di altre cellule

☞ Nella maggior parte dei casi è necessaria la presentazione dell'antigene da parte di cellule specializzate

12.2.2. Fase di attivazione

☞ La fase di attivazione della risposta immune costituisce la sequenza degli eventi che si verificano nei linfociti a seguito del riconoscimento antigenico specifico

☞ I linfociti vanno incontro a modificazioni sostanziali in risposta all'antigene:

- *proliferazione*
- *differenziamento*

☞ Fenomeni collegati sono:

- *cooperazione cellulare*
- *amplificazione e localizzazione*

Proliferazione

☞

- I linfociti proliferano, provocando l'amplificazione della risposta protettiva
- Hanno la massima probabilità di essere indotti in proliferazione quelli con maggiore affinità verso l'antigene
- Di conseguenza la risposta col tempo tende a divenire complessivamente sempre più affine

Differenziamento

I linfociti si differenziano da cellule la cui funzione primaria è il riconoscimento, a cellule che devono funzionare per eliminare l'antigene:

- *i linfociti B si differenziano in cellule producenti anticorpi (**plasmacellule**)*
  - gli anticorpi secreti vanno a legarsi all'antigene solubile (extra-cellulare) opsonizzandolo, o neutralizzandolo (cioè impedendone la funzione a causa dell'ingombro sterico dell'anticorpo stesso) o attivando cellule che inneschino meccanismi di citotossicità aspecifica (antigeni di superficie cellulare)
- *i linfociti T effettori acquisiscono la capacità di lisare direttamente le cellule che producono antigeni estranei (es.: proteine virali). Questo rende l'immunità cellulo-mediata efficace verso i parassiti intra-cellulari*

Cooperazione cellulare

Sia la tolleranza che l'attivazione richiedono segnali provenienti anche da altre cellule:

- linfociti T *helper*
- linfociti T *suppressor,* linfociti T regolatori Treg
- cellule accessorie non linfocitarie, es.: APC (*antigen presenting cells*, cellule presentanti l'antigene)

Amplificazione e localizzazione

Due aspetti dell'attivazione linfocitaria consentono alle poche cellule in grado di rispondere ad ogni singolo antigene di svolgere le numerose funzioni che portano all'eliminazione dell'antigene stesso:

- il riconoscimento antigenico scatena una serie di meccanismi di amplificazione che espande rapidamente il numero delle cellule specificamente responsive all’antigene in questione
- i linfociti circolando vengono immobilizzati là dove si trova l'antigene, localizzando la risposta immune nel sito di maggior presenza dell'antigene e nelle strutture linfatiche dipendenti

12.2.3. Fase effettrice

La fase effettrice della risposta immune rappresenta lo stadio in cui i linfociti che sono stati specificamente attivati dall'antigene svolgono le funzioni che porteranno all'eliminazione dell'antigene stesso

Operatori della fase effettrice

I linfociti che operano nella fase effettrice della risposta immune sono denominati cellule effettrici

Molte funzioni effettrici richiedono l'intervento di altre cellule non linfoidi (chiamate spesso anch'esse cellule effettrici), nonché di meccanismi di difesa che intervengono anche nei processi dell'immunità naturale

- gli anticorpi si legano agli antigeni, e di conseguenza ne potenziano la fagocitosi da parte di granulociti neutrofili e di fagociti mononucleati ematici che possiedono recettori per gli immuno-complessi
- gli anticorpi attivano il sistema del complemento, che partecipa alla lisi e alla fagocitosi dei microrganismi
- altri anticorpi (IgE) sono in grado di stimolare la degranulazione dei mastociti ed il conseguente rilascio di mediatori, che sono responsabili della componente vascolare dell'infiammazione acuta
- i linfociti T attivati secernono delle proteine, chiamate citochine, che potenziano la funzione dei fagociti e stimolano la risposta infiammatoria

Infiammazione e immunità

I fagociti, il complemento, i mastociti, le citochine ed i leucociti che mediano l'infiammazione sono tutti componenti dell'immunità naturale, dal momento che

- non hanno capacità di riconoscimento specifico
- sono coinvolti nella difesa contro i microrganismi anche in assenza di una risposta immune specifica

Le risposte immunologiche specifiche servono ad amplificare e a concentrare sugli antigeni estranei una serie di meccanismi effettori che funzionano anche in assenza di attivazione linfocitaria

12.3. Il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC)

Il nome istocompatibilità (compatibilità tra tessuti) deriva da un gruppo di antigeni originariamente identificati come antigeni che evocano il rigetto degli organi trapiantati

I trapianti tuttavia sono avulsi dall'evoluzione e difatti la ragion d'essere degli antigeni di istocompatibilità è diversa: il rigetto dei trapianti, infatti, è un epifenomeno che si verifica in condizioni artificiali prodotte dalla tecnologia medica

Le molecole di istocompatibilità in una normale situazione biologica naturale esplicano la loro funzione ne:

- *l'induzione della risposta immunitaria (presentazione dell'antigene ai linfociti T)*
- *la regolazione della risposta immunitaria (costituiscono la struttura di riconoscimento del self cellulare)*
- *la regolazione di alcune funzioni non immunitarie (diversi alleli danno luogo a diversa qualità della risposta)*

12.3.1. Antigeni e geni di istocompatibilità

Le molecole di istocompatibilità ed i geni corrispondenti hanno una struttura molto complessa

I geni che codificano per gli antigeni di istocompatibilità sono in un unico *cluster* genico posto sul cromosoma 6

Il *cluster* costituisce il:	complesso maggiore di istocompatibilità (*major histocompatibility complex,* MHC)
le proteine codifiate sono:	gli antigeni HLA (*human leukocyte antigen complex*, complesso antigenico associato ai linfociti umani): questi antigeni furono dapprima identificati sui leucociti

Il sistema di istocompatibilità MHC è stato suddiviso in tre classi:

- MHC di classe I: codifica per glicoproteine di superficie di membrana
- MHC di classe II: codifica per glicoproteine di superficie di membrana
- MHC di classe III: codifica per altre proteine implicate a vario titolo nella risposta immunitaria tra cui componenti del complemento, alcune citochine (TNF- α e TNF-β), componenti dei proteasomi

Il sistema HLA è altamente polimorfico:

- 3 paia di geni codificano per la catena α delle molecole HLA I (MHC-I): HLA-A, HLA-B, HLA-C
- 3 paia di geni codificano per la catena α e la catena β delle molecole HLA II (MHC-II): HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP

HLA identico lo possiedono solo i gemelli mono-ovulari ed il 25% dei fratelli

La presenza di diversi geni polimorfici per ciascuna molecola HLA implica che ogni individuo ha un profilo genico proprio, che definisce la sua capacità di presentazione antigenica di diverse categorie di peptidi

12.3.2. La restrizione MHC

I linfociti T, oltre a riconoscere l'antigene, interagiscono e riconoscono anche le molecole MHC

Questa particolare caratteristica viene definita **restrizione MHC**

In presenza di un trapianto **allogenico** (tra individui diversi della stessa specie), i linfociti, non riconoscendo le molecole MHC presenti sulle cellule del tessuto trapiantato come molecole *self* o autologhe, attaccano le cellule del tessuto trapiantato e le uccidono

Un linfocito, durante l'ontogenesi intra-timica, viene selezionato verso le molecole MHC o HLA autologhe e reagirà al peptide antigenico non-*self* solo se questo viene presentato dallo stesso MHC autologo e non da altri tipi allogenici di MHC

Il concetto fondamentale da ricordare di questo fenomeno è quindi quello che la specificità del recettore del linfocito T viene definita sia dal peptide che dalla molecola MHC che lo presenta

12.4. Ruolo dell'HLA nell'immunità: antigeni di classe I

- Gli antigeni di classe I sono espressi su tutte le cellule nucleate e sulle piastrine, costituendo la base del riconoscimento delle cellule *self*

- Nelle cellule presentanti l'antigene, le molecole MHC di classe I si legano a quei peptidi che sono derivati da proteine intra-cellulari, (es.: antigeni virali)

  Queste proteine:

  - sono digerite a corti peptidi dai proteasomi
  - che si uniscono a molecole MHC di classe I
  - per essere esposti alla superficie cellulare

  Inducono una risposta cellulo-mediata adatta ad eliminare le cellule portatrici dell'antigene. Una risposta anticorpale verso antigeni intra-cellulari non avrebbe effetto: gli anticorpi non passano la membrana cellulare

12.4.1. Interazione con le cellule T citotossiche $CD8^+$

- Nella interazione con le cellule $CD8^+$ citotossiche il recettore della cellula T (*T cell receptor*, TCR) riconosce il complesso MHC-peptide

12.4.2. Antigeni di derivazione intra- o extra-cellulari e MHC

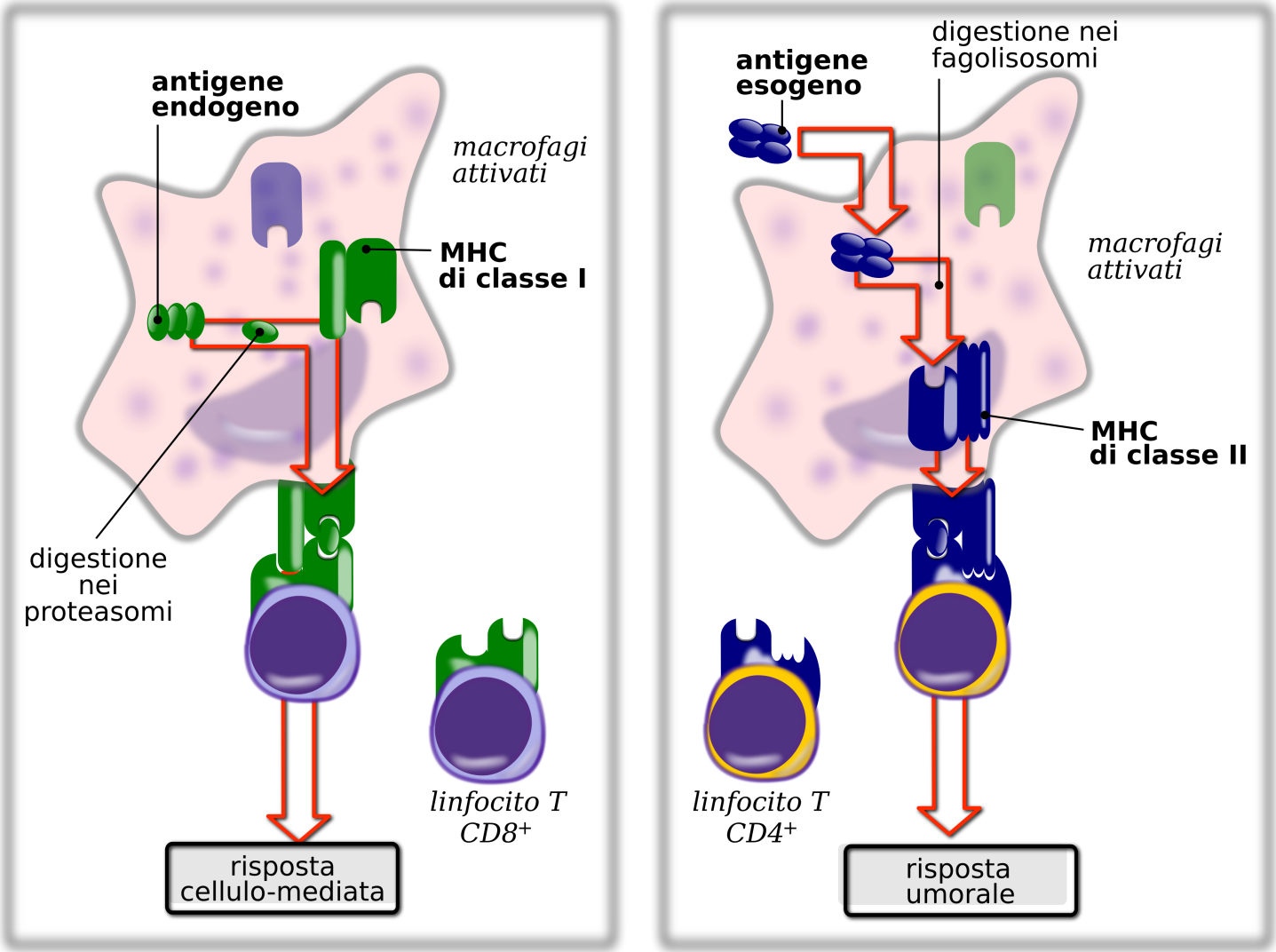


Figura 12.4. Derivazione dell'antigene e tipo di risposta

A sn. risposta ad un antigene intra-cellulare con attivazione di cellule citotossiche. Gli antigeni si trovano all'interno della cellula e vengono digeriti a corti peptidi dai proteasomi. Gli antigeni processati vengono associati a complessi MHC di classe I e portati alla superficie cellulare. La presentazione dell'antigene assieme al complesso MHC di classe I induce una risposta cellulo-mediata

A dx. risposta ad un antigene extra-cellulare con attivazione di risposta umorale. Gli antigeni vengono da vesciole fagocitosiche e vengono digeriti a corti peptide dall'attività degli enzimi lisosomiali. Vengono complessati acomplessi MHC di classe II e portati alla superficie cellulare. La presentazione dell'antigene assieme al complesso MHC di classe II induce una risposta umorale

12.5. Antigeni di classe II

12.5.1. Meccanismo d'azione delle molecole MHC di classe II

☞ Nelle cellule presentanti l'antigene le molecole di classe II presentano antigeni di provenienza esogena (microrganismi extra-cellulari, proteine solubili) che vengono prima internalizzati e processati negli endosomi e nei lisosomi

- peptidi che risultano dalla rottura proteolitica si associano a eterodimeri di classe II assemblati nel reticolo
- il complesso peptide MHC di classe II viene trasportato alla superficie cellulare dove può venire riconosciuto dalle cellule T *helper* $CD4^+$
- poiché le cellule $CD4^+$ possono riconoscere gli antigeni solo nel contesto di molecole di classe II *self* vengono definiti *class II restricted*

12.5.2. Il ruolo degli antigeni di classe II nell'induzione delle cellule T *helper*

Il ruolo degli antigeni di classe II nell'induzione delle cellule T *helper* è strettamente legato alla genetica della risposta immunitaria attraverso due meccanismi

- differenti peptidi antigenici si legano a differenti prodotti genici di classe II
- le molecole di classe II hanno un ruolo nella formazione del repertorio delle cellule T nel differenziamento timico

I meccanismo

Differenti peptidi antigenici si legano a differenti prodotti genici di classe II

Ne consegue che un individuo risponderà in maniera vigorosa ad un dato antigene solo se avrà ereditato il gene od i geni per gli antigeni di classe II in grado di legare l'antigene dato e di presentarlo alle cellule T *helper*

II meccanismo

Le molecole di classe II hanno un ruolo nella formazione del repertorio delle cellule T nel differenziamento timico

Durante il differenziamento intra-timico, solamente le cellule T in grado di riconoscere le molecole MHC *self* sono selezionate per l'esportazione in periferia

Perciò il tipo di molecole MHC che le cellule T incontrano durante il loro differenziamento influenza la capacità funzionale delle cellule T mature periferiche

12.6. HLA ed associazione con le malattie

Un gran numero di malattie sono risultate essere in associazione con determinati alleli HLA

Associazione non significa rapporto causa-effetto, ma co-presenza statisticamente significativa: un rapporto causale può essere o non essere presente

Le malattie in associazione con l'HLA possono essere divise in tre categorie

- malattie infiammatorie
- errori ereditari del metabolismo
- malattie autoimmuni

I meccanismi di questa associazione sono ancora poco chiari, anche se l'associazione con malattie autoimmuni in qualche modo può essere ricondotta alla funzione dell'HLA nella risposta immunitaria e nel riconoscimento del *self*

12.6.1. Associazioni più comuni tra HLA e malattie e rischio relativo

Per rischio relativo si intende di quante volte è maggiore la frequenza della patologia in esame tra i portatori del *marker* associato rispetto alla popolazione generale

Perciò se una malattia è molto rara nella popolazione anche un incremento di dozzine di volte non renderà la probabilità complessiva di ammalarsi da parte del portatore del *marker* molto elevata

Al contrario un aumento anche piccolo della frequenza di una malattia comune nella popolazione generale, può significare un aumento molto significativo della probabilità di ammalarsi per i portatori del *marker*

Tabella 12.17: Associazione HLA e malattie

Malattia	Allele HLA associato	Rischio relativo
Spondilite anchilosante	B27	87.4
Artrite post-gonococcica	B27	14.0
Uveite anteriore acuta	B27	14.6
Artrite reumatoide	DR4	5.8
Epatite cronica attiva	DR3	13.9
Sindrome di Sjögren primaria	DR3	9.7
Diabete insulino-dipendente	DR3, DR4, DR3/DR4	5.0, 6.9, 14.3
Emocromatosi	A3	8.2

12.7. Generazione della diversità: il meccanismo della selezione clonale

- *Ogni individuo possiede un numero elevatissimo di cloni linfocitari, ciascuno dei quali derivato da un singolo precursore e capace di riconoscere e rispondere in modo ottimale ad un singolo determinante antigenico*
- *L'espansione di cloni linfocitari antigene-specifici si verifica prima dell'esposizione all'antigene, ed in maniera del tutto indipendente da esso*
- *Le cellule che compongono un determinato clone hanno un identico recettore per l'antigene, diverso dai recettori presenti sulle cellule di tutti gli altri cloni*
- *Sebbene sia difficile definire il numero di determinanti antigenici che possono essere riconosciuti dal sistema immunitario dei mammiferi, una stima attendibile si aggira nell'ordine di 1011; è questa un'approssimazione ragionevole del numero potenziale di proteine recettoriali che possono essere prodotte, e riflette quindi probabilmente il numero di cloni linfocitari diversi presenti in ogni individuo*
- *L'antigene seleziona un clone specifico preesistente e lo attiva, provocandone la proliferazione e la differenziazione in cellule effettrici e della memoria*
- *Cloni di specificità diversa sono attivati in maniera selettiva dai differenti antigeni*

- antigeni diversi si legano a linfociti diversi, e due antigeni estranei strutturalmente diversi non si legano ad una medesima cellula
- in linfociti con specificità diverse, i recettori per l'antigene hanno siti combinatori differenti
- ogni tumore linfoide (o linea cellulare) monoclonale contiene geni per il recettore dell'antigene, ed esprime recettori assolutamente unici, diversi rispetto a tutte le altre popolazioni monoclonali

12.7.1. Evoluzione di una risposta B ad un agente infettivo

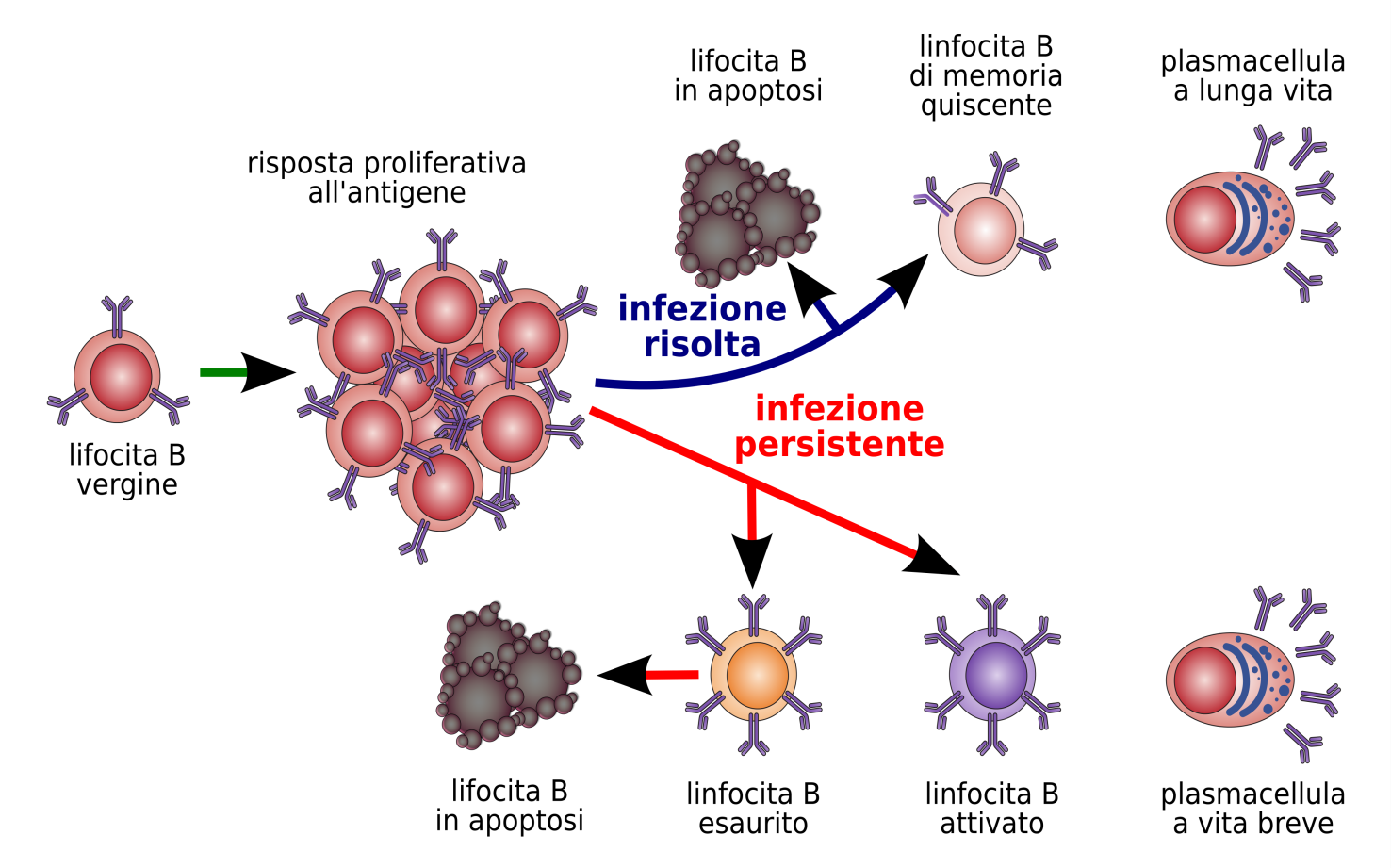


Figura 12.5. Evoluzione di una risposta B ad un agente infettivo

Il destino dei cloni espansi di linfociti B in una risposta immunitaria dipende dalla efficacia dell'eliminazione dell'antigene

Se l'infezione viene risolta, la massa linfocitaria specifica si riduce per apoptosi da mancanza di stimoli: rimangono solo un limitato numero di cellule di memoria a lunga vita

Se l'infezione non si risolve accanto a linfociti attivati abbiamo anche l'apoptosi di linfociti “esauriti” a fine vita

Definizione di superantigene

Superantigeni di definiscono antigeni in grado di provocare una risposta policlonale in quanto si legano al recettore linfocitario non nella tasca di legame per l'antigene ma ad una parte costante della struttura del recettore stesso e quindi presente su molti recettori indipendentemente dalla loro specificità

12.8. Meccanismi di regolazione della risposta T

12.8.1. Meccanismi periferici di regolazione

Meccanismi regolatori periferici controllano la dimensione e la classe delle risposte immuni e discriminano il *self* dal *non-self*

Meccanismi omeostatici (nell'attivazione dei linfociti T indotta dall'antigene) controllano la dimensione e la classe delle risposte immuni:

- linfociti T *helper* tipo 1 (Th1)
- linfociti T *helper* tipo 2 (Th2)
- linfociti T regolatori tipo 1 (Tr1)
- linfociti T regolatori tipo 3 (Tr3)

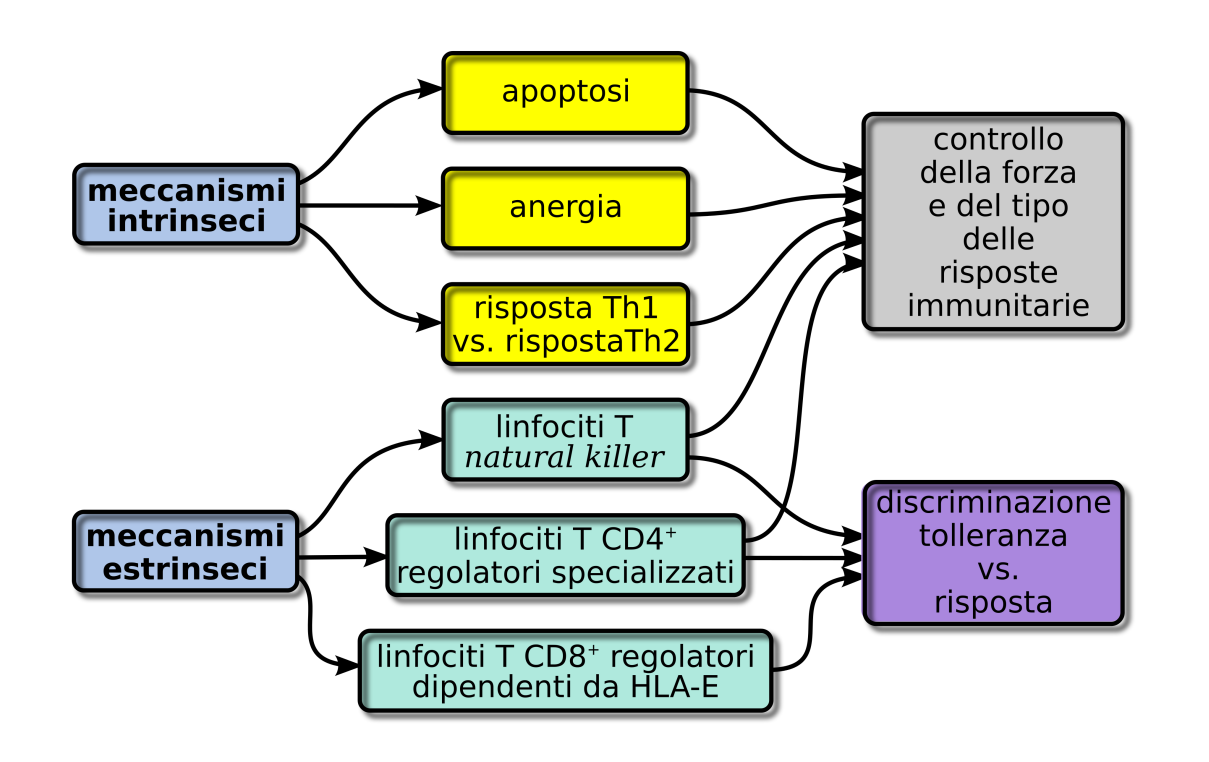


Figura 12.6. Meccanismi di regolazione. Liberamente tratto da Jiang (2006)

I meccanismi regolatori periferici includono:

- morte cellulare indotta dall'antigene (apoptosi)
- anergia (totale mancanza di risposta anche sotto stimolazione specifica)
- secrezione di citochine

12.8.2. Meccanismi intrinseci di controllo dell'attivazione dei linfociti T indotta dall'antigene

Meccanismi di controllo omeostatici vengono indotti durante l'attivazione iniziale dei linfociti T quando i recettori delle cellule T entrano in contatto con l'MHC (*major histocompatibility complex*, sistema maggiore di istocompatibilità) ed il peptide antigenico

L'attivazione dei linfociti T dipende dal legame del recettore a

- complessi MHC
- molecole costimolatorie

Questi eventi iniziali influenzano

- espansione
- funzione
- morte
- differenziamento in sottogruppi di linfociti T *helper* (Th) o T regolatori (Treg) che secernono diversi spettri di linfochine regolatorie

Questi meccanismi funzionano in assenza di linfociti T *suppressor*

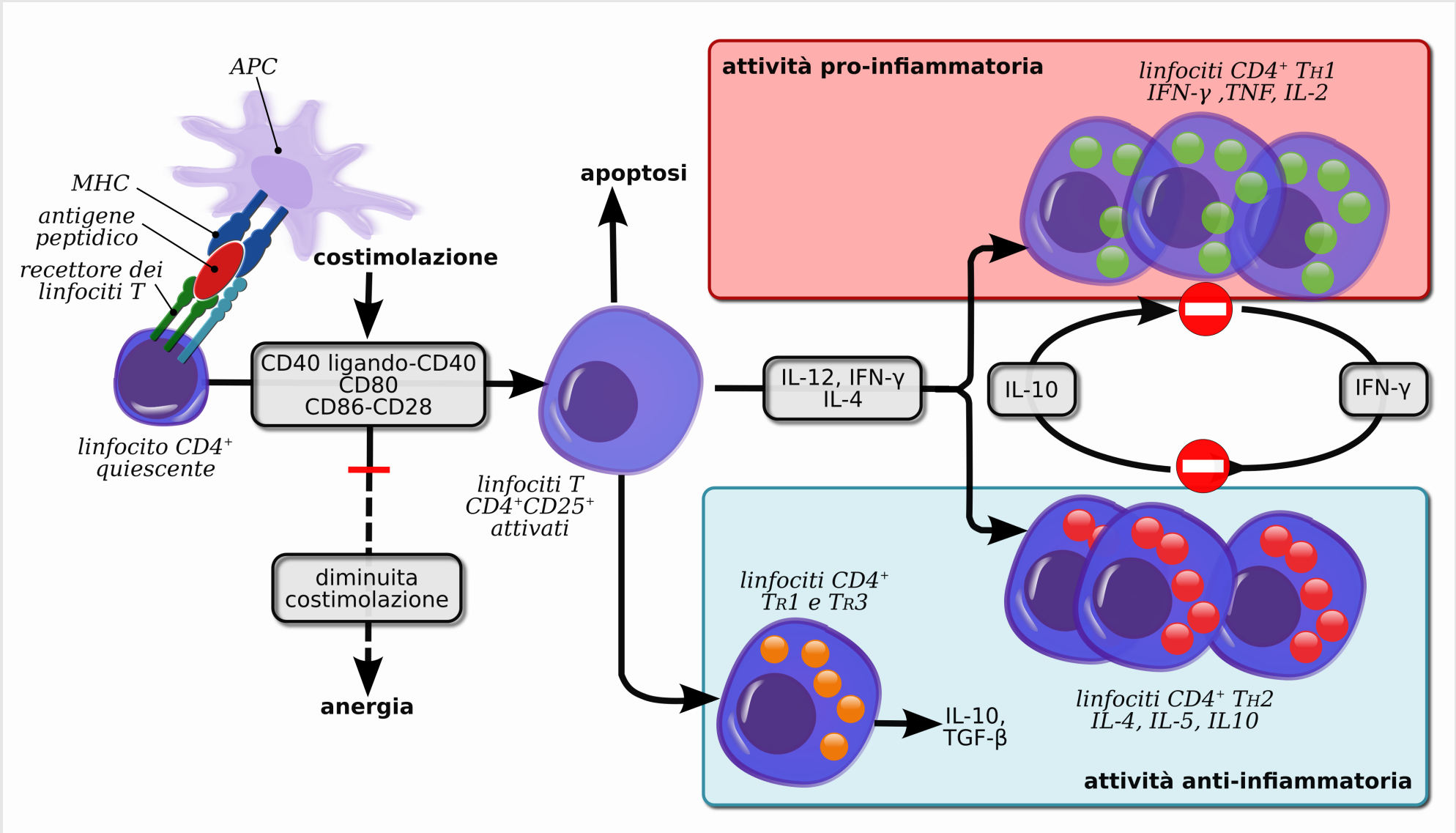


Figura 12.7. Meccanismi intrinseci di controllo dell'attivazione dei linfociti T indotta dall'antigene. Modificato da Jiang (2006). APC: antigen presenting cell *(cellula presentante l'antigene); TGF:* transforming growth factor*; IFN: interferone; IL: interleuchina*

12.8.3. Controllo dei linfociti T attivati da parte dei linfociti T *suppressor*

Sovrapposti ai meccanismi omeostatici intrinseci ci sono le vie di immuno-regolazione mediate da sottogruppi di linfociti T *suppressor*, tra cui

- cellule *natural killer* (NK)
- linfociti $CD4^+$
- linfociti $CD8^+$

Ciascuno di questi sottogruppi di cellule T regolatorie esprime recettori diversi, usa meccanismi effettori differenti, ed esercita la sua funzione in modo predominante in tempi diversi durante la risposta immunitaria

- le cellule NK ed i linfociti $CD4^+$ regolatori sono coinvolti nel controllo dell'ampiezza e della classe della risposta immunitaria
- i linfociti $CD8^+$ sono coinvolti nella discriminazione *self/non-self*

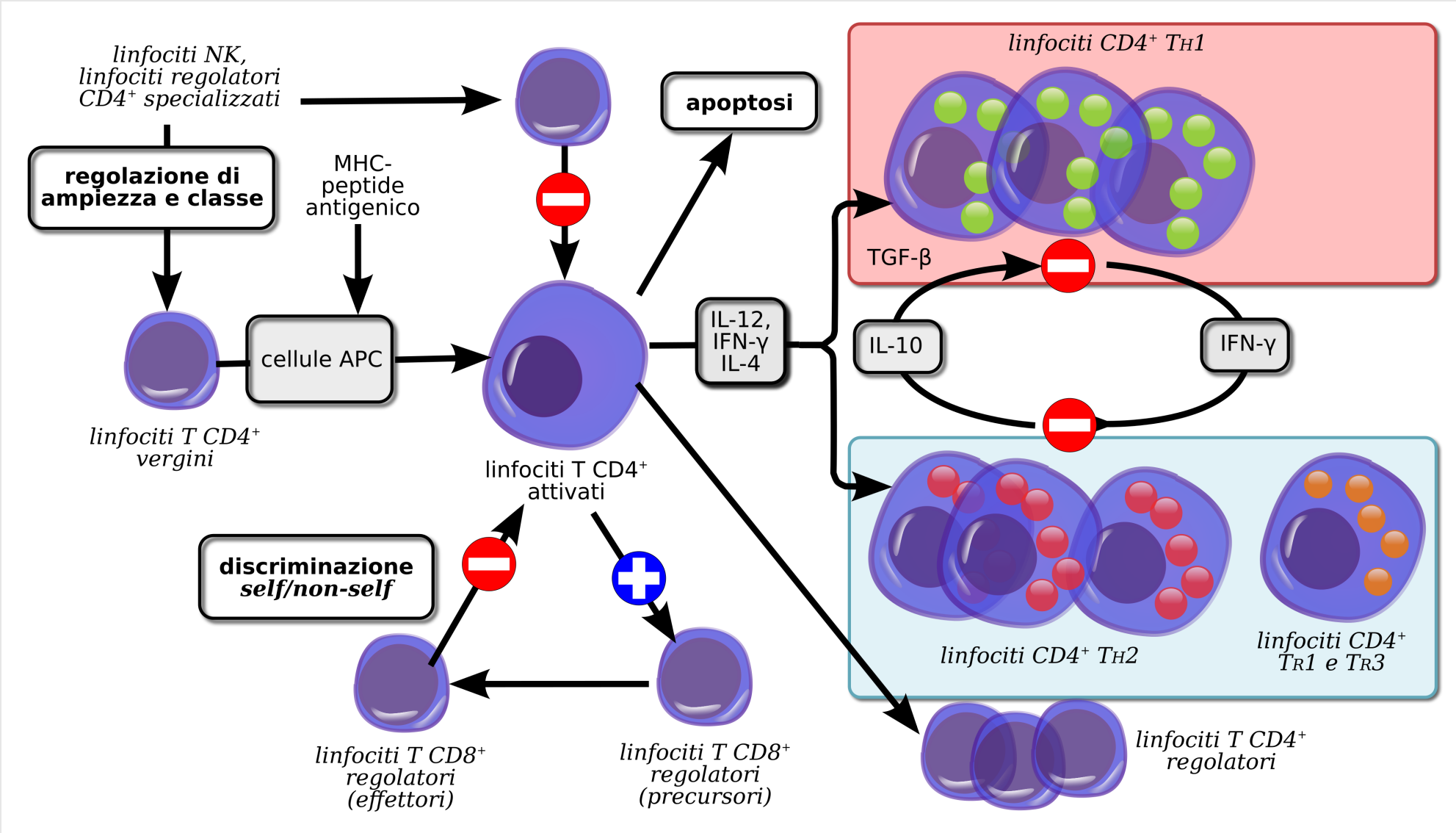


Figura 12.8. Controllo dei linfociti T attivati da parte dei linfociti Treg. Liberamente tratto da Jiang (2006). APC: antigen presenting cell *(cellula presentante l'antigene); MHC:* major histocompatibility complex *(complesso maggiore di istocompatibilità); IFN: interferone, TGF:* transforming growth factor *(fattore di trasformazione dei fibroblasti); TH linfociti T* helper*; TR: linfociti T regolatori*

12.8.4. Via regolatoria mediata dalle cellule CD8$^+$ dipendenti da HLA-E

La via regolatoria mediata dalle cellule CD8$^+$ dipendenti da HLA-E viene innescata dall'attivazione dei linfociti T indotta dall'antigene durante la risposta immunitaria primaria

Una delle conseguenze dell'attivazione iniziale dei linfociti T è rappresentata dall'espressione differenziale di determinati peptidi *self* HLA-E espressi in funzione dell'avidità delle cellule T durante l'attivazione iniziale

Questi complessi con peptidi *self*, che sono espressi preferenzialmente sui linfociti con avidità intermedia, servono come bersaglio riconosciuto dai linfociti CD8$^+$ regolatori

Queste strutture bersaglio innescano il differenziamento in linfociti ad attività *suppressor* dei linfociti CD8$^+$

I linfociti CD8$^+$ regolatori ad attività *suppressor* operano una *down regulation* specifica sui linfociti T con avidità intermedia che esprimono la stessa struttura bersaglio durante la risposta secondaria

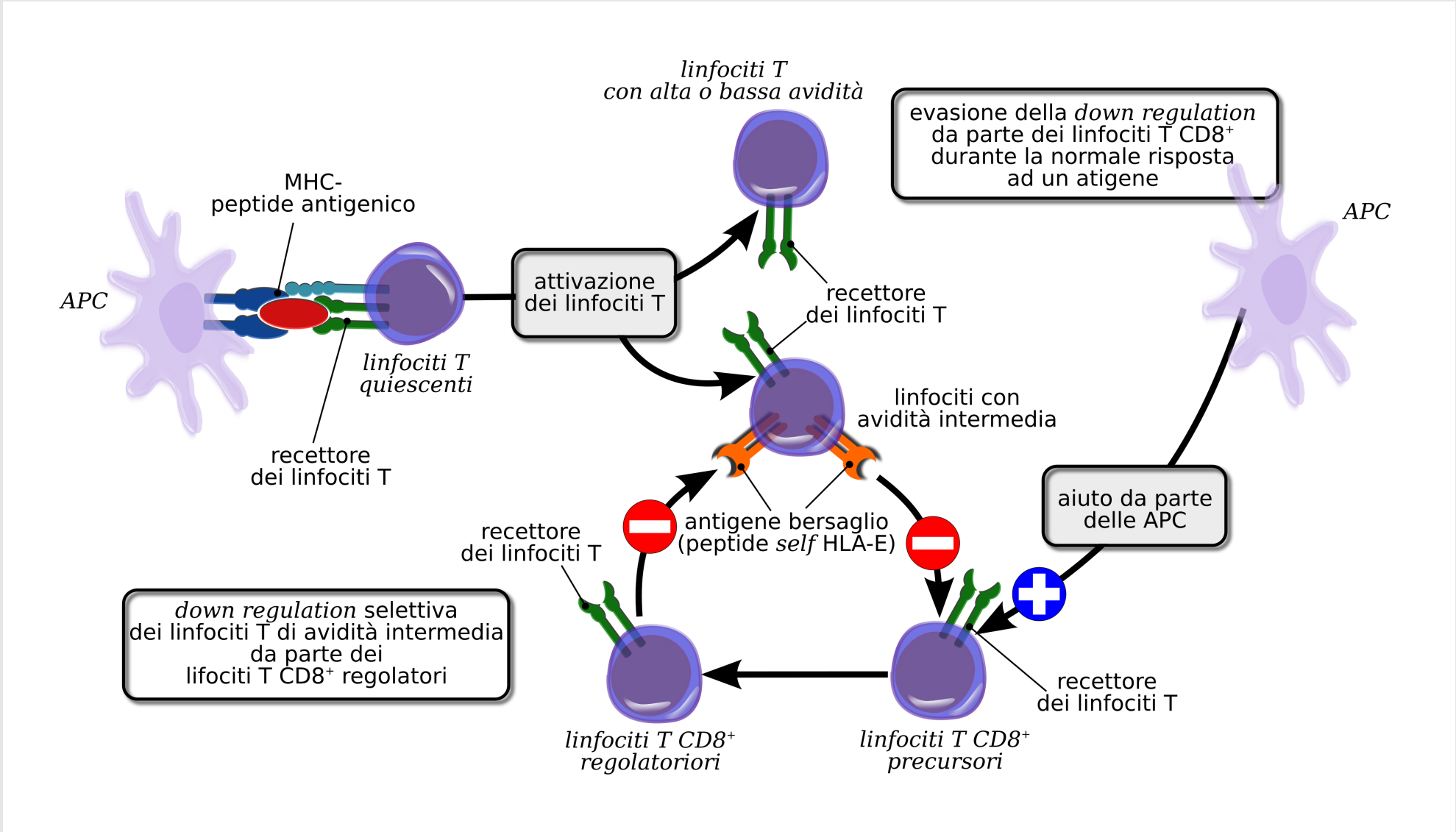


Figura 12.9. Via regolatoria mediata dalle cellule CD8⁺ dipendenti da HLA-E. Liberamente tratto da Jiang (2006). APC: antigen presenting cell *(cellula presentante l'antigene)*

12.9. Produzione di citochine

☞ Il passaggio di informazione tra le cellule della risposta immunitaria può avvenire per contatto diretto (raro) o più frequentemente attraverso il rilascio di citochine (definite interleuchine) verso le quali ogni tipo cellulare presenta un diverso spettro di recettori

12.9.1. Induzione di risposte non immunitarie

☞ Le citochine immunitarie sono responsabili del coinvolgimento di altri organi e sistemi non immunitari, predisponendo l'intero organismo alla difesa contro la potenziale *noxa* scatenante

☞ Le proteine di fase acuta prodotte dalle cellule epatiche in risposta al rilascio di IL-6 da parte dei macrofagi in presenza di batteri includono:

- la proteina amiloide sierica (*serum amyloid protein*, SAP)
- la proteina C-reattiva (*C-reactive protein*, CRP)
- la proteina legante il mannoso (*mannose-binding protein*, MBP)
- il fibrinogeno

☞ Il *tumor necrosis factor* (TNF) è responsabile insieme ad altre citochine della sindrome cachettica, quando venga prodotto massicciamente per periodi di tempo prolungato come avviene nelle fasi terminali di molti tumori maligni o dell'AIDS

12.9.2. Attività delle interleuchine IL-1 e IL-6

- Le interleuchine IL-1 e IL-6 hanno un ampio spettro di attività biologiche che aiutano a coordinare ed amplificare le risposte all'infezione

  L'amplificazione della risposta serve per eliminare l'infezione, ma inevitabilmente provoca danno all'ospite

- IL-6 attiva gli epatociti a sintetizzare proteine di fase acuta, IL-1 coopera inducendo la produzione di IL-6 da parte delle cellule del Kupffer (macrofagi tissutali epatici)

  Alcune proteine di fase acuta agiscono come opsonine, ed il livello della fagocitosi viene innalzato ulteriormente da un aumentato richiamo di neutrofili dal midollo osseo

- IL-1 e IL-6 sono pirogeni endogeni: aumentano cioè la temperatura corporea
  - IL-1 e IL-6 agiscono sull'ipotalamo alterando la regolazione della temperatura corporea
  - IL-1 e IL-6 agiscono sui tessuti muscolare ed adiposo, con la mobilizzazione di energia per l'innalzamento della temperatura corporea stessa (ad elevate temperature la replicazione batterica e quella virale sono rallentate, mentre la processazione dell'antigene viene accelerata)

- IL-1 e IL-6 aiutano l'attivazione dei linfociti B e T, la quale, insieme con l'accresciuta processazione dell'antigene, innesca ed accelera la risposta immunitaria adattativa

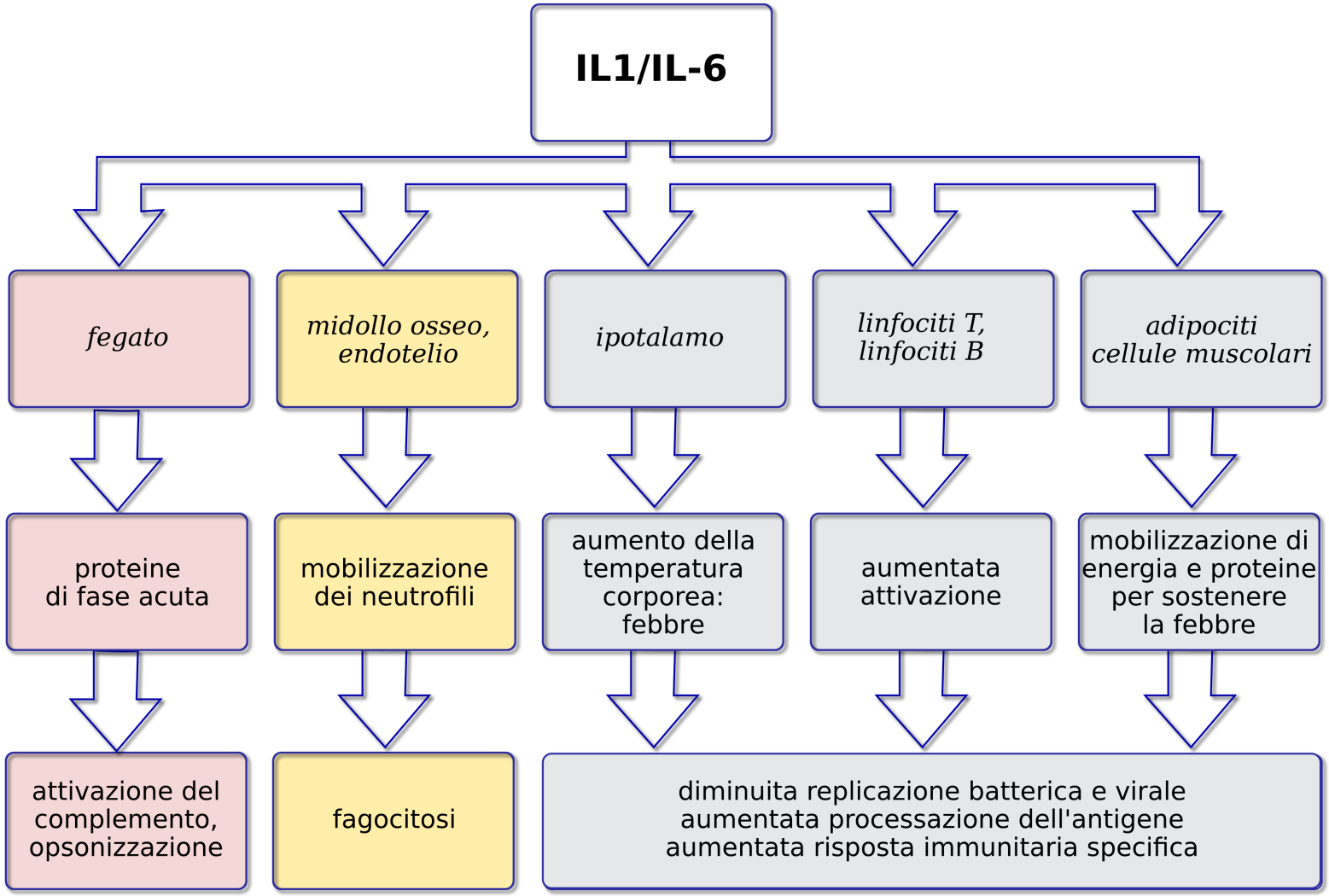


Figura 12.10. IL-1 e IL-6 . Gli effetti pleiotropici delle interleuchine inducono sinergisticamente un potenziamento molto significativo delle capacità di difesa. Liberamente tratto da Jenaway (1994)

12.9.3. Citochine particolari: gli interferoni

Tabella 12.18: Classificazione semplificata degli interferoni (IFN)

IFN di tipo I	recettore	cellula secernente	azione
IFN-α	IFN-α recettore (IFNAR)	primariamente leucociti	
IFN-β		cellule non immuni	
altri interferoni: IFN-κ, IFN-δ, IFN-ε, IFN-τ, IFN-ω, IFN-ζ		cellule dendritiche, macrofagi,linfociti, cellule NK, fibroblasti, osteoclasti	
IFN di tipo II			
isotipo unico: IFN-γ	IFN-γ recettore (IFNGR)	linfociti T attivati linfociti Th1 cellule NK	• potenzia gli effetti degli IFN tipo I • stimola i macrofagi a uccidere i batteri fagocitati • regolazione della risposta immune
IFN di tipo III			
IFN-λ (vari sottotipi) MAF *macrophage-activating factor*	IFNLR1 (alias CRF2-12)	gli IFN-λ sono prodotti da cellule dendritiche sono indotti da altri interferoni	• hanno azione antivirale
IFN specifici			
IFN-β1a, IFN-β1b			• trattamento della sclerosi multipla

12.10. Risposte immunitarie cellulari non adattative

Le risposte cellulari non adattative sono molto simili alle risposte adattative fatta eccezione per il fatto che non vengono indotte dalla variazione antigenica e sono rivolte contro strutture comuni a molte cellule, organismi, o prodotti di questi ultimi

Sono quindi chimicamente specifiche, ma non biologicamente specifiche

La presenza di questa risposta preformata si giustifica evolutivamente con la frequenza della struttura attivante la risposta: se tutti i soggetti prima o poi vengono in contatto con questa struttura è più economico ed efficiente prevedere una risposta già preformata

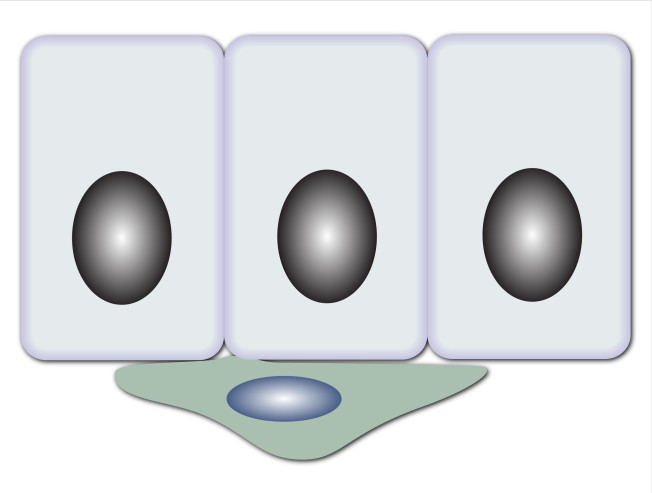
- le **cellule B1** formano una popolazione di linfociti B specifiche per prodotti batterici comuni
- nella maggior parte degli epiteli si trovano cellule T che presentano i recettori **T γ:δ** che contribuiscono alla difesa dell'ospite alla superficie del corpo
- le cellule ***natural killer*** servono come una difesa precoce contro alcune infezioni intra-cellulari

12.10.1. Le cellule B 1

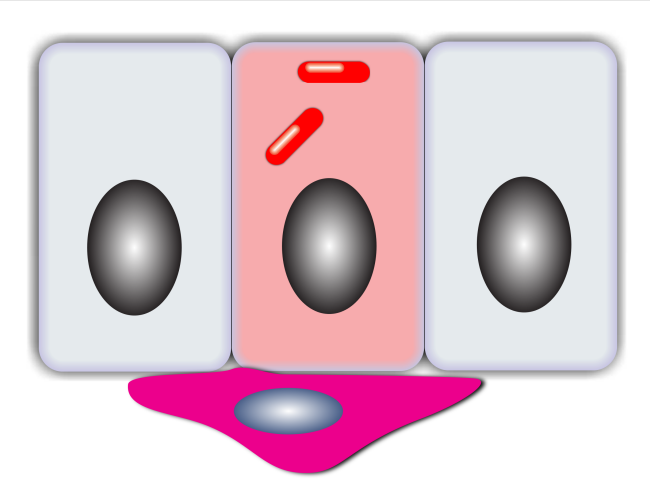
Le cellule B 1 che hanno una variabilità del recettore per l'antigene estremamente limitata sono importanti nella risposta agli antigeni carboidrati comuni come i polisaccaridi batterici

- queste risposte sono rapide, con anticorpi che compaiono entro 24 ore, presumibilmente perché c'è una alta frequenza di precursori tutti uguali, così che è richiesta poca espansione clonale
- in assenza di un aiuto da parte delle cellule T antigene-specifiche, si producono solo IgM e queste risposte perciò operano attraverso l'attivazione del complemento

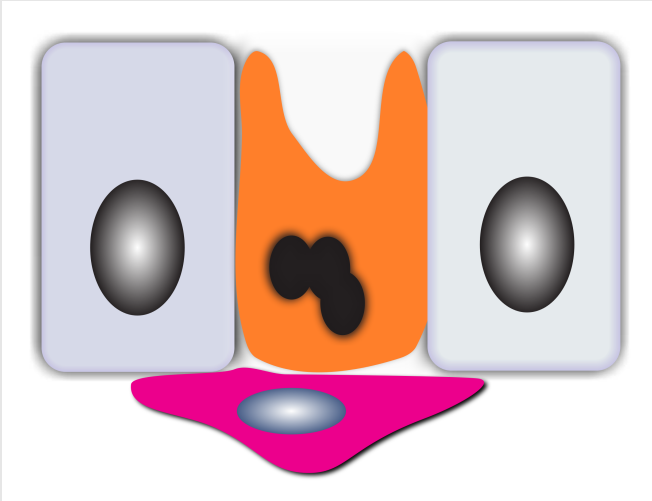
12.10.2. Le cellule T γ:δ



Le cellule T γ:δ che si repertano nell'epidermide sono linfociti a specificità unica. I loro processi entrano in contatto direttamente con la singola cellula epiteliale



L'infezione delle cellule epiteliali attiva le cellule T γ:δ tramite l'espressione di proteine di membrana legate allo stress *e a recettori per le stesse proteine presenti sulle cellule T γ:δ*



Le cellule epiteliali infette vengono mandate in apoptosi dalle cellule T γ:δ senza reazione flogistica, con danno ridotto e blocco della diffusione dell'agente patogeno o dell'infezione

Figura 12.11. Cellule T γ:δ

12.10.3. Cellule *natural killer*

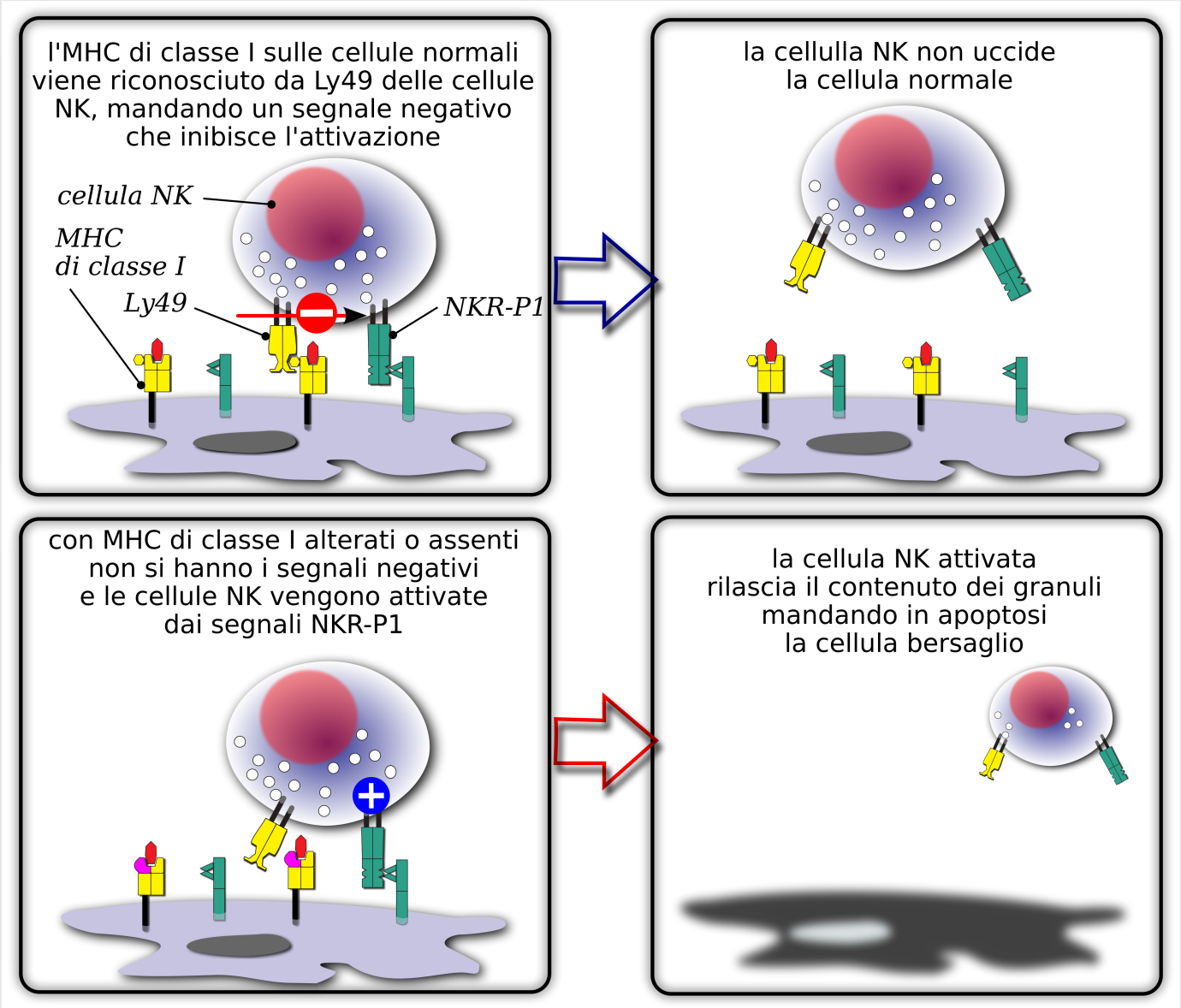


Figura 12.12. Cellule natural killer, *NK*

- La cellula NK non attacca le cellule che riconosce autologhe
- Perché la cellula *natural killer* si attivi è necessario che si leghi alla superficie di una cellula senza che avvenga un corretto riconoscimento del self
- Le cellule che non sono in grado di esprimere un *self* corretto sono generalmente infette da virus o hanno subito una trasformazione neoplastica
- In entrambe queste situazioni si ha spesso una alterazione dell'esposizione delle molecole del MHC

12.11. Principali fonti utilizzate

Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S. (2000). Cellular and molecular immunology. IV ed. W.B. Saunders, Philadelphia

Haynes, B.F., Soderberg, K.A., Fauci, A.S. (2008) Introduction to the immune system. In: Fauci, A.S., Braunwald, E., Kasper, D.L., Hauser, S.L., Longo, D.L., Jameson, J.L., Loscalzo, J. (eds.) Harrison's principles of internal medicine. XVII ed. Mc Graw Hill, New York. Pp. 2019-2045

Janeway, C.A., Travers, O. (1994) Immunobiology: the immune system in health and disease. Garland, New York

Jiang, H., Chess, L. (2006) Regulation of Immune Responses by T Cells. N. Engl. J. Med. 354, 1166-1176

Lakhani, S.R., Dilly, S.A., Finlayson, C.J. (2009) Basic pathology. An introduction to the mechanisms of disease. IV ed. Arnold, London

Lakhani, S.R., Dilly, S.A., Finlayson, C.J., Dogan, A. (2003) Basic pathology. An introduction to the mechanisms of disease. III ed. Arnold, London

Licastro, F., Chiappelli, M. (2008) Quick review: immunologia. EdiSES, Napoli

Nepom, G.T. (2008) The major histocompatibility complex. In: Fauci, A.S., Braunwald, E., Kasper, D.L., Hauser, S.L., Longo, D.L., Jameson, J.L., Loscalzo, J. (eds.) Harrison's principles of internal medicine. XVII ed. Mc Graw Hill, New York. Pp. 2045-2053