

## IMMUNITÀ INNATA (immunità naturale o nativa)

È sempre presente nei soggetti sani.

La prima linea di difesa è garantita dalle barriere epiteliali, da cellule specializzate e da sostanze naturali con attività antibiotica presente negli epiteli. Nel caso in cui riescono a superare l'epitelio e a penetrare nei tessuti o in circolo, i microbi vengono attaccati da fagociti, da linfociti specializzati chiamati cellule Natural Killer (NK) e da molte proteine plasmatiche (sistema del complemento).

Le cellule dell'immunità innata riconoscono strutture condivise da diverse classi di microbi.

Le componenti dell'immunità innata riconoscono profili molecolari che sono condivisi da varie classi di microrganismi e non sono espressi dalle cellule dell'ospite (lipopolisaccaride o LPS o endotossina, residuo terminale di mannosio, RNA a doppia elica).

Le molecole bersaglio dell'immunità innata vengono chiamate *profili molecolari associati ai patogeni* (PAMP), i quali sono condivisi da microbi dello stesso tipo. I recettori dell'immunità innata che riconoscono queste strutture sono chiamati *recettori per i profili molecolari* (PRR).

Le componenti dell'immunità innata riconoscono strutture dei microbi che spesso sono essenziali per la sopravvivenza e l'infettività degli stessi microrganismi.

Il sistema dell'immunità innata può riconoscere anche le molecole che sono rilasciate da cellule danneggiate o necrotiche, portando alla loro eliminazione: tali molecole sono chiamate *profili molecolari associati al danno* (DAMP).

I recettori dell'immunità innata sono codificati nella linea germinale e non sono prodotti mediante ricombinazione di geni. Inoltre i recettori sono distribuiti in modo non clonale, vale a dire tutte le cellule simili esprimono recettori identici.

*L'immunità innata non reagisce verso l'ospite.*

L'immunità innata in genere risponde in modo simile a successivi incontri con un determinato microrganismo, mentre l'immunità adattativa migliora la propria capacità di riconoscere un microbo a ogni incontro successivo.

Le due principali risposte dell'immunità innata sono *l'infiammazione (reclutamento e attivazione dei leucociti)* e *la difesa antivirale (mediato dalle cellule NK e da citochine)*.

## BARRIERE EPITELIALI

Le principali vie d'ingresso dei microbi quali la cute, il tratto gastrointestinale e respiratorio, sono protette da epiteli continui che costituiscono barriere fisiche e chimiche contro l'infezione.

Gli epiteli contengono linfociti T che esprimono recettori composti da catene  $\gamma\delta$ ; questi riconoscono strutture lipidiche microbiche e altre strutture condivise da microbi dello stesso tipo.

### Recettori per i microrganismi

Sono espressi dai fagociti, dalle cellule dendritiche, dai linfociti e dalle cellule epiteliali ed endoteliali che partecipano alla difesa verso le varie classi di microrganismi.

Questi recettori sono espressi nei differenti compartimenti cellulari dove i microbi possono essere localizzati (superficie cellulare, reticolo endoplasmatico, endosomi, citoplasma).

- **Recettori Toll-Like (TLR)** sono specifici per differenti componenti microbiche

- TLR-2 per i lipoglicani batterici
- TLR-3, -7, -8 per gli acidi nucleici virali
- TLR-4 per il LPS batterico
- TLR-5 per la flagellina (proteina del flagello batterico)
- TLR-9 per tratti polinucleotidici ricchi di CG non metilati abbondanti nei batteri

L'attivazione di questi recettori stimola l'espressione di geni codificanti per citochine, enzimi e altre proteine coinvolte nelle risposte antimicrobiche. I principali fattori trascrizionali attivati sono:

↳ Il fattore nucleare  $\kappa B$  ( $NF-\kappa B$ ) che promuove l'espressione di varie citochine e molecole di adesione endoteliali.

↳  $IRF-3$  (*interferon response factor-3*) che stimola la produzione degli interferoni di tipo I.

- Altri recettori sono in grado di riconoscere i peptidi che iniziano con N-formil-metionina (caratteristica peculiare delle proteine batteriche).
- Recettori per il mannosio
- molti dei recettori citoplasmatici riconoscono acidi nucleici virali o peptidi batterici.
- Altri recettori citoplasmatici riconoscono sia i microbi sia le componenti delle cellule morte (acido urico, DNA). Alcuni di questi recettori sono associati a un complesso multiproteico chiamato *inflammosoma*.

## FAGOCITI: NEUTROFILI E MONOCITI/MACROFAGI

I **neutrofili** (leucociti polimorfonucleati) sono i leucociti più abbondanti nel sangue e rappresentano la prima linea di difesa contro le infezioni, in particolare quelle batteriche e fungine. In risposta a un'infezione si ha un rapido incremento nella produzione dei neutrofili nel midollo osseo, stimolata da citochine conosciute come fattori che stimolano le colonie (CSF).

I **monociti** sono meno abbondanti e sono presenti nel sangue e nei tessuti. A differenza dei neutrofili sopravvivono per lunghi periodi nei tessuti extravascolari, dove si differenziano in **macrofagi**.

I macrofagi residenti in un tessuto rispondono ad un microbo con la produzione di citochine (TNF e IL-1 oltre a citochine chemiotattiche [chemochine]) le quali agiscono localmente sulle cellule endoteliali stimolando l'espressione delle molecole di adesione, E-selectina e P-selectina. Il legame con queste molecole è labile e il flusso sanguigno lo scinde e si riforma più a valle producendo il *rotolamento* (*rolling*) dei leucociti sulla superficie endoteliale. I leucociti esprimono anche un'altra famiglia di molecole di adesione chiamate *integrine*; nei leucociti non attivati sono in uno stato di bassa affinità. Le chemochine prodotte sono in grado di "attivare" le integrine dei leucociti in *rolling*. Contemporaneamente, il TNF e l'IL-1 inducono l'espressione al livello endoteliale dei ligandi delle integrine; l'adesione stabile arresta il rotolamento dei leucociti.

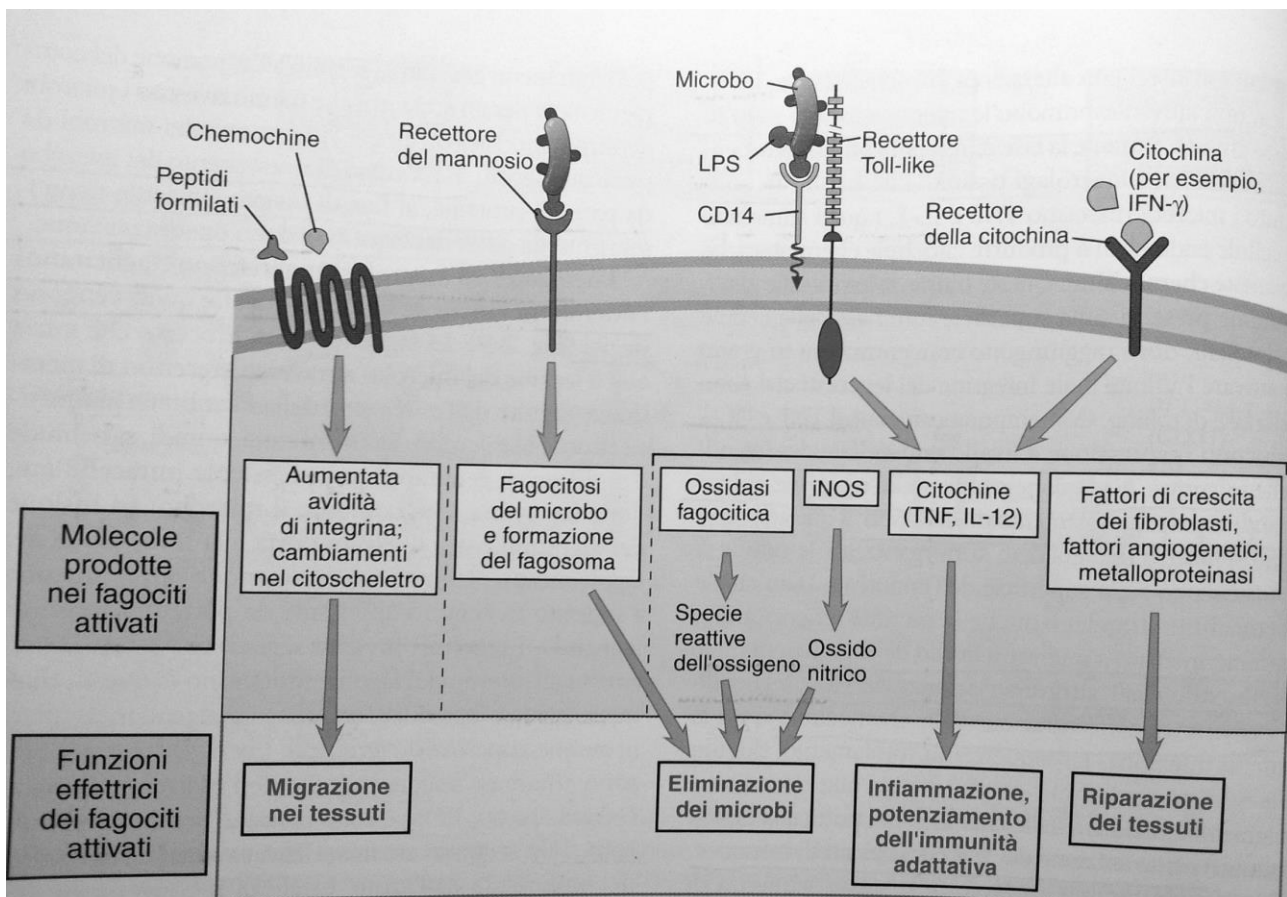
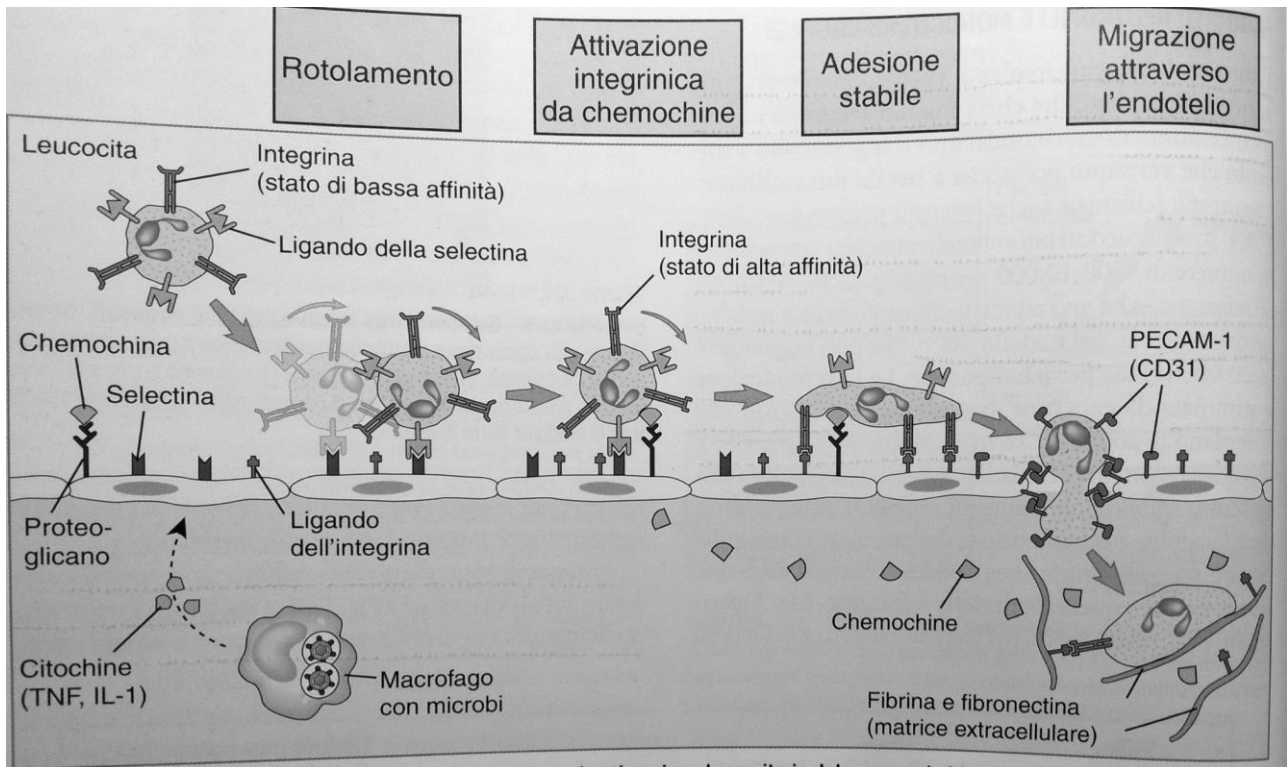
I leucociti iniziano a migrare al livello delle giunzioni tra le cellule endoteliali, seguendo il gradiente di concentrazione delle chemochine; ciò porta all'extravasazione dei leucociti nei siti di infezione. La stessa sequenza di eventi è responsabile della migrazione dei linfociti T attivati.

I macrofagi sono capaci di reclutare e attivare i linfociti attraverso la produzione di citochine; inoltre migliorano l'immunità adattativa e rispondono ai prodotti delle cellule T agendo come effettori dell'immunità cellulo-mediata. Infine i macrofagi secernono fattori di crescita ed enzimi coinvolti nel meccanismo di riparo dei tessuti danneggiati e nella loro sostituzione con tessuto connettivo.

I neutrofili e i macrofagi presentano recettori coinvolti nell'attivazione, quali:

- TLR,
- recettori per i peptidi formilati
- recettori di alcune integrine (principalmente per  $IFN-\gamma$ , Chemochine)
- recettori per il mannosio (coinvolti nell'attivazione e nella fagocitosi)
- recettori spazzino (scavenger) (coinvolti nell'attivazione e nella fagocitosi)
- recettori per i frammenti generati dall'attivazione del complemento
- recettori per gli anticorpi che hanno rivestito i microbi (opsonizzazione)

I fagociti una volta ingeriti i microbi li degradano grazie alle sostanze lisosomiali quali: ROS, NO e proteasi. In alcuni casi, gli stessi enzimi e i ROS possono essere liberati nello spazio extracellulare, causando danno tissutale.



## CELLULE DENDRITICHE

Le cellule dendritiche (DC) sono cellule APC specializzate nella cattura di antigeni. A differenza dei macrofagi, esse non sono in grado di fagocitare l'antigene, ma lo espongono sulla propria superficie in seguito all'interazione con esso.

A particolari livelli di sviluppo, danno origine a estensioni ramificate, i dendriti, che danno alla cellula il suo nome.

### Tipi

I due tipi principali sono: le DC convenzionali e le DC plasmacitoidi. Ogni DC può poi essere classificata come matura o immatura a seconda che abbia o meno incontrato l'antigene. Le cellule immature in genere non possono attivare i linfociti T, ma possono esporre antigeni self per selezionare quelli più autoreattivi.

### DC convenzionali

Le cellule dendritiche convenzionali (DC mieloidi) derivano da progenitori midollari e costituiscono la maggiore sottopopolazione di DC. Hanno la capacità unica di migrare negli organi linfoidi secondari dopo aver incontrato l'antigene per esporlo sulla superficie ed attivare i linfociti T. Le cellule dendritiche presenti negli epiteli sono denominate cellule di Langerhans, mentre negli altri tessuti DC interstiziali o dermiche.

### DC plasmacitoidi

Le cellule dendritiche plasmacitoidi assomigliano alle plasmacellule e subiscono una trasformazione morfologica dopo attivazione. Di numero limitato sono presenti nelle zone T della milza e dei linfonodi dove secernono grandi quantità di INF di tipo I.

### DC follicolari

Le cellule dendritiche follicolari si trovano solamente nei follicoli linfoidi e presentano diverse differenze rispetto alle altre DC. Esprimono diversi recettori per il complemento e per le Fc delle immunoglobuline. Non sono di origine midollare e non esprimono molecole MHC di classe II. Presentano comunque lunghi processi citoplasmatici che però vanno a formare un'intelaiatura che fa da base per il centro germinativo dei follicoli. I linfociti B che proliferano con elevata velocità vanno a costituire una zona più scura nel centro germinativo che presenta poche FDC. I pochi linfociti B non proliferanti, invece, migrano verso la zona chiara del centro, ricca di FCD, con le quali entrano in contatto insieme ai linfociti T follicolari.

### Funzioni

Le cellule dendritiche sono presenti in piccole quantità nei tessuti a contatto con l'ambiente esterno, principalmente la pelle (Cellula di Langerhans). Possono anche essere trovate in uno stato immaturo nel sangue. Una volta attivate, migrano nei tessuti linfoidi dove interagiscono con le cellule T e le cellule B per dare avvio e configurare la risposta immunitaria adatta.

## CELLULE NATURAL KILLER (NK)

Sono una classe di linfociti che riconosce e uccide le cellule infettate e danneggiate. L'attivazione delle cellule NK innesca il rilascio di proteine contenute nei granuli citoplasmatici, le quali sono in grado di penetrare nelle cellule bersaglio e innescare l'apoptosi (i meccanismi citotossici sono simili a quelli dei CTL).

Le cellule NK attivate secernono anche IFN- $\gamma$  che attiva i macrofagi; questi ultimi producono IL-12, in risposta al riconoscimento dei microbi, la quale attiva le cellule NK a secernere IFN- $\gamma$ .

- I *recettori attivatori* delle cellule NK riconoscono molecole espresse sulla superficie di cellule danneggiate (infezioni virali, batteri intracellulari, danno del DNA, trasformazione neoplastica). I recettori sono:

↳ **NKG2D** che riconosce molecole simili alle proteine dell'MHC espresse in risposta a diversi tipi di danno cellulare.

↳ **Un secondo recettore attivatorio è specifico per gli anticorpi IgG legati alla superficie cellulare.** Il riconoscimento e l'uccisione delle cellule opsonizzate sono un fenomeno chiamato *citotossicità cellulare mediata da anticorpi (ADCC)*.

I recettori attivatori delle cellule NK contengono motivi **ITAM** (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) i quali attivano la trasduzione del segnale che promuove alla fine il rilascio di IFN- $\gamma$ .

- I *recettori inibitori* delle cellule NK sono specifici per le molecole MHC di classe I, essi sono:

↳ **Recettori KIR** (killer cell immunoglobulin-like receptor)

↳ recettori costituiti dalla proteina **CD94** e da una subunità lectinica chiamata **NKG2**

I recettori inibitori presentano nella loro coda citoplasmatica motivi **ITIM** (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) i quali quando si legano alle proteine MHC di classe I sono in grado di bloccare l'attivazione delle cellule NK promossa dai recettori attivatori.

## CITOCHINE DELL'IMMUNITÀ INNATA

| Citochina                                     | Principale fonte cellulare                                                               | Principali bersagli cellulari ed effetti biologici                                                                                                                                                                                        |
|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fattore di necrosi tumorale (TNF)             | Macrofagi, linfociti T                                                                   | Cellule endoteliali: attivazione (infiammazione, coagulazione)<br>Neutrofili: attivazione<br>Ipotalamo: febbre<br>Fegato: sintesi di proteine di fase acuta<br>Muscolo, grasso: catabolismo (cachessia)<br>Molti tipi cellulari: apoptosi |
| Interleuchina-1 (IL-1)                        | Macrofagi, cellule endoteliali, alcune cellule epiteliali                                | Cellule endoteliali: attivazione (infiammazione, coagulazione)<br>Ipotalamo: febbre<br>Fegato: sintesi di proteine di fase acuta<br>Cellule T: differenziazione a T <sub>H</sub> 17                                                       |
| Chemochine                                    | Macrofagi, cellule dendritiche, cellule endoteliali, linfociti T, fibroblasti, piastrine | Leucociti: incremento dell'affinità integrinica, chemiotassi, attivazione                                                                                                                                                                 |
| Interleuchina-12 (IL-12)                      | Cellule dendritiche, macrofagi                                                           | Cellule NK e linfociti T: produzione di IFN- $\gamma$ , incremento dell'attività citotossica<br>Linfociti T: differenziazione a T <sub>H</sub> 1                                                                                          |
| Interferone- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )        | Cellule NK, linfociti T                                                                  | Attivazione dei macrofagi<br>Stimolazione di alcune risposte anticorpali                                                                                                                                                                  |
| IFN di tipo I (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ ) | IFN- $\alpha$ : cellule dendritiche, macrofagi<br>IFN- $\beta$ : fibroblasti             | Tutti i tipi cellulari: stato antivirale, incremento dell'espressione delle MHC di classe I<br>Cellule NK: attivazione                                                                                                                    |
| Interleuchina-10 (IL-10)                      | Macrofagi, cellule dendritiche, linfociti T                                              | Macrofagi, cellule dendritiche: inibizione della produzione di IL-12, riduzione dell'espressione di molecole costimolatorie e delle molecole MHC di classe II                                                                             |
| Interleuchina-6 (IL-6)                        | Macrofagi, cellule endoteliali, linfociti T                                              | Fegato: sintesi di proteine di fase acuta<br>Linfociti B: proliferazione delle cellule che producono anticorpi<br>Linfociti T: differenziazione a T <sub>H</sub> 17                                                                       |
| Interleuchina-15 (IL-15)                      | Macrofagi, altre                                                                         | Cellule NK: proliferazione<br>Linfociti T: proliferazione                                                                                                                                                                                 |
| Interleuchina-18 (IL-18)                      | Macrofagi                                                                                | Cellule NK e linfociti T: produzione di IFN- $\gamma$                                                                                                                                                                                     |
| TGF- $\beta$                                  | Molti tipi cellulari                                                                     | Inibizione dell'infiammazione<br>Linfociti T: differenziazione a T <sub>H</sub> 17, linfociti T regolatori                                                                                                                                |

## ANTIGENI RICONOSCIUTI DAI LINFOCITI T

I linfociti T (ad eccezione dei linfociti T  $\gamma\delta$ ) possono riconoscere i peptidi antigenici solo se associati a molecole di MHC self (*restrizione per MHC*).

Le cellule specializzate che catturano gli antigeni e le presentano ai linfociti T vengono chiamate **cellule che presentano l'antigene** (APC). I linfociti T naïve riconoscono antigeni presentati solo dalle cellule dendritiche, le più efficaci APC "professioniste". Mentre i linfociti T effettori riconoscono gli antigeni, sempre presentati in associazione con MHC, ma anche su APC diverse dalle cellule dendritiche.

### Cattura di antigeni proteici da parte delle cellule che presentano l'antigene

- Gli epiteli e i tessuti sottoepiteliali contengono una rete di **cellule dendritiche** presenti anche in zone dei linfonodi. Le cellule dendritiche utilizzano recettori, che riconoscono epitopi esclusivi della cellula microbica, per catturare ed endocitare gli antigeni microbici. Inoltre, i microbi stimolano le risposte immunitarie innate legandosi ai recettori TLR e ad altri sensori microbici espressi dalle cellule dendritiche, cellule epiteliali e macrofagi tissutali. L'insieme dei segnali generati da parte dei TLR (TNF, IL-1) determinano l'attivazione delle cellule dendritiche.

Una volta attivate le cellule dendritiche esprimono il recettore di membrana CCR7 (espresso anche dai linfociti T) specifico per chemochine prodotte nelle zone T dei linfonodi; queste chemochine richiamano le cellule dendritiche verso i linfonodi regionali drenanti il tessuto. Durante il processo di migrazione, le cellule dendritiche si trasformano da cellule progettate per catturare gli antigeni in APC capaci di stimolare i linfociti T (aumentata sintesi ed emivita delle molecole di MHC e di altre molecole costimolatorie).

Le cellule dendritiche inoltre possono ingerire cellule infettate in modo da presentare gli antigeni ai linfociti T CD8<sup>+</sup>; tale processo viene chiamato *presentazione crociata* (cross-priming). Queste cellule dendritiche possono presentare gli antigeni anche ai linfociti T CD4<sup>+</sup> helper.

Gli antigeni presenti nella linfa in forma solubile sono catturati dalle cellule dendritiche dei linfonodi mentre quelli ematici dalle cellule dendritiche della milza.

- Un altro importante tipo di APC è rappresentato dai **macrofagi** che presentano gli antigeni ai linfociti T effettori.
- I **linfociti B** catturano gli antigeni proteici per presentarli ai linfociti T helper all'interno dei tessuti linfoidi.
- Inoltre, qualunque cellula nucleata può presentare ai CTL antigeni che derivano da microbi citoplasmatici.

## COMPLESSO MAGGIORE ISTOCOMPATIBILITÀ

Le molecole MHC sono proteine di membrana, espresse dalle APC, che hanno il compito di presentare gli antigeni proteici per il riconoscimento da parte dei linfociti T. La molecola di MHC lega solo antigeni di natura proteica e solo una per volta.

Le proteine MHC umane sono chiamate **antigeni leucocitari umani (HLA)**; il locus dell'MHC contiene due serie di geni altamente polimorfi, detti geni MHC di classe I e II.

Le molecole di MHC di classe I e II sono caratterizzate dalla presenza di una "tasca" di legame per il peptide alla loro estremità amino-terminale.

- ↳ La molecola di **MHC di classe I** consiste di una catena  $\alpha$  unita a una proteina chiamata  $\beta_2$ -microglobulina. Le porzioni amino-terminali dei domini  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  costituiscono il sito che accoglie il peptide antigenico; la parte laterale di questi domini interagisce con il TCR.

- Le molecole di classe I sono espresse da tutte le cellule nucleate.

Il dominio  $\alpha_3$  contiene i siti di legame per il CD8, ovvero il corecettore delle linfocita T.

- ↳ La molecola di **MHC di classe II** consiste di due catene chiamate  $\alpha$  e  $\beta$ ; i domini  $\alpha_1$  e  $\beta_1$  contengono una tasca per legare il peptide antigenico.

Il dominio  $\beta_2$  contiene il sito di legame per il corecettore CD4.

- Le molecole di classe II sono espresse principalmente da cellule dendritiche, macrofagi, linfociti B, cellule epiteliali timiche e cellule endoteliali.

I geni per MHC sono espressi in maniera codominante, ovvero gli alleli ereditati da entrambi i genitori vengono espressi in uguale misura. Inoltre i geni per MHC sono altamente polimorfici, ovvero in una popolazione sono presenti molti alleli diversi.

- ↳ Esistono tre geni polimorfici di **classe I** detti HLA-A, HLA-B e HLA-C; ogni cellula quindi potrà esprimere sei differenti molecole di classe I.
- ↳ Nel locus di **classe II** troviamo un paio di geni HLA-DP (DPA1 e DPB1), un paio di geni HLA-DQ (DQA1 e DQB1), un gene HLA-DR $\alpha$  (DRA1) e uno o due geni HLA-DR $\beta$  (DRB1 e DRB3).

Le molecole MHC acquisiscono il peptide durante la loro biosintesi e il loro assemblaggio all'interno della cellula. Le molecole di classe I acquisiscono i peptidi da proteine citosoliche, mentre le molecole di classe II le acquisiscono da proteine localizzate nelle vescicole intracellulari. Solo molecole MHC associate a un peptide vengono espresse in maniera stabile sulla superficie cellulare.

## PROCESSAZIONE E PRESENTAZIONE DI ANTIGENI PROTEICI

Le molecole di MHC sono capaci di presentare peptidi ma non antigeni proteici microbici intatti; ne consegue che devono esistere meccanismi atti a trasformare le proteine in peptidi, questa conversione è detta **processazione dell'antigene**.

### Processazione di antigeni per la presentazione su molecole di MHC di classe II

Dopo essere state internalizzate dalle APC le proteine microbiche entrano nelle vescicole cellulari (endosomi o fagosomi) le quali si fondono con i lisosomi. In queste vescicole le proteine vengono tagliate dagli enzimi proteolitici generando così peptidi di lunghezza e sequenza variabili.

Le molecole di MHC di classe II sono sintetizzate nel reticolo endoplasmatico e sono associate ad una proteina (catena invariante) che contiene una sequenza detta CLIP che occupa il sito di legame per l'antigene. Successivamente la molecola di MHC viene trasportata in una vescicola esocitotica la quale passa nel complesso di Golgi e successivamente si fonde con una vescicola endosomiale che contiene peptidi derivanti da proteine extracellulari inglobate. All'interno di queste vescicole una proteina detta HLA-DM rimuove il peptide CLIP dalla molecola di MHC lasciando il sito di legame disponibile per un peptide antigenico presente nell'endosoma.

### Processazione di antigeni per la presentazione su molecole di MHC di classe I

Le proteine antigeniche possono essere prodotte nel citoplasma a partire da virus che vivono all'interno delle cellule, da microbi fagocitati sfuggiti ai fagosomi e da proteine self mutate o alterate. Tutte queste proteine vengono eliminate dalla cellula, mediante proteolisi, da un complesso proteolitico chiamato *proteosoma*.

Le molecole MHC di classe I sono sintetizzate nel reticolo endoplasmatico: sulla membrana del RE è presente una molecola di trasporto (TAP) che lega i peptidi citoplasmatici alterati e li pompa attivamente attraverso la membrana. Le molecole di MHC si trovano a ridosso del trasportatore TAP, all'interno del RE, quindi non appena i peptidi arrivano nel RE possono essere catturati dalle molecole di MHC di classe I. Una volta avvenuto il legame, la molecola completa viene trasportata al complesso di Golgi e successivamente alla superficie cellulare in una vescicola esocitotica.

Nel reticolo endoplasmatico sono presenti anche le molecole di MHC di classe II ma non possono legare un peptide esogeno perché il loro sito di legame è occupato dalla porzione CLIP della catena invariante. Viceversa anche la molecola di MHC di classe I completa può intercettare una vescicola endosomica ma non può legare peptidi antigenici in quanto il suo sito di legame è già occupato.

## RECETTORI PER L'ANTIGENE DEI LINFOCITI

I recettori per l'antigene dei linfociti B sono anticorpi di membrana e sono in grado di riconoscere sia macromolecole in conformazione nativa (proteine, lipidi, carboidrati e acidi nucleici) sia semplici gruppi chimici di piccole dimensioni e parti di macromolecole.

I recettori per linfociti T riconoscono esclusivamente peptidi associate a cellule presentati dal complesso maggiore istocompatibilità.

Le porzioni dei recettori che riconoscono l'antigene sono chiamate **regioni variabili (V)**, mentre quelle conservate sono dette **regioni costanti (C)**.

I recettori sono associati a proteine in grado di trasdurre i segnali attivatori generati da riconoscimento dell'antigene.

Gli anticorpi legano gli antigeni con un'elevata affinità, il che li rende efficienti anche in presenza di basse concentrazioni di antigene. Invece l'affinità del TCR è bassa e quindi il legame deve essere rinforzato da molecole di adesione di membrana.

## Anticorpi (struttura)

È una molecola composta da quattro catene polipeptidiche: due catene pesanti (H) uguali fra loro e due catene leggere (L) anch'esse uguali; ogni catena presenta una porzione variabile (V) e una porzione costante (C).

Ciascuna catena leggera è costituita da un dominio V e da un dominio C, mentre ciascuna catena pesante comprende un dominio V e tre o quattro domini C.

Ciascuna regione variabile sia della catena pesante (chiamata  $V_H$ ) sia della catena leggera (chiamata  $V_L$ ) contiene tre regioni ipervariabili (**CDR**), che contribuiscono maggiormente al legame dell'antigene: tra queste la più variabile è CDR3.

Un frammento di anticorpo costituito da un'intera catena leggera associata al dominio V e al primo dominio C di una catena pesante, contiene la porzione necessaria per il riconoscimento dell'antigene e viene chiamato **Fab**. I rimanenti domini C della catena pesante costituiscono la regione **Fc**.

La regione C-terminale della catena pesante può essere ancorata alla membrana plasmatica, come nel caso dei recettori dei linfociti B oppure può terminare in una coda priva della porzione di ancoraggio alla membrana come negli anticorpi secreti.

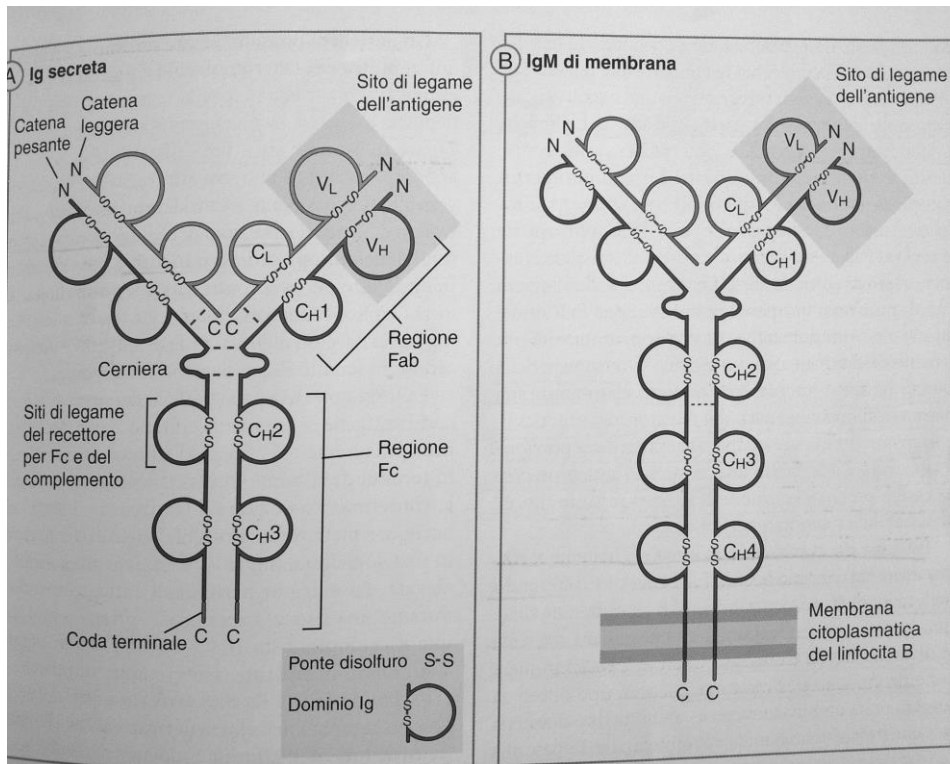
Esistono due tipi di catene leggere, chiamate  $\kappa$  e  $\lambda$  che differiscono nelle regioni C.

I tipi di catene pesanti, anch'essi diversi a livello di regioni C, sono invece cinque e sono denominati  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$  e  $\alpha$ ; in base alla catena pesante contenuta, ma indipendentemente dal tipo di catena leggera, gli anticorpi vengono classificati in **isotipi** o **classi** ossia IgM, IgD, IgG, IgE e IgA.

La forza con cui un anticorpo lega un antigene viene detta **affinità**; questa forza si modifica in seguito a stimolazioni antigeniche ripetute ed è mediata dai linfociti T helper. Questo aumento della forza di legame viene chiamato **maturazione dell'affinità**.

È possibile che anticorpi prodotti contro un antigene riconoscano anche altri antigeni strutturalmente simili: questo fenomeno viene chiamato **cross-reattività**

Nei linfociti B, le molecole di Ig sono associate a due altre proteine, chiamate  $Ig\alpha$  e  $Ig\beta$  che completano il **complesso del BCR**. Queste molecole sono implicate nella trasduzione del segnale extracellulare.



### Recettori per l'antigene dei linfociti T

Il TCR che riconosce peptidi antigenici montati su molecole MHC è composto da una **catena  $\alpha$**  e da una **catena  $\beta$** , ciascuna delle quali contiene una regione variabile (V) e una regione costante (C). Nella regione V di ciascun TCR è presente una regione ipervariabile (CDR3) che contribuisce maggiormente al legame con l'antigene.

Entrambe le catene del TCR sono ancorate alla membrana citoplasmatica e i TCR non possono essere secreti.

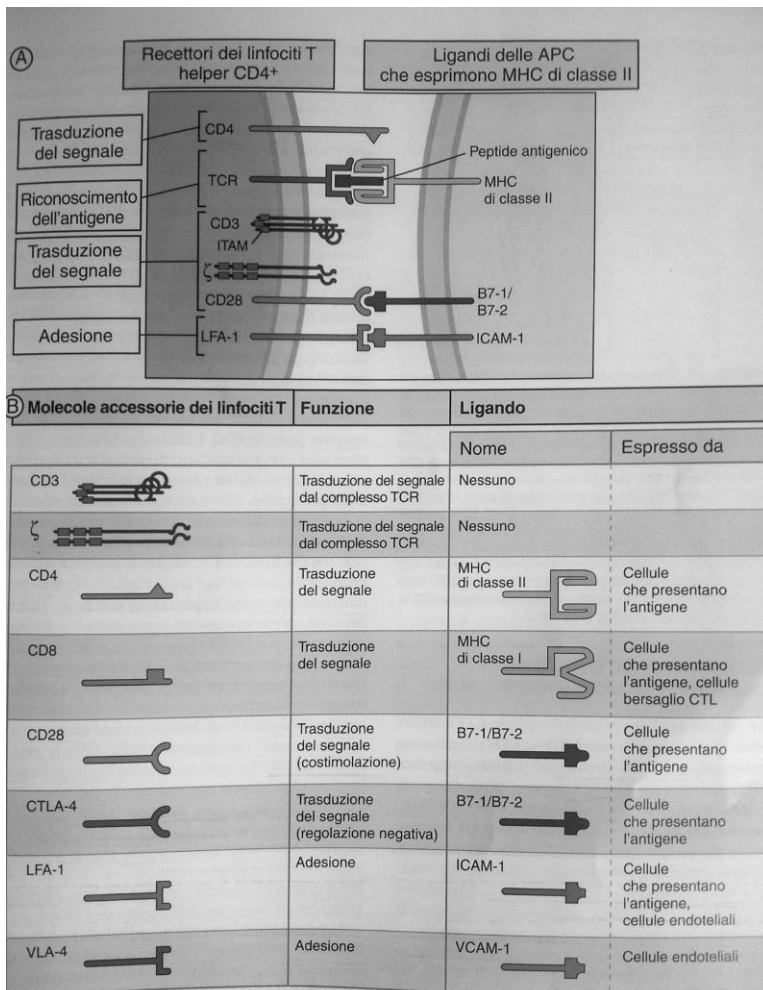
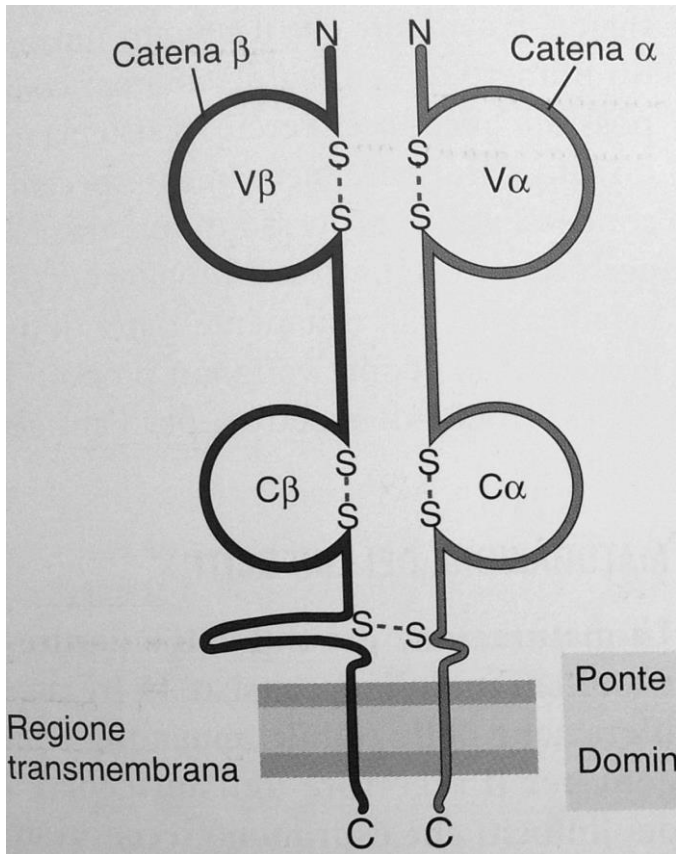
Entrambe le catene del TCR partecipano al riconoscimento specifico dell'MHC e del peptide montato.

Le molecole del TCR sono associate ad altre proteine, chiamate **CD3** e **catena  $\zeta$**  in grado di trasdurre i segnali che originano dal riconoscimento dell'antigene. L'insieme di TCR, CD3 e  $\zeta$  costituisce il cosiddetto **complesso del TCR**.

Per l'attivazione dei linfociti T, inoltre, è necessario che i corecettori CD4 e CD8 siano ingaggiati da porzioni non polimorfiche delle molecole di MHC.

Il 5-10% dei linfociti T esprime recettori composti da catene  $\gamma$  e  $\delta$ , strutturalmente simili ai TCR ma in grado di riconoscere antigeni proteici e non proteici generalmente non associati a molecole MHC classiche; questi linfociti sono abbondanti negli epitelii di rivestimento.

Un'altra sottopopolazione (5%) esprime marcatori fenotipici caratteristici delle cellule NK e sono perciò chiamati **linfociti NK-T**; riconoscono antigeni lipidici montati su molecole non polimorfiche simili a MHC di classe I.



## MATURAZIONE DEI LINFOCITI

La maturazione dei linfociti a partire dalle cellule staminali midollari consiste in tre processi che sono comuni sia per i linfociti B sia per i linfociti T.

1. I linfociti immaturi **proliferano intensamente** durante diversi stadi del processo di maturazione: questa proliferazione è importante per ottenere un adeguato numero di cellule dotate di recettori per l'antigene utili, in quanto la genesi dei recettori è data da ricombinazione genetica casuale.
2. I recettori per l'antigene sono codificati da numerosi segmenti genici che sono separati l'uno dall'altro nel DNA e vanno incontro a **ricombinazione** durante la maturazione linfocitaria. L'origine della diversificazione dei recettori per l'antigene deriva in parte dall'utilizzo, da parte dei differenti cloni linfocitarie, di differenti combinazioni di segmenti genici V, D e J, ma principalmente dall'introduzione di cambiamenti nelle sequenze nucleotidiche a livello di giunzioni tra i segmenti V, D e J (chiamata diversità giunzionale).
3. La **selezione** dei linfociti che esprimono recettori utili. Questa selezione si basa sia sull'integrità dei recettori sia su ciò che essi riconoscono. I linfociti T immaturi vengono anche selezionati per la loro capacità di riconoscere molecole di MHC (*selezione positiva*); inoltre i linfociti potenzialmente in grado di reagire contro antigeni self sono eliminati (*selezione negativa*).

### Maturazione e selezione dei linfociti B

La maturazione dei linfociti B avviene prevalentemente nel midollo osseo. I progenitori destinati alla linea B proliferano, dando origine a un grande numero di precursori chiamati **linfociti pro-B**. Nello stadio di maturazione successivo, in cui i linfociti sono detti **pre-B** avviene la ricombinazione dei geni per le Ig e viene prodotta la proteina della catena pesante  $\mu$ .

La catena  $\mu$  e le catene leggere surrogate si associano alle molecole di trasduzione  $Ig\alpha$  e  $Ig\beta$  a formare il complesso del recettore nel linfocita pre-B (pre-BCR). Questo è il primo punto di controllo nello sviluppo dei linfociti B.

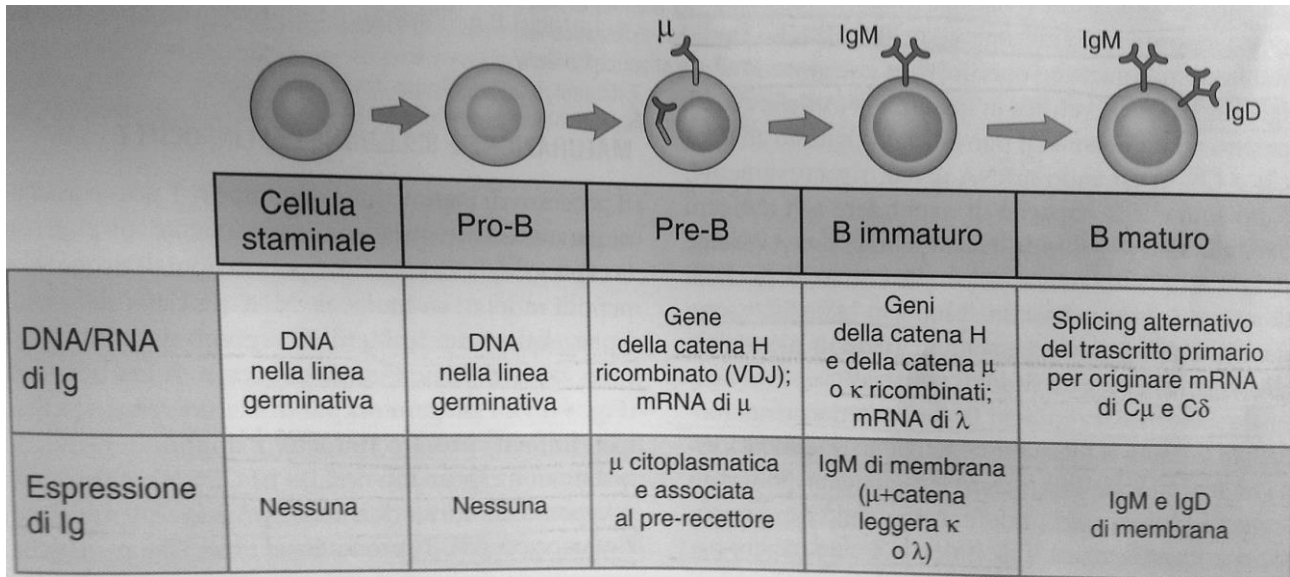
La comparsa delle proteine  $\mu$  e del complesso del pre-BCR attivano altri due processi. Il primo è **l'esclusione allelica** per cui ciascun linfocita B potrà esprimere anticorpi codificati soltanto da uno dei due alleli parentali.

Il secondo processo stimola la ricombinazione del locus della catena leggera, prima  $\kappa$  e poi  $\lambda$ . Qualunque catena leggera funzionale prodotta viene associata con la catena  $\mu$  per formare il recettore per l'antigene completo, ovvero una IgM di membrana.

I linfociti B che esprimono IgM sono detti **linfociti B immaturi**; la successiva maturazione può avvenire nel midollo osseo, oppure successivamente nella milza.

Lo stadio finale di maturazione comporta la coespressione di IgD e IgM: i linfociti  $IgM^+ IgD^+$  sono detti **linfociti B maturi** e sono in grado di rispondere all'antigene nei tessuti linfoidei periferici.

Se un linfocita B immaturo lega con alta affinità un antigene presente nel midollo osseo esso può morire per apoptosi oppure riattivare le ricombinasi V(D)J, generare una seconda catena leggera e cambiare la specificità del recettore per l'antigene (*editing recettoriale*).



### Maturazione e selezione dei linfociti T

I progenitori dei linfociti T migrano dal midollo osseo al timo, dove avviene l'intero processo di maturazione. I progenitori più immaturi vengono chiamati **linfociti pro-T** o **linfociti T doppio-negativi**, in quanto non esprimono né CD4 né CD8. L'IL-7 è il fattore di crescita che mantiene ed espande il numero di progenitori linfocitari prima che essi esprimono i recettori per l'antigene.

Una parte di questi linfociti va incontro alla ricombinazione dei geni [V(D)J] della catena  $\beta$  del TCR; la catena  $\beta$  viene espressa in superficie in associazione con una catena invariante chiamata pre-T $\alpha$  e vanno a formare il complesso pre-TCR dei linfociti pre-T.

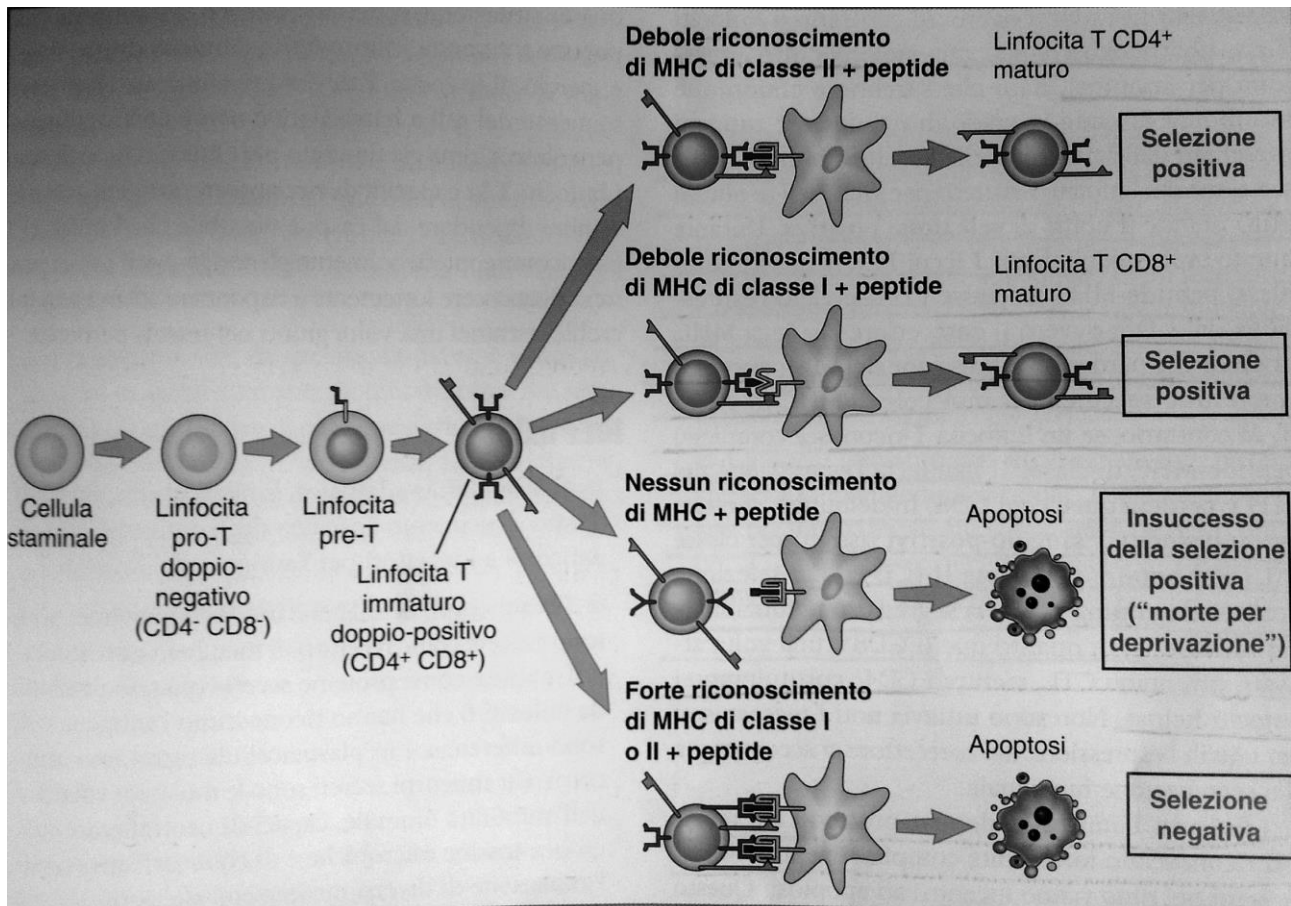
Le cellule che presentano le catene  $\alpha$  e  $\beta$  funzionanti sopravvivono alla selezione ed esprimono entrambi i corecettori CD4 e CD8 e vengono perciò chiamati **linfociti doppio-positivi**.

I linfociti T immaturi doppio-positivi i cui recettori riconoscono fortemente complessi peptide-MHC presenti nel timo vanno incontro ad apoptosi (*selezione negativa*).

I diversi cloni di linfociti T doppio-positivi esprimono TCR  $\alpha$  e  $\beta$  differenti.

A questo punto vengono selezionati linfociti T ristretti per MHC self tramite un processo detto **selezione positiva**. I linfociti T i cui recettori riconoscono complessi peptide-MHC di classe I conservano l'espressione del CD8 e perdono l'espressione del CD4; al contrario, se un linfocita T riconosce complessi peptide-MHC di classe II manterrà l'espressione del CD4 e perderà quella del CD8. In definitiva, si otterranno **linfociti T singolo-positivi** ristretti per classe I (CD8<sup>+</sup>) oppure per classe II (CD4<sup>+</sup>).

La selezione positiva determina anche la segregazione funzionale dei linfociti T, in quanto quelli CD8<sup>+</sup>, una volta attivati, diventano CTL, mentre i CD4<sup>+</sup> costituiranno i linfociti T helper.



## FASI DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA MEDIATA DAI LINFOCITI T

I linfociti T naïve ricircolano continuamente negli organi linfoidi periferici alla ricerca di proteine antigeniche esogene; tuttavia essi non sono in grado di esercitare le funzioni effettrici e per fare ciò devono differenziarsi con un processo innescato dal riconoscimento dell'antigene.

Gli antigeni proteici dei microrganismi sono trasportati agli organi linfoidi dalle cellule dendritiche attivate, espressi sulla loro superficie cellulare associate a molecole MHC. Quando un linfocita T naïve riconosce un antigene, la cellula smette temporaneamente di ricircolare per iniziare il processo di attivazione.

In seguito all'attivazione i linfociti T antigene-specifici cominciano a secernere citochine e vanno incontro ad **espansione clonale**. Una frazione di questi linfociti attivati andrà inoltre incontro al processo di **differenziazione** che li porta a trasformarsi in **linfociti T effettori**. I linfociti T effettori possono rimanere nel linfonodo o migrare nei focolai di infezione.

Una parte della progenie dei linfociti T che è andata incontro a proliferazione in risposta all'antigene si differenzia in **linfociti T della memoria**.

### Riconoscimento e costimolazione dell'antigene

Il TCR riconosce i peptidi antigenici associati all'MHC e i corecettori CD4 e CD8 interagiscono direttamente con la molecola MHC espresse dalle APC: questo riconoscimento costituisce il primo segnale per l'attivazione dei linfociti T.

Per riuscire a innescare la risposta immunitaria, due o più TCR e i rispettivi corecettori devono essere attivati contemporaneamente dal legame con molecole di MHC. Inoltre per generare il livello di segnali biochimici necessario per innescare la risposta immunitaria, il linfocita T deve rimanere

legato all'antigene almeno per diversi minuti, oppure deve poter legare lo stesso complesso ripetutamente.

I segnali biochimici necessaria all'attivazione del linfocita T sono trasdotti in parte dai corecettori CD4 o CD8 ma soprattutto, da un complesso di tre proteine che forma il cosiddetto CD3 e da un'altra proteina chiamata catena  $\zeta$  (che insieme al TCR formano il *complesso del TCR*).

### **Le molecole di adesione stabilizzano l'interazione tra linfociti T e APC**

La maggior parte dei TCR lega il complesso peptide-MHC con bassa affinità quindi, per indurre una risposta immunitaria efficiente, l'interazione dei linfociti T con le APC deve essere stabilizzata per un periodo di tempo tale da permettere il raggiungimento della soglia minima di trasduzione del segnale. Questa funzione di stabilizzazione è svolta dalle molecole di adesione la più importante delle quali appartiene alle *integrine*: le principali integrine linfocitarie sono **LFA-1** e **VLA-4** i cui ligandi sulle APC sono rispettivamente **ICAM-1** e **VCAM-1**.

Le integrine svolgono anche la funzione di guidare la migrazione dei linfociti T effettori dal circolo ematico verso il focolaio di infezione.

### **Ruolo delle molecole costimolatorie**

Queste proteine forniscono ai linfociti T segnali biochimici (secondo segnale) che cooperano con la stimolazione da parte dell'antigene.

Le più note sono due proteine denominate **B7-1 (CD80)** e **B7-2 (CD86)**, entrambe espresse sulla superficie delle APC; queste vengono riconosciute da un recettore, chiamato **CD28**, espresso da tutti i linfociti T. I segnali generati da CD28 sono essenziali per innescare la risposta immunitaria dei linfociti T naïve.

I recettori B7-1 e B7-2 interagiscono anche con un altro recettore dei linfociti T chiamato **CTLA-4** implicato nella trasduzione del segnale, in questo caso, di inibizione (**regolazione negativa**).

Un'altra classe di molecole costimolatorie è costituita da **CD40** e dal ligando sui linfociti T chiamato **CD40L (CD154)**. Nello specifico queste hanno la proprietà di attivare ulteriormente l'espressione di B7 e la produzione di citochine (IL-12) che favoriscono il differenziamento dei linfociti T.

### **Stimoli per l'attivazione dei linfociti T CD8+**

Questi linfociti necessitano per essere attivati, che gli antigeni citoplasmatici di una cellula vengano presentati da una *cellula dendritica* attraverso il meccanismo della *presentazione crociata*.

Un'altra caratteristica peculiare dei linfociti T CD8+ è che la loro differenziazione in CTL può richiedere la concomitante attivazione dei linfociti T helper CD4+. Quando una cellula infettata da virus viene internalizzata da una cellula dendritica dell'ospite e gli antigeni virali subiscono la presentazione crociata (cross-priming) da parte dell'APC, gli antigeni citosolici possono essere caricati su molecole MHC sia di classe I sia di classe II, portando all'attivazione sia dei linfociti TCD8+ sia di quelli CD4+.

### **Vie biochimiche di trasduzione nell'attivazione dei linfociti T**

L'attivazione dei linfociti si manifesta con l'attivazione della trascrizione genica e la sintesi di nuove proteine conseguenti all'attivazione di fattori di trascrizione e all'attivazione di enzimi. Queste vie sono innescate dal fenomeno del cross-linking che avviene quando recettori adiacenti dei linfociti riconoscono e legano due o più antigeni. La regione di contatto che si viene a creare tra APC e il linfocita T viene definita *sinapsi immunologica*.

I complessi proteici **CD3** e la **catena  $\zeta$**  contengono sequenze chiamate **ITAM**. I domini ITAM della catena  $\zeta$  diventano zone di legame per una tirosina chinasi definita ZAP-70 che fosforila una serie di proteine adattatrici e di enzimi che si assemblano, innescando ulteriori segnali di attivazione.

Le principali vie di trasduzione che si attivano sono:

1. **NFAT** una volta attivata può migrare al nucleo dove lega e attiva i promotori di numerosi geni che codificano per IL-2 (fattore di crescita dei linfociti T attivati) e per i componenti del recettore di IL-2.
2. **Via di trasduzione delle MAP chinasi-Ras/Rac.** Porta all'attivazione del fattore di trascrizione AP-1 responsabile della trascrizione di numerosi geni nei linfociti T attivati.
3. **PKC $\theta$ /NF- $\kappa$ B.** Questa via ha inizio con l'attivazione dell'isoforma  $\theta$  della serina-treonina chinasi chiamata *proteina chinasi C (PKC $\theta$ )*, che porta all'attivazione di NF- $\kappa$ B (fattore nucleare  $\kappa$ B). La traslocazione seguente di NF- $\kappa$ B al nucleo attiva la trascrizione di numerosi geni.
4. **La via del fosfatidilinositolo-3 (PI-3K)** coinvolge la chinasi PI-3 che porta all'attivazione di una serina-treonina chinasi (Akt) capace di stimolare l'espressione di proteine antiapoptotiche favorendo così la sopravvivenza dei linfociti T stimolati dall'antigene.

I vari fattori di trascrizione sopra menzionati stimolano la trascrizione e la conseguente produzione di citochine, di recettori per citochine, di induttori del ciclo cellulare e di molecole effettrici, come il CD40L.

## RISPOSTE FUNZIONALI DEI LINFOCITI T

In risposta all'antigene e alle molecole costimolatorie, i linfociti T (specialmente CD4+) **secretono diverse citochine.**

La prima citochina a essere prodotta dai linfociti T CD4+ è IL-2 che agisce sugli stessi linfociti T, che con l'attivazione esprimono i recettori di membrana per questa interleuchina.

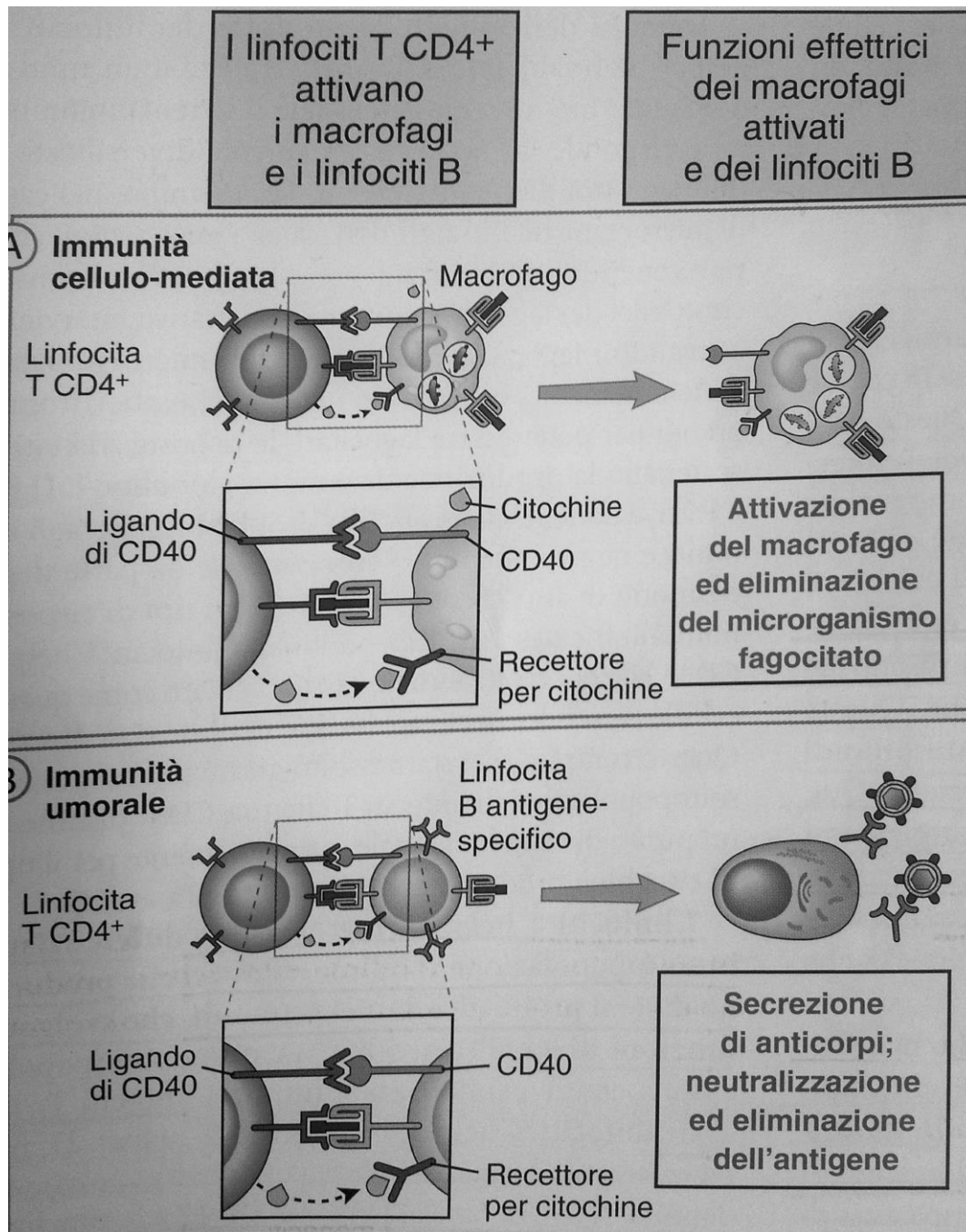
L'IL-2 ha la principale funzione di stimolare la sopravvivenza e la proliferazione dei linfociti T attivati.

Entro i primi 1-2 giorni dall'attivazione, linfociti T **cominciano a proliferare**, provocando l'espansione del clone antigene-specifico.

### Differenziazione dei linfociti T naïve in cellule effettrici

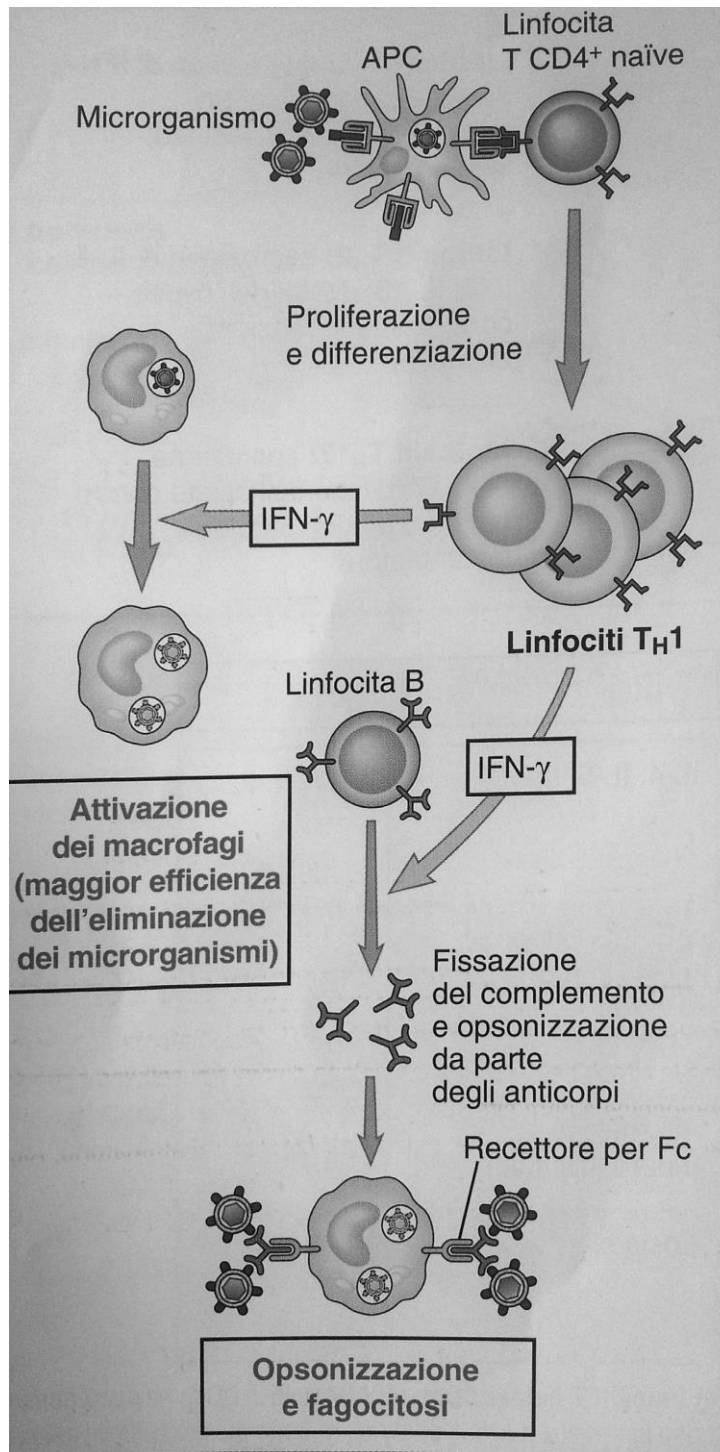
Questo processo è il risultato di una riprogrammazione dell'espressione genica ed inizia parallelamente all'espansione clonale. A questo punto le cellule tendono ad abbandonare gli organi linfoidi secondari per migrare verso i focolai di infezione.

- **Linfociti T helper CD4+.** Si differenziano in cellule effettrici che rispondono all'antigene producendo proteine di membrana e citochine in grado di attivare i fagociti e i linfociti B. Essi esprimono il ligando CD40L che lega il suo recettore (CD40) espresso dai macrofagi, linfociti B e cellule dendritiche determinando la loro attivazione.



I linfociti T helper CD4<sup>+</sup> possono differenziarsi in sottopopolazioni di cellule effettrici che svolgono funzioni diverse:

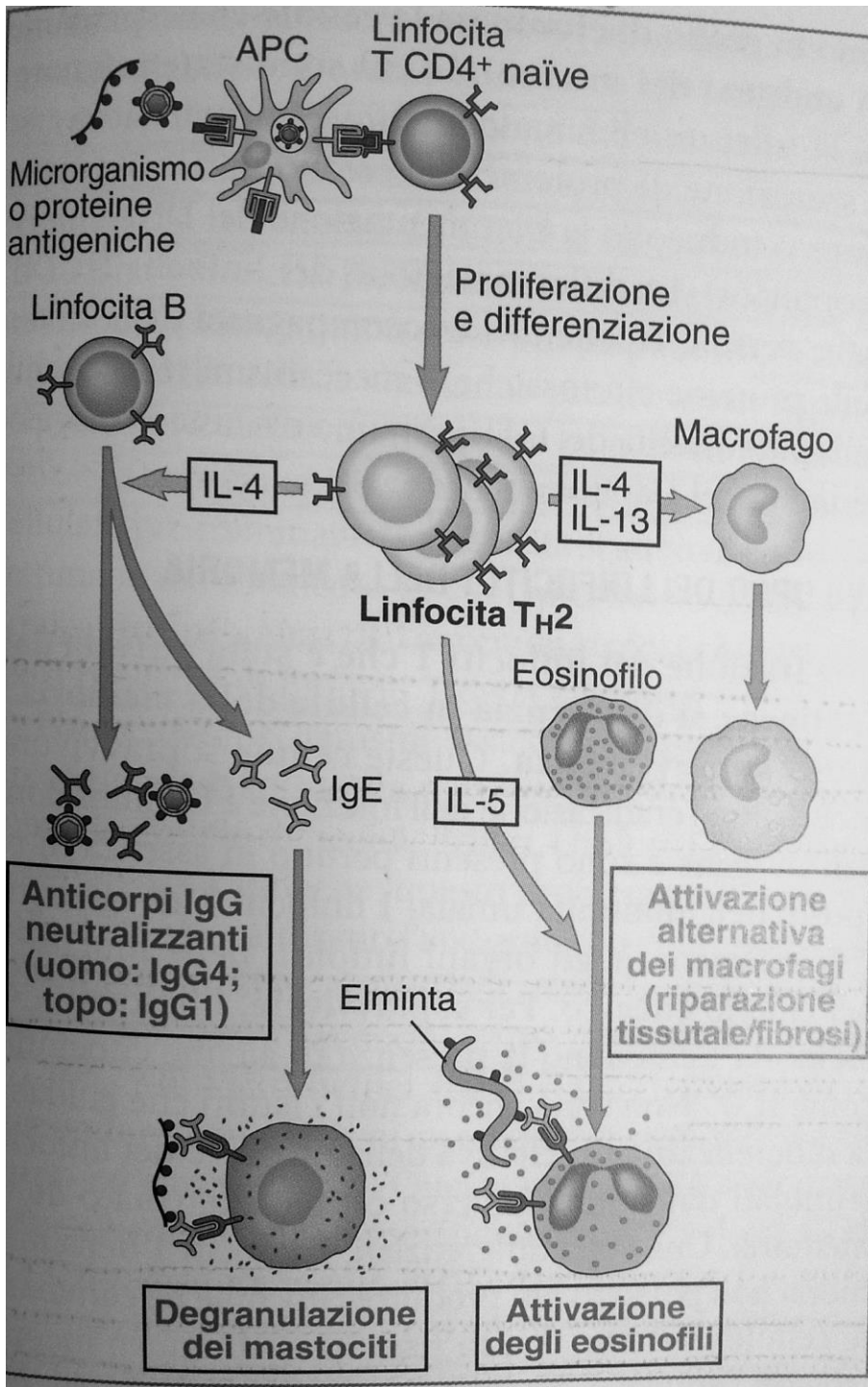
- I **linfociti T<sub>H1</sub>** stimolano i fagociti a fagocitare ed eliminare i microrganismi. La principale citochina prodotta da questi linfociti è l'*interferone-γ* che rappresenta un potente attivatore dei macrofagi. IFN-γ è anche in grado di stimolare la produzione di isotipi anticorpali che promuovono la fagocitosi dei microrganismi e l'attivazione del complemento. IFN-γ stimola l'espressione di molecole MHC di classe II e delle molecole costimolatorie B7 da parte dei macrofagi e delle cellule dendritiche. La differenziazione verso T<sub>H1</sub> è guidata dalla combinazione delle citochine IL-12 (prodotta dalle cellule dendritiche e dai macrofagi) e IFN-γ (Prodotto dalle cellule NK).



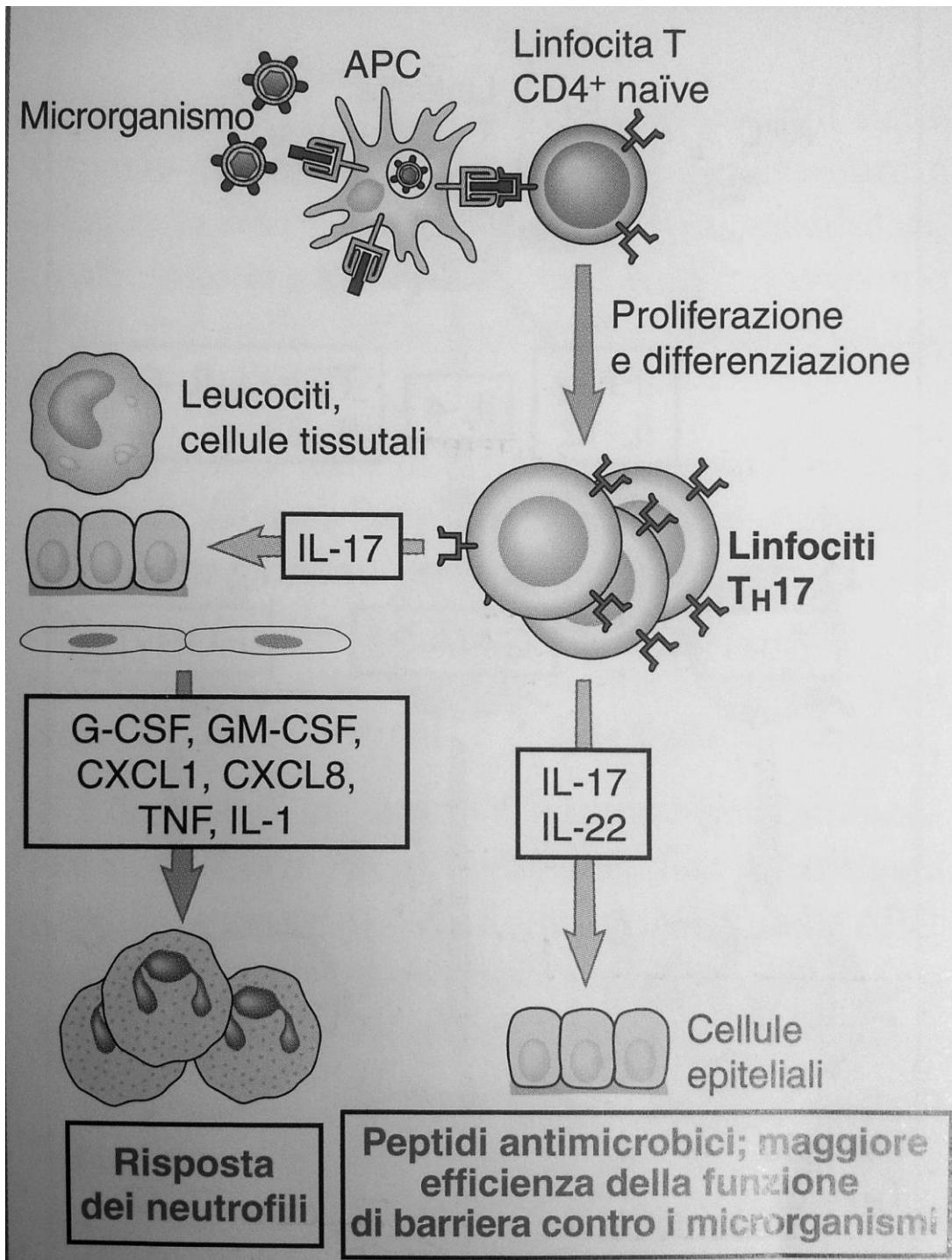
- I **linfociti T<sub>H</sub>2** stimolano le risposte degli eosinofili. Questi linfociti producono IL-4 che stimola la produzione di IgE che, a loro volta, attivano i mastociti e si legano agli eosinofili. Questi linfociti producono anche IL-5, che attiva direttamente gli eosinofili. Inoltre IL-4 insieme all'IL-13 sempre prodotta da questi linfociti promuovono la secrezione di muco, ostacolando l'ingresso dei parassiti attraverso le mucose e favorendone l'espulsione (immunità di barriera). L'attivazione dei macrofagi da parte dei linfociti T<sub>H</sub>2 stimola in essi funzioni diverse, quali la sintesi di componenti della matrice extracellulare, necessari alla riparazione tissutale.

Alcune delle citochine prodotte dai linfociti  $T_H2$ , come IL-4, IL-10 e IL-13, inibiscono l'attività microbica dei macrofagi, sopprimendo l'immunità cellula-mediata attivata dalle risposte  $T_H1$ . Inoltre, l'IL-13 stimola i fibroblasti a depositare collagene, promuovendo il processo di fibrosi.

Lo sviluppo dei linfociti  $T_H2$  è stimolato da IL-4 prodotta dai mastociti e dai linfociti  $T_H2$  stessi.



- I **linfociti  $T_H17$**  secernono le citochine IL-17 e IL-22 e sono coinvolti nella difesa verso alcuni tipi di batteri e verso le infezioni micotiche.  
Lo sviluppo e il mantenimento dei linfociti  $T_H17$  richiede la presenza di IL-1 e IL-6 (prodotte dai macrofagi e dalle cellule dendritiche), IL-23 e TGF- $\beta$ .



- **Linfociti T CD8+.** Una volta attivati si differenziano in CTL effettori in grado di eliminare le cellule infettate attraverso la secrezione di proteine (granzimi e perforine) che creano pori nella membrana o inducono l'apoptosi.
- **Linfociti T della memoria.** Una frazione dei linfociti attivati si differenzia in cellule a lunga sopravvivenza. Questi linfociti si localizzano negli organi linfoidi, nelle mucose e nel circolo ematico. Per sopravvivere richiedono la presenza di IL-7.  
Una volta differenziati in linfociti T della memoria non possono più produrre citochine né eliminare le cellule infettate, ma in risposta a un nuovo incontro con l'antigene riacquisiscono velocemente questa capacità.
  - *Le cellule della memoria centrale* sono una sottopopolazione che si localizza negli organi linfoidi secondari.
  - *Le cellule della memoria effettrice* si localizzano invece nelle mucose.

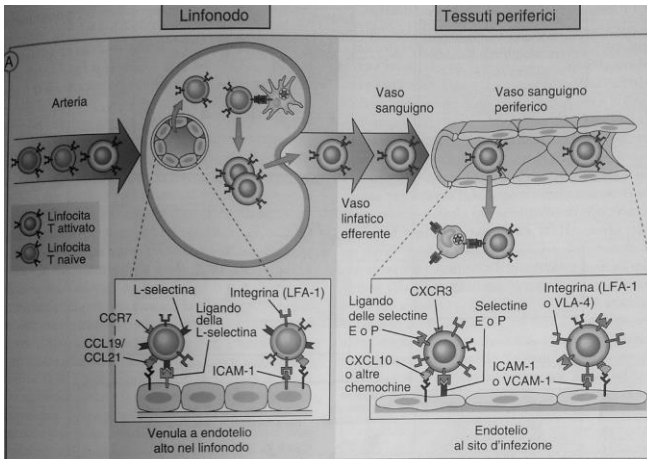
### **Migrazione dei linfociti T effettori al sito d'infezione**

Il processo di differenziazione dei linfociti T naïve in cellule effettrici si accompagna alla modificazione del loro profilo di molecole di adesione e di recettori per chemochine.

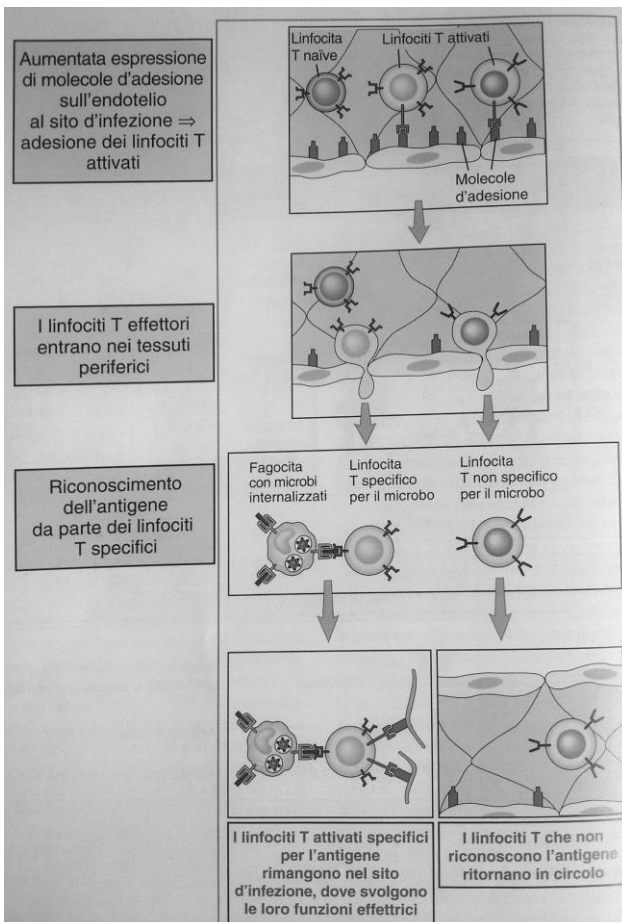
I linfociti T esprimono ligandi per le *selectine E* e *P* e delle forme ad alta affinità delle *integrine LFA-1* e *VLA-4*; allo stesso modo nei siti di infezione il TNF e IL-1 stimolano l'espressione da parte delle cellule endoteliali delle *selectine E* e *P* e dei vari ligandi per le *integrine (ICAM-1 e VCAM-1)*.

I linfociti T effettori che si trovano a transitare nei vasi sanguigni che irrorano il sito di infezione si legano prima alle *selectine*, un'interazione che permette il *rolling*; successivamente i linfociti riconoscono e legano le *integrine* che porta a una più ferma adesione dei linfociti all'endotelio. Una volta avvenuto il completo arresto del linfocita sulla superficie endoteliale, le chemochine prodotte dai macrofagi nel tessuto infiammato inducono la migrazione dei leucociti adesi, verso il focolaio infiammatorio.

Alcune *integrine* riconoscono molecole della matrice extracellulare e quindi il linfocita aderisce ai tessuti in cui è presente l'antigene, così da persistere nel tessuto il tempo necessario per eradicare l'infezione.



| Molecole dei linfociti T coinvolte nella migrazione         | Molecole delle cellule endoteliali | Funzioni delle coppie ligandi/recettori                                                                                                   |
|-------------------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Linfociti T naïve</b>                                    |                                    |                                                                                                                                           |
| L-selectina                                                 | Ligando della L-selectina          | Adesione dei linfociti T naïve alle venule a endotelio alto (HEV)                                                                         |
| LFA-1 (integrina $\beta 2$ )                                | ICAM-1                             | Arresto a livello delle HEV                                                                                                               |
| CCR7                                                        | CCL19 o CCL21                      | Attivazione delle integrine e chemiotassi                                                                                                 |
| <b>Linfociti T attivati (effettori e di memoria)</b>        |                                    |                                                                                                                                           |
| Ligandi delle selectine E o P                               | Selectine E o P                    | Iniziale adesione debole dei linfociti T effettori e della memoria all'endotelio attivato dalle citochine nel sito d'infezione periferico |
| LFA-1 (integrina $\beta 2$ ) o VLA-4 (integrina $\beta 1$ ) | ICAM-1 o VCAM-1                    | Arresto sull'endotelio attivato dalle citochine nel sito d'infezione periferico                                                           |
| CXCR3 e altri recettori                                     | CXCL10 o altre citochine           | Attivazione delle integrine e chemiotassi                                                                                                 |



## FUNZIONI EFFETTRICI DEI LINFOCITI T HELPER CD4+

I linfociti T CD4+ di tipo T<sub>H</sub>1 attivano i macrofagi che hanno fagocitato microrganismi; questa abilità dipende dal riconoscimento dell'antigene. Questa stessa risposta può essere evocata iniettando una proteina microbica sottocute a un individuo già immunizzato e viene definita **ipersensibilità di tipo ritardato (DTH)** che si manifesta nelle 24-48 ore successive all'esposizione (il tempo necessario ai linfociti T effettori circolanti per raggiungere il sito di inoculo).

In un altro tipo di risposta cellulo-mediata i linfociti T CD4+ di tipo T<sub>H</sub>17 promuovono la produzione di chemochine, le quali reclutano neutrofili e monociti e attivano la sintesi di proteine che aggrediscono batteri e funghi; contribuendo all'eradicazione di infezioni da parte di batteri extracellulari. Questo tipo di risposta è caratterizzata dall'abbondante reclutamento di leucociti infiammatori, in modo particolare di neutrofili.

### Attivazione dei macrofagi

Il macrofago una volta fagocitato il microrganismo espone gli antigeni specifici sulla superficie cellulare associato a molecole di MHC di classe II; riconoscendo questi antigeni i linfociti T effettori CD4+ aumentano l'espressione della molecola effettrice CD40L la quale si lega al recettore dei macrofagi CD40. Parallelamente, i linfociti T effettori di tipo T<sub>H</sub>1 secernono IFN- $\gamma$ , che attiva i macrofagi. Questo legame porta alla sintesi nel macrofago di proteasi lisosomiali, enzimi stimolanti la sintesi di monossido di azoto e di prodotti reattivi dell'ossigeno.

I macrofagi che hanno riconosciuto l'antigene producono la citochina IL-12, la quale stimola la differenziazione dei linfociti T CD4+ naïve verso la sottopopolazione T<sub>H</sub>1 che a sua volta produce IFN- $\gamma$ .

I linfociti T<sub>H</sub>1 secernono anche TNF che induce l'aumento dell'espressione di molecole di adesione e di chemochine da parte dell'endotelio vascolare. Diversamente, i linfociti T<sub>H</sub>17 possono secernere chemochine che attraggono neutrofili e monociti.

Anche i linfociti T CD8+ possono attivare le funzioni microbicide dei macrofagi quando riconoscono peptidi associati a molecole MHC di classe I; ciò avviene nel caso dei microbi in grado di evadere dalle vescicole endocitotiche.

## FUNZIONI EFFETTRICE DI DEI LINFOCITI T CITOTOSSICI CD8+

I linfociti T CD8+ differenziati in CTL riconoscono i complessi peptide-MHC di classe I sulla superficie della cellula infettata; l'origine dei peptidi associati all'MHC deriva da antigeni proteici sintetizzati ex novo nel citoplasma o dalle proteine dei microrganismi fagocitati che sono sfuggiti dalle vescicole.

I TCR ed i corecettori si raggruppano nel sito di contatto con la cellula bersaglio, formando la *sinapsi immunologica*: i CTL vengono attivati dal riconoscimento dell'antigene e dalla prolungata interazione con la cellula bersaglio, senza necessità di costimolazione o di coinvolgimento dei linfociti T helper.

Il riconoscimento dell'antigene porta all'esocitosi dei granuli dei CTL; all'interno di essi sono presenti due tipi di proteine essenziali per l'eliminazione della cellula bersaglio: i **granzimi** che causano proteolisi controllata e quindi l'attivazione delle caspasi; la **perforina** necessaria per veicolare i granzimi all'interno del citoplasma. I CTL attivati esprimono anche una proteina di membrana, chiamata **ligando di Fas** che si lega a FAS, un recettore di morte presente sulle cellule: il legame di Fas al suo ligando attiva le caspasi inducendo l'apoptosi delle cellule bersaglio.

I linfociti T CD8+ secernono anche IFN- $\gamma$ , in grado di attivare i macrofagi a uccidere i microrganismi fagocitati.

## ATTIVAZIONE DEI LINFOCITI B DA PARTE DELL'ANTIGENE

Le risposte umorali si innescano quando un linfocita B riconosce l'antigene specifico nella milza, nei linfonodi e negli organi linfoidei associate alle mucose.

Nei linfociti B, la trasduzione del segnale richiede che due o più recettori interagiscano tra loro (cross-linking); i segnali così generati vengono trasdotti all'interno del linfocita B da una serie di proteine associate al recettore stesso. Per assolvere a tale funzione i recettori sono associati a due proteine, chiamate  $Ig\alpha$  e  $Ig\beta$  (complesso del recettore dei linfociti B, BCR). I domini citoplasmatici delle catene  $Ig\alpha$  e  $Ig\beta$  contengono sequenze ITAM che sono implicate in processi che portano all'attivazione di fattori di trascrizione coinvolti nella proliferazione e nella differenziazione cellulare (NFAT, NF- $\kappa$ B, AP-1 e Myc).

### **Ruolo delle proteine del complemento**

Il frammento di proteolisi di C3 e cioè C3d si lega al microbo e può essere riconosciuto dal *recettore di tipo 2 per il complemento* (CR2 o CD21) espresso da i linfociti B.

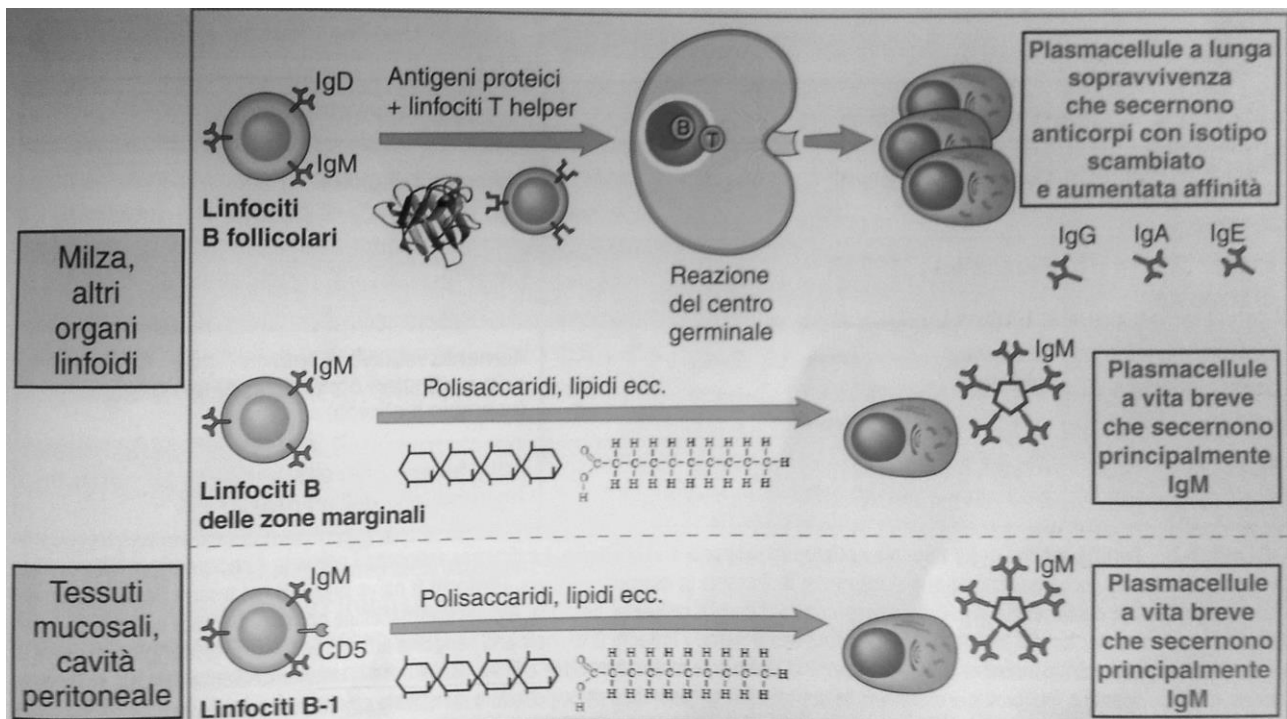
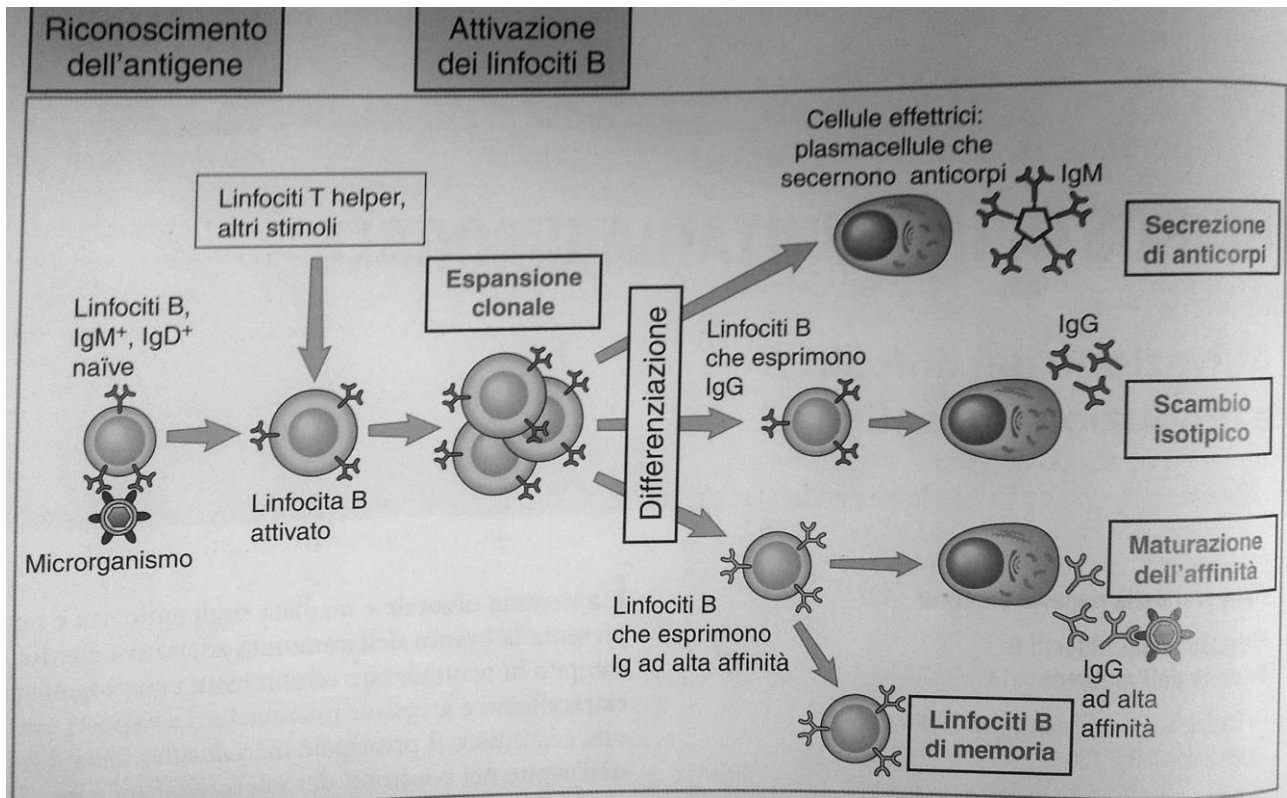
Oltre che dal riconoscimento delle proteine del complemento, le risposte dei linfociti B possono venire potenziate anche dal riconoscimento dei prodotti microbici che legano i recettori *Toll-like* (TLR): questo riconoscimento induce la proliferazione dei linfociti B e la secrezione di immunoglobuline.

### **Meccanismi di attivazione dei linfociti B**

Il linfocita B attivato entra nel ciclo cellulare, cominciando a proliferare attivamente e andando incontro ad espansione clonale. Le stesse cellule iniziano anche a sintetizzare in grandi quantità una forma secretoria delle IgM; questa risposta è più intensa se l'antigene è multivalente (cross-linking), cosa che avviene con antigeni di origine non proteica.

L'attivazione dei linfociti B porta all'aumento dell'espressione della molecola costimolatoria B7, la quale fornisce il secondo segnale necessario per l'attivazione dei linfociti T e l'aumento dell'espressione di recettori che potranno riconoscere le citochine secrete dai linfociti T helper. Questo processo è importante soprattutto per gli antigeni proteici con i quali non si verifica il cross-linking.

Inoltre, i linfociti B attivati riducono l'espressione dei recettori per le chemochine prodotte dai follicoli linfoidei, il cui compito è di trattenere i linfociti B in questi siti; ciò determina la fuoriuscita dai follicoli e la loro localizzazione in aree caratterizzate dalla presenza dei linfociti T helper.



## RUOLO DEI LINFOCITI T HELPER NELLA RISPOSTA UMORALE (T-DIPENDENTE)

Affinché un antigene proteico promuova la proliferazione e la differenziazione dei linfociti B e l'attivazione di una risposta anticorpale, è necessario che i linfociti B e T specifici per lo stesso antigene si incontrino negli organi linfoidi secondari.

Alcuni linfociti T effettori si dirigono verso i follicoli linfoidi per incontrare i linfociti B stimolati dall'antigene. La migrazione dei linfociti B e T dipende dalle modifiche nel profilo di espressione dei recettori per le chemochine: i linfociti T attivati riducono l'espressione del recettore CCR7 specifico per le chemochine prodotte nelle aree T, e aumentano quella del recettore CXCR5, il quale promuove la loro migrazione verso i follicoli B. Invece, i linfociti B attivati vanno incontro a un processo opposto, ossia la riduzione di CXCR5 e l'aumento di CCR7. Ne risulta che i linfociti B e T migrano gli uni verso gli altri incontrandosi ai margini dei follicoli linfoidi.

### **Presentazione dell'antigene da parte dei linfociti B**

I linfociti B internalizzano gli antigeni proteici che hanno riconosciuto tramite i recettori Ig e dopo processazione negli endosomi, le presentano ai linfociti T helper CD4<sup>+</sup> sotto forma di peptidi associati a molecole MHC di classe II.

I linfociti B attivati esprimono molecole costimolatorie come B7 che stimolano i linfociti T helper. Tuttavia, è importante notare che i linfociti B possono attivare i linfociti T effettori, ma non quelli naïve.

### **Attivazione dei linfociti B da parte dei linfociti T helper**

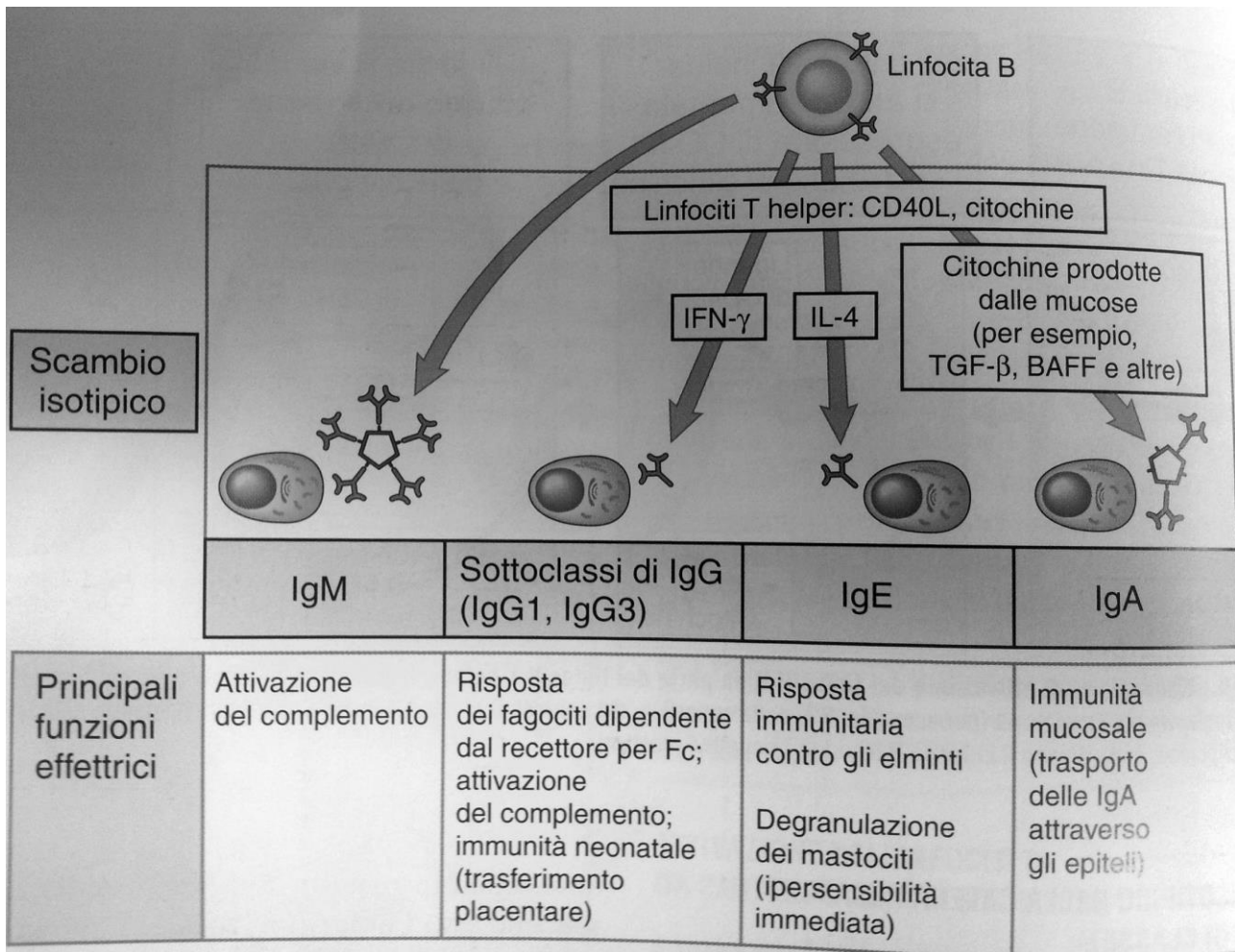
Il processo è analogo a quello di attivazione dei macrofagi: CD40L espresso dai linfociti T attivati si lega a CD40 espresso da i linfociti B e trasduce segnali che stimolano la proliferazione, la sintesi e la secrezione di anticorpi. In parallelo, le citochine secrete dai linfociti T helper stimolano ulteriormente la proliferazione cellulare e la produzione anticorpale nei linfociti B.

I segnali forniti dai linfociti T helper stimolano anche:

- **Lo scambio isotipico della catena pesante (scambio di classe).** In questo processo i linfociti T helper stimolano la progenie IgM<sup>+</sup> e IgD<sup>+</sup> dei linfociti B a produrre anticorpi di diverso isotipo. Questo meccanismo è importante in quanto un'efficace difesa dell'ospite richiede che il sistema immunitario produca diverse classi anticorpali in risposta ai differenti microrganismi; tuttavia i linfociti B naïve esprimono solo IgM ed IgD.

Lo scambio isotipico è innescato dall'attivazione coordinata da parte di CD40L e di alcune citochine.

Le citochine secrete dai linfociti T helper determinano quale isotipo di anticorpo sarà prodotto attraverso la scelta del gene per la regione costante della catena pesante che deve essere coinvolto nel processo di *ricombinazione per scambio*; gli anticorpi così prodotti mantengono la stessa specificità antigenica del linfocita B progenitore.



- **Maturazione dell'affinità.** È il processo che determina il miglioramento dell'affinità degli anticorpi nel corso di prolungate o ripetute esposizioni ad antigeni proteici. La maturazione dell'affinità avviene nei centri germinativi dei follicoli linfoidi ed è il risultato di ipermutazioni somatiche nei geni che codificano per le Ig nei linfociti B proliferanti; questo processo è seguito dalla selezione dei linfociti B dotati di maggiore affinità per l'antigene.

### Feedback anticorpale

Questo meccanismo porta alla cessazione della produzione di anticorpi da parte dei linfociti B. Si basa sul fatto che gli anticorpi prodotti diffondono nell'organismo e formano immunocomplessi con gli antigeni presenti; successivamente i linfociti B possono legare l'antigene presente nell'immunocomplesso attraverso il recettore per l'antigene ma, allo stesso tempo, possono riconoscere il frammento Fc dell'anticorpo complessato mediante un particolare tipo di recettore chiamato FcγRII. Questo recettore genera segnali inibitori che annullano quelli attivatori generati dal recettore per l'antigene: tale meccanismo determina la fine della risposta B.

## RISPOSTA ANTICORPALE T-INDIPENDENTE

I polisaccaridi, i lipidi e gli antigeni non proteici innescano una risposta umorale in assenza dell'intervento dei linfociti T helper.

Poiché i polisaccaridi e i lipidi contengono numerose copie ripetute dello stesso epitopo (antigeni multivalenti) essi sono in grado di causare il cross-linking dei recettori dei linfociti B, provocando un'attivazione sufficiente a indurre la proliferazione e la differenziazione anche in assenza dei linfociti T helper.

I **linfociti B della zona marginale** della milza sono i principali responsabili della risposta anticorpale T-indipendente nei confronti degli antigeni presenti in circolo, mentre i **linfociti B-1** sono deputati alle risposte T-indipendenti ai microrganismi delle mucose e del peritoneo.

## ANTICORPI (funzioni)

Alcuni linfociti B, in seguito al riconoscimento dell'antigene, si differenziano in plasmacellule che sintetizzano e secernono anticorpi con diversi isotipi (classi) della catena pesante. Questi anticorpi possono agire a distanza dal sito di produzione.

Gli anticorpi protettivi sono generati durante la risposta (primaria) ai microbi e in maggiore quantità durante le successive risposte (secondari).

Gli anticorpi bloccano l'infettività dei microbi e gli effetti dannosi delle tossine microbiche semplicemente legandosi ai microbi e alle tossine tramite le regioni **Fab**. La regione **Fc** contiene i siti di legame per i recettori Fc dei fagociti [FCγRI (CD64)] e per le proteine del complemento; questo legame si verifica solo dopo che numerose molecole Ig hanno riconosciuto e si sono legate a un microbo o all'antigene microbico. Questo legame causa l'attivazione dei fagociti che iniziano produrre, nei loro lisosomi, grandi quantità di specie reattive dell'ossigeno, monossido di azoto ed enzimi proteolitici. La fagocitosi mediata dagli anticorpi è il principale meccanismo di difesa contro i batteri capsulati. La milza contiene un gran numero di fagociti e costituisce una sede importante per l'eliminazione dei microbi opsonizzati.

Il processo di rivestimento di particelle per la successiva fagocitosi è detto **opsonizzazione**, e le molecole che rivestono microbi sono chiamate **opsonine**.

Lo scambio isotipico e la maturazione dell'affinità potenziano le funzioni degli anticorpi; si osservano soprattutto negli anticorpi prodotti durante la risposta agli antigeni proteici (risposta T-dipendente).

## Citotossicità cellulare anticorpo-dipendente

Le cellule Natural Killer (NK) e altri leucociti possono legarsi alle cellule ricoperte da anticorpi e distruggerle.

Le cellule NK esprimono un recettore Fc detto FcγRIII (CD16) che lega le IgG fissate alla superficie di una cellula; il legame con questo recettore attiva il rilascio del contenuto dei granuli delle cellule NK. Questo processo prende il nome di *citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC)*.

### Immunità mucosale

Le IgA sono prodotte nei tessuti linfoidi associati alle mucose e trasportati attivamente attraverso l'epitelio.

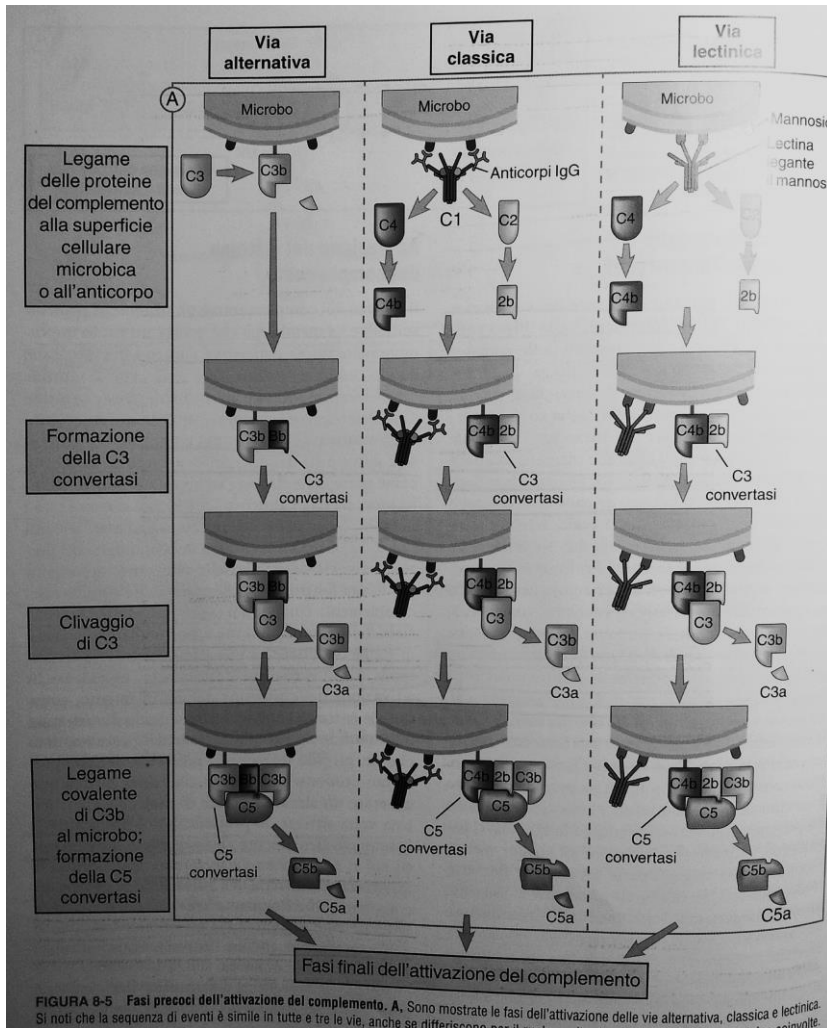
La propensione dei tessuti linfoidi associati alle mucose a produrre IgA è dovuta alla produzione in questi tessuti di elevati livelli delle citochine responsabili dello scambio verso questo isotipo, incluso il TGF- $\beta$ ; inoltre una frazione di queste Ig può essere prodotta dalle cellule B-1.

### SISTEMA DEL COMPLEMENTO

Molte proteine del complemento sono enzimi proteolitici che si attivano a vicenda in una “cascata enzimatica”; questa porta alla formazione di molecole effettrici che partecipano in diversi modi all'eliminazione dei microbi. Una volta attivate, le proteine del complemento si fissano alla superficie della cellula cui si è verificata l'attivazione.

Vie di attivazione:

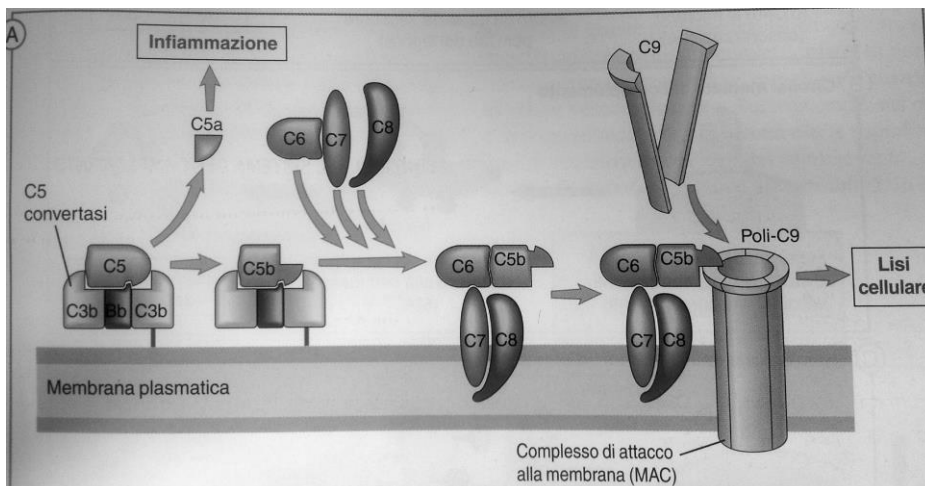
- ❖ **Via alternativa.** La più abbondante proteina del complemento presente nel plasma è chiamata **C3**, essa va incontro a una limitata idrolisi spontanea il cui prodotto è il frammento **C3b**.
  - Il **C3b** forma legami con le proteine e i polisaccaridi sulle superfici dei microbi;
  - successivamente al **C3b** si lega il **frammento Bb** derivato dall'idrolisi, catalizzata da una proteasi plasmatica (il fattore D), del **fattore B**.
  - Il complesso **C3bBb** taglia enzimaticamente altre proteine **C3** (funzionando come *C3 convertasi della via alternativa*) generando frammenti **C3b** che legano altri microbi.
  - Alcune molecole **C3bBb** legano un'ulteriore **C3b**, dando luogo al complesso **C3bBbC3b** che funziona da *C5 convertasi* generando i frammenti **C5a** e **C5b**.
  - FASI FINALI DELL'ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO
- ❖ **Via classica.** Si attiva quando le IgM o le IgG (IgG1 o IgG2) legano gli antigeni sulla superficie microbica.
  - La porzione Fc delle Ig legate al microbo interagiscono con la proteina **C1** attivandone la proprietà enzimatica.
  - **C1** catalizza l'idrolisi di **C2** e **C4** che vengono scisse rispettivamente nei frammenti **2b** e **4b** che si aggregano a formare il complesso **C4b2b**;
  - **C4b2b** rimane legato all'anticorpo e alla superficie microbica agendo come *C3 convertasi della via classica*, la quale scinde altri **C3** formando frammenti di **C3b**.
  - Alcuni **C3b** si legano al complesso **C4b2b** formando il complesso **C4b2bC3b** che agisce da *C5 convertasi* generando i frammenti **C5a** e **C5b**.
  - FASI FINALI DELL'ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO
- ❖ **Via lectinica.** È avviata dal legame della lectina plasmatica che lega il mannosio (MBL) ai microbi, in assenza di anticorpi. La **MBL** è strutturalmente simile a un componente di **C1** che nella via classica serve ad attivare **C2** e **C4**. I passaggi successivi sono gli stessi della via classica.



### Fasi finali dell'attivazione del complemento

Il risultato finale delle prime fasi dell'attivazione è che la superficie dei microbi viene rivestita da frammenti di C3b.

Gli eventi terminali dell'attivazione del complemento iniziano con il legame di C5 alla C5 convertasi e la conseguente proteolisi di C5 che genera C5b. Al C5b così formato si legano le componenti C6, C7 e C8 del complemento che catalizzano la formazione del *complesso di attacco alla membrana* (MAC) formato dal C9 polimerizzato.



### Funzioni del sistema del complemento

- Il MAC si inserisce nella membrana della cellula microbica interrompendone l'impermeabilità e causando la morte del microbo sia per lisi osmotica sia per apoptosi. Tuttavia è efficace solo nei confronti di batteri che hanno pareti cellulari sottili.
- I frammenti di C3b che rivestono i batteri fungono da opsonine e sono riconosciuti dai fagociti tramite il recettore del complemento di tipo 1 (CR1 o CD35).
- I frammenti peptidici derivati dal taglio proteolitico di C3, C4 e C5 sono fattori chemiotattici per i neutrofili, stimolano il rilascio di mediatori dell'infiammazione da parte dei leucociti e stimolano l'attivazione endoteliale.
- Un prodotto dell'idrolisi di C3, la C3d, viene riconosciuto dal recettore CR2 dei linfociti B nei quali stimolano le risposte antimicrobiche.
- Le proteine del complemento associate ai complessi antigene-anticorpo sono riconosciute dalle cellule dendritiche follicolari nei centri germinativi, consentendo agli antigeni di essere esposti per l'ulteriore attivazione dei linfociti B.

### TOLLERANZA

Di norma i microbi sono immunogenici cioè stimolano una risposta effettrice nei linfociti; mentre gli antigeni self sono di norma tollerogenici cioè inducono tolleranza in quanto il linfocita che viene in contatto con questo antigene viene funzionalmente inattivato oppure ucciso.

La tolleranza immunologica si può instaurare quando i linfociti in via di sviluppo incontrano gli antigeni self negli organi linfoidi primari (tolleranza centrale); oppure quando i linfociti immaturi incontrano l'antigene nei tessuti linfoidi periferici (tolleranza periferica).

#### Tolleranza centrale dei linfociti T

La **selezione negativa** rappresenta il principale meccanismo attraverso cui si esplica la tolleranza centrale. Il riconoscimento ad alta affinità di un antigene self nel timo è possibile solo se questo vi è presente ad alte concentrazioni e a condizione che il recettore espresso da linfocita T possieda un'alta affinità. Il processo di selezione negativa riguarda linfociti T autoreattivi sia CD4<sup>+</sup> sia CD8<sup>+</sup> in grado di riconoscere peptidi self montati su molecole MHC.

Alcuni linfociti T CD4<sup>+</sup> immaturi che riconoscono antigeni self nel timo non muoiono, ma proseguono il loro sviluppo in **linfociti T regolatori** che si localizzeranno nei tessuti periferici.

#### Tolleranza periferica dei linfociti T

Si esplica quando i linfociti maturi riconoscono antigeni self nei tessuti periferici e non reagiscono a tale stimolo:

- **Anergia.** Indica l'inattivazione funzionale dei linfociti T che si realizza quando queste cellule riconoscono antigeni in mancanza di livelli adeguati di molecole costimolatorie (secondo segnale), le quali sono necessarie per una completa attivazione. Il segnale 1 è sempre l'antigene, mentre il segnale 2 è fornito dalle molecole costimolatorie indotte dal riconoscimento microbico nelle APC.

I linfociti T autoreattivi ricevono continuamente segnali stimolatori, in seguito al riconoscimento dell'antigene self (segnale 1), ma in assenza dell'attivazione dell'immunità innata non ricevono il segnale 2 da parte delle APC; in quanto queste ultime si trovano in uno stato non attivato ed esprimono bassi o nulli i livelli di molecole costimolatorie. A questo punto il recettore TCR cessa di trasmettere segnali attivatori, oppure il linfocita T può ingaggiare uno dei recettori inibitori della famiglia CD28 (CTLA-4 o PD-1) generando una condizione di anergia.

- **Inibizione da parte di linfociti T regolatori.** Questi linfociti si sviluppano, nel timo o nei tessuti periferici, in concomitanza con il riconoscimento di antigeni self e bloccano l'attivazione dei linfociti potenzialmente pericolosi. La maggior parte dei linfociti T regolatori è CD4<sup>+</sup> ed esprime alti livelli di CD25, la catena  $\alpha$  del recettore per l'IL-2; la sopravvivenza quindi di questi linfociti dipende dalla citochina IL-2. Anche il TGF- $\beta$  svolge un ruolo nella generazione dei linfociti T regolatori.
- **Delezione: morte cellulare indotta dall'attivazione.** Il riconoscimento di antigeni self può stimolare vie apoptotiche che portano all'eliminazione (delezione) dei linfociti autoreattivi. Esistono due meccanismi di morte dei linfociti T maturi, entrambi determinati dalla riconoscimento di antigeni self:
  1. il riconoscimento dell'antigene può portare alla produzione di proteine proapoptotiche, le quali innescano la morte cellulare attraverso la *via mitocondriale*;
  2. il secondo meccanismo, sempre dipendente da riconoscimento di antigeni self, riguarda la coespressione dei recettori di morte e dei loro ligandi, i quali generano segnali che culminano nell'attivazione delle caspasi e nell'apoptosi attraverso la cosiddetta *via dei recettori di morte* (Fas e FasL).

### Tolleranza dei linfociti B

Gli antigeni T-indipendenti (polisaccaridi, lipidi e acidi nucleici self) non possono essere riconosciuti dai linfociti T, perciò, per evitare la produzione di anticorpi, questi antigeni devono indurre tolleranza nei linfociti B.

- **Tolleranza centrale dei linfociti B.** Alcuni linfociti B immaturi che riconoscono nel midollo antigeni self possono riattivare le ricombinasi ed esprimere nuove catene leggere Ig; queste si associano alle catene pesanti precedentemente espresse. Tale processo è chiamato **editing recettoriale**.  
Se l'editing risulta inefficace, i linfociti B immaturi che continuano a riconoscere antigeni self con alta affinità muoiono per apoptosi. Questo processo di delezione è simile alla *selezione negativa* dei linfociti T.
- **Tolleranza periferica dei linfociti B.** Il riconoscimento di un antigene da parte di un linfocita B, in assenza di coinvolgimento dei linfociti T (di antigeni T-indipendenti) conduce alla sua anergia. Gli antigeni T-indipendenti possono attivare i linfociti B in assenza di cooperazione da parte dei linfociti T solo se in grado di produrre un forte livello di attivazione.  
I linfociti B anergici sono in grado di fuoriuscire dai follicoli linfoidi da cui rimarranno successivamente esclusi; la mancanza di stimoli di sopravvivenza ne può determinare la morte.

## AUTOIMMUNITÀ

L'autoimmunità si definisce come la reazione del sistema immunitario nei confronti degli antigeni self (autologhi). I principali fattori coinvolti sono l'ereditarietà di geni di suscettibilità e alcuni stimoli ambientali, quali le infezioni.

L'autoimmunità può manifestarsi con la produzione di autoanticorpi o con l'attivazione di linfociti T autoreattivi.

- **Fattori genetici.** Molte patologie autoimmuni sono associate alla presenza di particolari alleli MHC (HLA). Questi possono contribuire allo sviluppo di autoimmunità in quanto: inefficienti nel presentare antigeni self, determinando un deficit nella selezione negativa dei linfociti T; oppure quando gli antigeni da essi presentati non riescono a stimolare lo sviluppo di linfociti T regolatori.  
Anche altri geni alterati, diversi da quelli HLA, sono associati allo sviluppo di malattie autoimmuni:

- Geni per la tirosina fosfatasi (PTPN22); un enzima che può regolare l'attivazione dei linfociti T.
  - Geni per il sensore microbico citoplasmatico (NOD-2) che può diminuire la resistenza ai microbi intestinali.
  - Geni che codificano per la catena  $\alpha$  del recettore di IL-2, che può influenzare l'equilibrio tra linfociti T effettori e regolatori, e il recettore per la citochina IL-23, che sostiene lo sviluppo dei linfociti proinfiammatori  $T_H17$ .
  - Geni AIRE che causa ridotta espressione di antigeni tissutali e anomala eliminazione dei linfociti T autoreattivi.
- **Infezioni.** Un'infezione in un tessuto può indurre una risposta innata locale che stimola nelle APC l'espressione di molecole costimolatorie e citochine. Queste APC possono attivare i linfociti T specifici per antigeni self espressi in quel tessuto: in altre parole, l'infezione può rompere l'anergia e promuovere l'attivazione dei linfociti autoreattivi. Inoltre alcuni microbi possono produrre antigeni peptidici simili ad antigeni self (**mimetismo molecolare**) e innescare una reazione crociata culminante in un attacco del sistema immunitario contro il self.

### ***Lupus eritematoso sistemico***

È una malattia autoimmune multisistemica caratterizzata da un'ampia gamma di autoanticorpi (in particolare anticorpi antinucleo): alcuni sono diretti contro varie componenti nucleari e citoplasmatiche, ma non hanno specificità d'organo né sono caratteristici solo del LES, mentre altri riconoscono antigeni di membrana delle cellule ematiche.

Gli *anticorpi antinucleo (ANA)* sono diretti contro antigeni nucleari e se ne distinguono 4 tipi:

1. Anticorpi anti-DNA.
2. Anticorpi anti-istoni.
3. Anticorpi antiribonucleoproteine (proteine non istoniche associate all'RNA).
4. Anticorpi antinucleolo.

Oltre agli ANA vi sono anche altri autoanticorpi: alcuni diretti contro le cellule ematiche (eritrociti, piastrine e linfociti) e altri contro proteine legate ai fosfolipidi.

Il difetto fondamentale è un deficit della tolleranza immunologica verso gli antigeni self a cui si aggiungono fattori genetici e ambientali.

### ***Artrite reumatoide***

È una malattia infiammatoria sistemica cronica che può colpire molti tessuti e organi ma aggredisce principalmente le articolazioni. Le cause principali sono la predisposizione genetica, l'ambiente e l'autoimmunità.

L'artrite reumatoide è scatenata dall'esposizione di un ospite geneticamente sensibile a un antigene artritogeno, che porta alla compromissione della tolleranza immunologica verso il self e a una reazione infiammatoria cronica. In tal modo si instaura un'artrite acuta, ma è la continua reazione autoimmune, con l'attivazione dei linfociti T helper  $CD4^+$  e la liberazione locale di mediatori dell'infiammazione e citochine, che alla fine distrugge l'articolazione.

## **RISPOSTE IMMUNITARIE CONTRO I TRAPIANTI**

Il rigetto è il risultato di una reazione infiammatoria che danneggia il tessuto trapiantato e che dipende dall'attivazione dell'immunità adattativa. I trapianti allogenici e xenogenici (allotraspianti e xenotraspianti) sono sempre rigettati.

### Antigeni dei trapianti

Gli antigeni più importanti nel determinare il rigetto degli allotrapianti sono le proteine dell'MHC. Il motivo risiede nel fatto che tutti i linfociti T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> sono selezionati durante la maturazione per la loro capacità di riconoscere peptidi montati su MHC self (ristretti per MHC self): quindi il riconoscimento di molecole MHC allogeniche negli allotrapianti non è altro che un esempio di reazione immunitaria crociata. Come risultato, molti linfociti T ristretti per MHC self specifici per diverse antigeni peptidici possono riconoscere anche altre molecole MHC allogeniche. Bisogna ricordare inoltre che ciascuna cellula appartenente a un trapianto allogenico esprimerà migliaia di molecole MHC, ciascuna delle quali potrà essere riconosciuta come estranea dai linfociti T del ricevente.

Anche altre proteine polimorfe possono entrare in gioco nel determinare il rigetto dei tessuti trapiantati. Di solito si tratta di forme alleliche, diverse tra donatore e ricevente, di normali proteine cellulari che vengono indicate come antigeni minori di istocompatibilità. Di solito queste reazioni sono meno intense rispetto a quelle causate da riconoscimento di MHC estranei; tuttavia, nelle trasfusioni di sangue e nei trapianti di midollo osseo questi antigeni sono fondamentali per il rigetto.

### Risposte contro i trapianti

I linfociti T del ricevente possono riconoscere gli alloantigeni del donatore in modi diversi, a seconda di quali siano le cellule che li espongono.

Molti tessuti contengono cellule dendritiche e queste sono introdotte nel ricevente insieme al trapianto e possono successivamente migrare ai linfonodi drenanti. I linfociti T del ricevente si possono attivare riconoscendo gli MHC allogenici presenti su queste cellule dendritiche: si parla allora di **riconoscimento diretto**. Esso induce lo sviluppo di linfociti T alloreattivi (CTL) che riconoscono e attaccano le cellule del trapianto.

Se le cellule del trapianto o gli alloantigeni vengono fagocitati dalle cellule dendritiche del ricevente, esse possono essere processate e presentate associate alle molecole MHC del ricevente, che sono ovviamente self. Questo processo, definito **riconoscimento indiretto**, non è altro che una presentazione crociata (cross-priming).

Le cellule dendritiche che presentano gli alloantigeni attraverso la via diretta o indiretta sono dotate anche di molecole costimolatorie e possono stimolare sia i linfociti T helper sia i CTL alloreattivi. Tuttavia, i CTL alloreattivi generati attraverso la via indiretta, riconoscendo alloantigeni montati su MHC self, non sono in grado di riconoscere e uccidere le cellule del trapianto (che esprimono MHC non self). Per tale ragione è plausibile che il riconoscimento indiretto porti a un tipo di rigetto dovuto prevalentemente all'azione dei linfociti T CD4<sup>+</sup>. Questi possono entrare nel trapianto insieme con le APC dell'ospite, riconoscere gli antigeni presentati dalle APC e secernere citochine che danneggiano il tessuto attraverso una reazione di ipersensibilità di tipo ritardato (DTH).

### Rigetto dei trapianti

- Il **rigetto iperacuto**, che avviene nell'arco di minuti, è caratterizzato dalla trombosi dei vasi del tessuto trapiantato e dalla sua necrosi ischemica. È mediato da anticorpi circolanti che legano antigeni espressi dalle cellule endoteliali del trapianto; essi attivano il complemento e la cascata della coagulazione determinando un danno endoteliale e la formazione di trombi. Tali anticorpi preformati possono essere IgM che riconoscono antigeni gruppo-ematici, oppure possono essere anticorpi specifici per molecole MHC allogeniche ed essersi formati durante un precedente contatto.
- Il **rigetto acuto** che avviene entro giorni o settimane è dovuto ai linfociti T che uccidono direttamente le cellule del trapianto, se gli alloantigeni riconosciuti sono tissutali, oppure che lo danneggiano indirettamente inducendo danno vascolare, se gli antigeni riconosciuti sono

endoteliali. Il danno vascolare è causato in gran parte dagli anticorpi che attivano la cascata del complemento attraverso la via classica.

- Il **rigetto cronico** avviene nel corso di mesi o anni e conduce alla perdita progressiva della funzione dell'organo trapiantato. Si manifesta con la fibrosi del trapianto e con il graduale restringimento dei suoi vasi (arteriosclerosi). In entrambi i casi i responsabili sono i linfociti T che reagiscono contro alloantigeni del trapianto, secernendo citochine che stimolano la proliferazione e l'attività di fibroblasti e cellule muscolari lisce vascolari

### **Trapianto di cellule di origine ematica e midollare**

La principale barriera alla trasfusione è la presenza di **antigeni gruppo-ematici** estranei, il cui prototipo è costituito dai antigeni AB0. Questi antigeni sono espressi su eritrociti, cellule endoteliali e molti altri tipi cellulari.

Le molecole AB0 sono glicosfingolipidi contenenti un glicano centrale complessato con sfingolipidi. I nomi A e B indicano il tipo di zucchero terminale presente, ovvero rispettivamente N-acetilgalattosamina e galattosio; AB significa che sono presenti entrambi, mentre 0 indica che nessuno dei due è presente. Gli individui che esprimono un antigene gruppo-ematico sono tolleranti per quell'antigene, ma possiedono anticorpi contro l'altro.

Gli anticorpi preformati reagiscono contro cellule ematiche trasfuse esprimenti l'antigene target e il risultato può essere una grave **reazione trasfusionale**.

Poiché gli antigeni gruppo-ematici sono zuccheri, essi non stimolano la risposta linfocitaria T.

Il trapianto di midollo osseo pone molti problemi speciali poiché il sistema immunitario reagisce fortemente contro le cellule midollari allogeniche ed è quindi indispensabile un'alta compatibilità HLA tra donatore e ricevente.

Inoltre, se insieme con le cellule midollari del donatore si introducono anche linfociti T allogenici maturi, questi possono attaccare i tessuti del ricevente determinando una reazione clinica grave detta **reazione del trapianto verso l'ospite** (GVHD).

## **IPERSENSIBILITÀ**

Sono risposte immunitarie patologiche indotte da un'abnorme suscettibilità all'antigene cui fa seguito una risposta eccessiva.

Si verificano quando la risposta a un antigene esogeno non viene opportunamente regolata oppure quando la risposta è diretta contro antigeni autologhi.

### **IPERSENSIBILITÀ IMMEDIATA (ipersensibilità di tipo 1)**

Queste reazioni sono anche definite allergie o atopie (febbre da fieno, allergie alimentari, asma bronchiale e anafilassi).

In alcuni individui predisposti alcuni antigeni proteici (allergeni) scatenano una risposta abnorme dei linfociti  $T_H2$ . Due delle citochine prodotte dai linfociti  $T_H2$ , IL-4 e IL-13, agiscono sui linfociti B specifici per l'antigene inducendone la differenziazione in plasmacellule secernenti IgE.

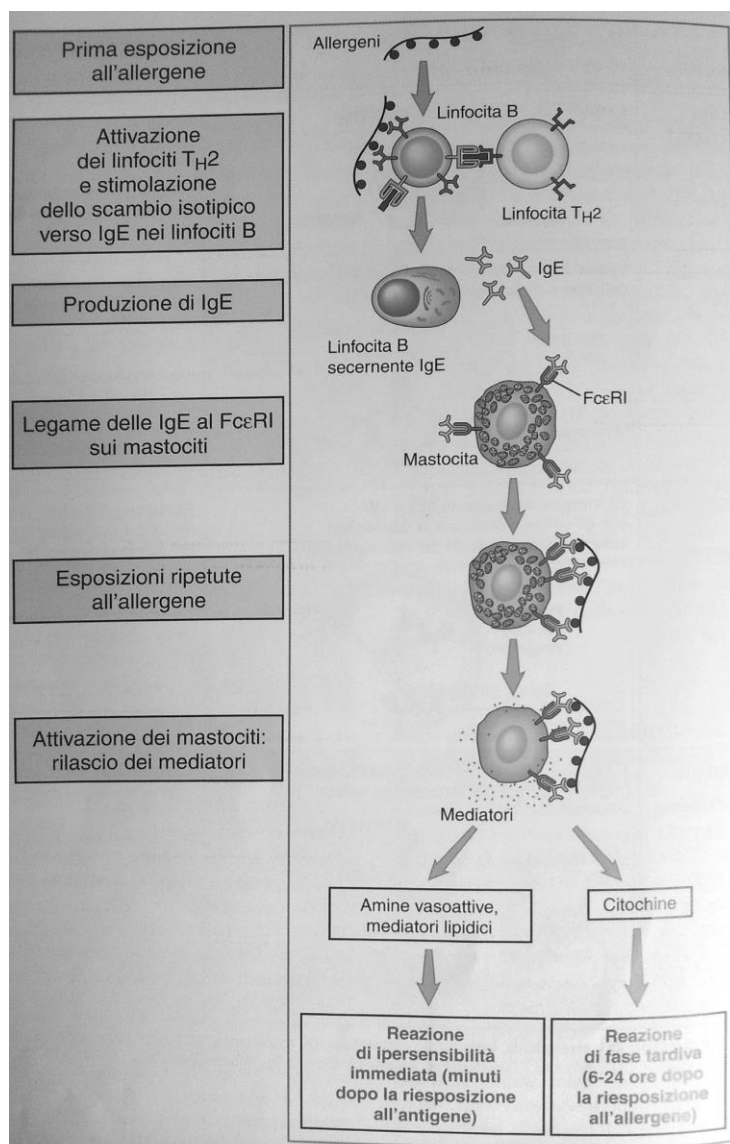
In un individuo atopico i mastociti sono rivestiti da IgE dirette contro l'antigene verso il quale l'individuo è allergico: questo processo è definito "sensibilizzazione". Questi mastociti sono presenti nei tessuti connettivi di svariati organi quindi la loro attivazione è data dal punto di ingresso degli allergeni.

Il recettore per Fcε (per la catena pesante tipo ε delle IgE) sui mastociti è chiamato FcεRI.

In presenza di una pregressa esposizione all'allergene, che avrà stimolato la produzione di IgE specifiche ed il loro legame ai mastociti e, in caso di una seconda esposizione all'allergene, esso riesce a legare due o più molecole di IgE in modo da indurre il cross-linking dei recettori FcεRI e l'inizio della trasduzione del segnale intracellulare. L'attivazione dei mastociti porta a tre tipi di risposte:

- Il rapido rilascio del contenuto dei granuli (degranulazione). L'*istamina* è la principale amina vasoattiva. Le *proteasi* possono causare danni locali ai tessuti.
- La sintesi e la secrezione di mediatori lipidici. Questi sono i metaboliti dell'acido arachidonico quali le prostaglandine che causano vasodilatazione, e i leucotrieni che causano la contrazione prolungata delle cellule muscolari lisce.
- Il rilascio di citochine che agiscono nell'arco di alcune ore, reclutando neutrofili, eosinofili e i linfociti T<sub>H2</sub> al sito reattivo (reazione di fase tardiva).
  - ↳ Gli eosinofili sono attivati dall'IL-5 prodotta dai linfociti T<sub>H2</sub> e dai mastociti.
  - ↳ L'IL-13 prodotta dai linfociti T<sub>H2</sub> stimola le cellule epiteliali delle vie aeree superiori a secernere muco.

I mediatori prodotti dai mastociti sono responsabili sia delle reazioni di fase acuta a livello vascolare e muscolare sia dell'infiammazione, i due segni rappresentativi dell'ipersensibilità immediata.



## MALATTIE CAUSATE DA ANTICORPI (ipersensibilità di tipo 2)

Gli anticorpi (IgM e IgG) diretti contro componenti cellulari o della matrice extracellulare possono depositarsi in qualsiasi tessuto che esprime in modo rilevante l'antigene bersaglio; di norma le malattie causate da anticorpi sono organo-specifiche.

Questo tipo di reazione è tipica delle reazioni trasfusionali, dell'anemia emolitica e della trombocitopenia autoimmuni e delle reazioni di ipersensibilità ai farmaci. Gli anticorpi sono diretti contro antigeni tissutali, sia verso le superfici cellulari che verso altri componenti dei tessuti, come ad esempio la membrana basale glomerulare: vanno a danneggiare direttamente le cellule rendendole suscettibili alla fagocitosi. Gli antigeni che suscitano queste risposte possono essere sia esogeni, cioè derivanti da allergeni esterni al nostro corpo, sia endogeni adsorbiti e intrappolati nelle membrane cellulari. Le affezioni di tipo II hanno due possibili evoluzioni: la lisi diretta delle cellule che colpiscono o la loro opsonizzazione.

- ↳ Nella **lisi diretta** l'anticorpo IgM o IgG reagisce con l'antigene presente sulla superficie cellulare causando l'attivazione del sistema del complemento e la formazione del complesso di attacco alla membrana.
- ↳ Nell'**opsonizzazione** gli anticorpi o i frammenti C3b vengono fissati sulla membrana delle cellule che devono essere eliminate per renderle più suscettibili alla fagocitosi. Questo tipo di reazione interessa soprattutto le cellule ematiche quali eritrociti, leucociti e piastrine.
- ↳ **ADCC Citotossicità anticorpo-dipendente mediata da cellule.** In questo caso le cellule bersaglio rivestite di IgG in basse concentrazioni vengono uccise da cellule del sistema immunitario non sensibilizzate che possiedono recettori Fc, le quali si legano a questi recettori causando lisi cellulare senza fagocitosi (come nella lisi diretta). Questa reazione può essere mediata da neutrofili, eosinofili, monociti e cellule NK.

## MALATTIE CAUSATE DA IMMUNOCOMPLESSI (ipersensibilità di tipo 3)

Gli anticorpi (IgG o IgM) possono intercettare antigeni esogeni solubili e gli immunocomplessi risultanti possono depositarsi nei vasi sanguigni di svariati tessuti, causando infiammazione e danno tissutale.

Le reazioni di ipersensibilità di tipo III sono caratterizzate dalla formazione di complessi antigene-anticorpo che, interagendo con i mediatori del siero e con il sistema del complemento, suscitano una risposta infiammatoria locale o generalizzata. Questi complessi possono circolare nel torrente ematico o arrestarsi contro le pareti vascolari o in strutture di filtraggio; infatti in tal caso i siti preferiti risultano essere i glomeruli renali, le articolazioni, la cute, il cuore, le sierose e i piccoli vasi.

### ➤ **Malattia da immunocomplessi sistemica**

Gli anticorpi indotti dall'antigene si legano a diverse figure proteiche, IgG e IgM si fissano al complemento, così come le IgA, invece le IgE si legano ai basofili inducendoli a liberare PAF e istamina che inducono l'aumento della permeabilità vascolare separando le cellule dell'endotelio e permettendo ai complessi di penetrare la parete vascolare; oppure i complessi si legano alle cellule infiammatorie attraverso i recettori per Fc o C3b e danno il segnale per la liberazione dei mediatori vasoattivi e delle citochine, che come effetto finale hanno comunque l'aumento della permeabilità vascolare.

Le reazioni sono:

- ↳ Queste interazioni danno il via alla cascata del complemento.

- ⇒ Vengono prodotti fattori chemiotattici (frammenti C5 e C5c67 del complemento) che indirizzano in loco i leucociti, i polimorfonucleati e i monociti.
- ⇒ Viene rilasciata l'opsonina C3b, che favorisce la fagocitosi.
- ⇒ Vengono rilasciate le anafilatossine C3a e C5a, che provocano degranulazione dei mastociti, aumentano la permeabilità vascolare e causano la contrazione della muscolatura liscia vasale.
- ⇒ Si forma il complesso di attacco alla membrana (C5-9) che causa danni alle membrane cellulari successiva e citolisi.
- ⇒ Vengono rilasciate sostanze proinfiammatorie come prostaglandine e peptidi vasodilatatori.
- ⇒ Vengono rilasciati enzimi lisosomiali, anche in seguito alla citolisi di cui sopra, che hanno azione litica (come le proteasi).
- ⇒ La PAF prodotta dai basofili inizialmente attivati dalle IgE, provoca aggregazione piastrinica.
- ⇒ Viene attivato il fattore di Haegeman (CF-XII), che rappresenta il capostipite della via intrinseca della produzione di tutti gli altri fattori della cascata coagulativa.

Gli effetti sistemici si traducono nella formazione di microtrombi, nell'amplificazione dell'effetto infiammatorio, nell'aumento dei livelli di siero nel sangue e nell'intensa essudazione di neutrofili. Nello specifico si hanno vasculiti (come la vasculite necrotizzante acuta), glomerulonefriti, artriti, e così via, a seconda del sito in cui avviene la deposizione dei complessi. A seguito di ripetute e prolungate esposizioni all'antigene si ha un'antigenemia continua che sfocia in forme patologiche croniche come il Lupus eritematoso sistemico.

#### ➤ **Malattia da immunocomplessi locale (Reazione di Arthus)**

La forma locale della reazione di ipersensibilità di tipo III è la reazione di Arthus, che non è altro che una vasculite acuta da immunocomplessi. Per l'eccesso di anticorpi si formano enormi immunocomplessi che precipitano in situ nel giro di qualche ora e provocano effetti infiammatori come necrosi fibrinoide vasale, emorragie locali, trombosi e ischemie.

- La **malattia da siero** è indotta mediante somministrazione sistemica di antigeni proteici che causano una risposta anticorpale, portando alla formazione di immunocomplessi circolanti.

#### MALATTIE CAUSATE DAI LINFOCITI T (ipersensibilità di tipo 4)

Questo tipo di reazione è mediata da linfociti T specificatamente sensibilizzati e comprende tutte le classiche reazioni di ipersensibilità provocate da cellule T CD4+ e la citotossicità cellulare diretta mediata dalle cellule T CD8+. Rappresenta la più importante forma di risposta che il nostro organismo adotta per combattere gli organismi intracellulari.

#### ➤ **Ipersensibilità ritardata (o DTH)**

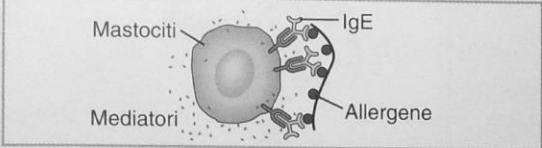
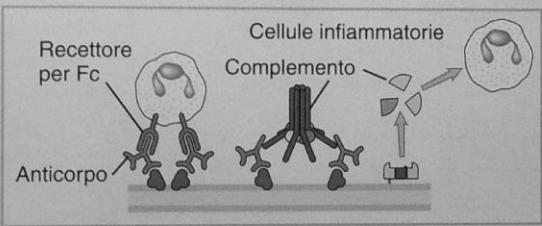
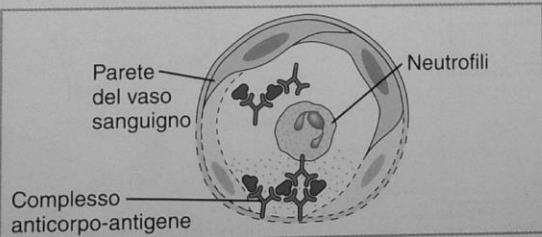
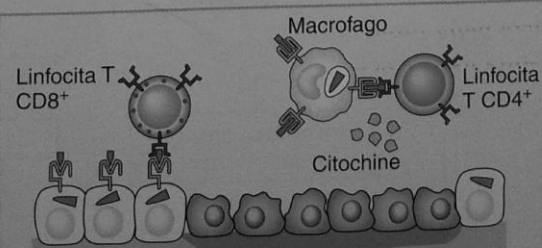
La reazione tubercolinica come detto è esemplificante e per questo verrà trattata come modello per la descrizione della reazioni di ipersensibilità ritardata. La presenza intradermica di tubercolina derivante dalla presenza del micobatterio, porta alla prima interazione tra antigene e anticorpo, per cui le cellule CD4+ non sensibilizzate riconoscono i peptidi micobatterici associati a molecole di classe II presenti sulla superficie dei monociti o di altre cellule APC (cellule presentanti l'antigene). Questa fissazione porta alla differenziazione dei T CD4+ in cellule T<sub>H</sub>1, sensibili ad un successivo insulto, analogamente a quanto accade nel caso delle reazioni di tipo anafilattico. I T<sub>H</sub>1 entrano quindi in circolo e vi possono rimanere per lunghi periodi, a volte per anni. Negli individui già precedentemente sensibilizzati si avrà, alla seconda somministrazione, un'interazione tra le cellule

T<sub>H</sub>1 della memoria e gli antigeni presenti sulle APC che attiva questi linfociti e li induce a secernere specifiche citochine, quali:

- ↳ IFN- $\gamma$ : potente attivatore macrofagico, ne aumenta l'avidità fagocitaria, li stimola a produrre molecole di classe II, per cui la presentazione antigenica è velocizzata; e i fattori di crescita lipoproteici che stimolano la proliferazione dei fibroblasti e aumentano la sintesi di collagene.
- ↳ IL-2: provoca la proliferazione (con stimolazione paracrina e autocrina) dei linfociti T che si accumulano in loco.
- ↳ TNF- $\alpha$  e linfotossine: citochine che stimolano le cellule endoteliali a secernere prostaglandina, ad azione vasodilatativa, ELAM-1 che fa aderire i linfociti e i monociti di passaggio e altri fattori chemiotattici come l'IL-8, favorendo nel complesso la formazione di granulomi, da qui quella che viene chiamata infiammazione granulomatosa.

### ➤ Citotossicità mediata da cellule T

In questo caso linfociti T CD8<sup>+</sup> precedentemente sensibilizzati uccidono direttamente le cellule che portano l'antigene. Questa reazione è alla base del rigetto nei trapianti. In presenza di antigeni esogeni virali, questi peptidi virali vengono trasportati sulla superficie cellulare sotto forma di complessi che vengono riconosciuti e attaccati dai CTL CD8<sup>+</sup>, per cui si ha la lisi delle cellule infette prima che venga completata la replicazione virale.

| Tipi di ipersensibilità                        | Meccanismi di immunità patologica                                                                                                                                                                                         | Meccanismi di danno tissutale e malattia                                                                                                                                                                                                                                                  |
|------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ipersensibilità immediata (tipo I)             | <p>Linfociti <math>T_H2</math>, IgE, mastociti, eosinofili</p>                                                                           | <p>Mediatori secreti dai mastociti (amine vasoattive, mediatori lipidici, citochine)</p> <p>Inflammatione mediata dalle citochine (eosinofili, neutrofili)</p>                                                                                                                            |
| Malattie mediate da anticorpi (tipo II)        | <p>IgM ed IgG dirette contro antigeni della superficie cellulare o della matrice extracellulare</p>                                      | <p>Reclutamento e attivazione dei leucociti (neutrofili e macrofagi) mediata dal sistema del complemento e del recettore per Fc</p> <p>Osonizzazione e fagocitosi delle cellule</p> <p>Anomalie nella funzione cellulare, per esempio, trasduzione del segnale dei recettori ormonali</p> |
| Malattie mediate da immunocomplessi (tipo III) | <p>Gli immunocomplessi di IgG e IgM con gli antigeni circolanti si depositano sulla membrana basale dei vasi sanguigni</p>              | <p>Reclutamento e attivazione dei leucociti mediata dal sistema del complemento e dal recettore per Fc</p>                                                                                                                                                                                |
| Malattie mediate dai linfociti T (tipo IV)     | <p>1. Linfociti T <math>CD4^+</math> (ipersensibilità ritardata)<br/>2. CTL <math>CD8^+</math> (citolisi mediata dai linfociti T)</p>  | <p>1. Attivazione dei macrofagi, infiammazione mediata dalle citochine</p> <p>2. Lisi diretta delle cellule bersaglio, infiammazione mediata dalle citochine</p>                                                                                                                          |

### Fenomeno di Sanarelli-Shwartzman

È un modello patogenetico per lo studio della coagulazione intravasale disseminata.

La reazione locale è molto utilizzata nei lavori sperimentali medici e su modelli animali al fine di determinare la reazione infiammatoria e necrotica e verificare se determinati composti oggetto di studio sono in grado di inibire la reazione, mostrando così un'attività di tipo antiinfiammatorio.

#### ↳ Reazione sistemica.

Consiste in una reazione generalizzata che fa seguito alla infusione endovenosa con microrganismi Gram-negativi (oppure LPS o TNF) in due dosi a distanza di 24 ore una dall'altra nel coniglio. Il risultato è una sindrome emorragica importante con stato di shock e anuria che porta a morte. All'esame autoptico si rileva la deposizione di fibrina al livello polmonare, epatico, splenico e a livello dei glomeruli renali. Il quadro classico, data l'ostruzione dei tubuli renali è la necrosi bilaterale della corteccia renale.

#### ↳ Reazione locale.

Consiste in una reazione locale che in genere fa seguito alla inoculazione per via intradermica delle medesime sostanze sopracitate (endotossine, LPS, TNF) e

successivamente, a distanza di 24 ore, una seconda dose della medesima sostanza per via endovenosa. Il risultato è una zona di necrosi emorragica a livello cutaneo in corrispondenza della sede ove è stata effettuata la prima iniezione intradermica.

## IMMUNODEFICIENZE

Sono disordini causati da deficit delle risposte immunitarie, possono derivare da anomalie genetiche a carico di uno o più componenti del sistema immunitario (immunodeficienze congenite o primarie); oppure possono derivare da infezioni, anomalie nutrizionali o trattamenti farmacologici (immunodeficienze acquisite o secondarie).

### IMMUNODEFICIENZE CONGENITE (PRIMARIE)

Sono causate da difetti genetici che determinano il blocco della maturazione o delle funzioni di diverse componenti del sistema immunitario; sono caratterizzate da complicate infettive.

#### Difetti della maturazione dei linfociti

Sono caratterizzate dal blocco della maturazione dei linfociti B, T o di entrambi: difetti di entrambe le linee linfocitarie sono classificati come *immunodeficienze gravi combinate (SCID)*.

- **SCID X-linked.**

Circa la metà di queste alterazioni è legata al cromosoma X e colpisce solo i maschi: nella maggior parte dei casi è causato da mutazioni della catena di trasduzione del segnale di un recettore per le citochine. Questa subunità è denominata *catena  $\gamma$  comune ( $\gamma_c$ )*.

I linfociti immaturi, agli stadi di cellule pro-T, non possono proliferare in risposta a IL-7, il principale fattore di crescita per queste cellule; la mancata risposta causa ridotta sopravvivenza e maturazione dei precursori linfocitari. Ciò determina una profonda riduzione del numero di cellule T mature e un deficit della risposta immunitaria cellulo-mediata; si osserva inoltre un deficit delle risposte umorali a causa della mancata cooperazione da parte dei linfociti T helper. Anche le cellule Natural Killer (NK) sono deficitarie.

- **SCID autosomiche recessive.**

- ↳ Mutazioni dell'enzima *adenosina deaminasi (ADA)*, implicato nel catabolismo delle purine. Tale deficit provoca l'accumulo di metaboliti purinici tossici nelle cellule proliferanti che sintetizzano attivamente il DNA. Il deficit di ADA provoca un blocco della maturazione dei linfociti T più marcato che nei linfociti B.

- ↳ Mutazioni di una chinasi coinvolta nella trasduzione del segnale della catena  $\gamma_c$  dei recettori per le citochine.

- ↳ Mutazioni a carico dei geni RAG1 o RAG2, che codificano per componenti della ricombinasi VDJ (necessarie per la ricombinazione somatica dei geni delle immunoglobuline nei linfociti B e del recettore dei linfociti T).

- **Agammaglobulinemia X-linked.**

Le cellule B midollari non riescono a maturare oltre lo stadio di cellule pre-B, determinando un marcato calo o un'assenza dei linfociti B maturi e delle immunoglobuline sieriche. La malattia è causata da mutazioni nel gene che codifica per una chinasi denominata *tirosina chinasi dei linfociti B (tirosina chinasi di Bruton Btk)*. Quest'enzima trasduce un segnale di maturazione da parte del recettore espresso dalle cellule allo stadio pre-B.

- **Delezioni della catena pesante delle Ig.**

Sono causate dalla delezione cromosomica del 14q32 (locus della catena pesante delle Ig). Vi è assenza di IgG e talvolta di IgA o IgG.

- **Sindrome di DiGeorge.**

È un difetto selettivo nella maturazione dei linfociti T causato dallo sviluppo incompleto del timo (e delle ghiandole paratiroidi) che causa mancata maturazione dei linfociti T.

### **Difetti dell'attivazione e della funzione dei linfociti**

- **Sindrome da iper-IgM X-linked.**  
È caratterizzata dal deficit di scambio isotipico (di classe) della catena pesante dei linfociti B, con conseguente prevalenza di IgM, e gravi deficit dell'immunità cellulo-mediata contro i microbi intracellulari. La malattia è causata da mutazioni del gene che codifica per il ligando di CD40 cui consegue un deficit delle risposte umorali T-dipendenti, quali lo scambio isotipico e una ridotta attivazione macrofagica.
- **Immunodeficienza variabile comune.**  
Sono un gruppo di malattie caratterizzate da scarsa risposta anticorpale alle infezioni e da ridotti livelli sierici di IgG, IgA e spesso IgM. Le cause principali sono difetti nella maturazione e nell'attivazione dei linfociti B.
- **Sindrome delle linfocita nudo.**  
È una malattia causata dall'incapacità di esprimere le molecole MHC di classe II come conseguenza di mutazioni a carico dei fattori di trascrizione che regolano l'espressione di questi geni. È caratterizzata da notevole diminuzione dei linfociti T CD4+, a causa della loro difettosa maturazione timica e della carente attivazione negli organi linfoidei secondari.
- **Difetti nell'espressione o nella trasduzione del segnale da parte del complesso del TCR.**  
È causata da alterazioni a carico dei geni che codificano per le proteine CD3 e ZAP-70. Si osservano riduzione dei livelli dei linfociti T o alterato rapporto tra CD4+ e CD8+ che causano difetti dell'immunità cellulo-mediata.

### **Difetti dell'immunità innata**

- **Malattia granulomatosa cronica.**  
È causata da mutazioni nel enzima *ossidasi fagocitica* che catalizza la produzione nei lisosomi di specie reattive dell'ossigeno. Di conseguenza, i neutrofili e macrofagi sono incapaci di uccidere i microbi fagocitati. Ne consegue che aggregati di fagociti, incapaci di eliminare il patogeno, si accumulano attorno ai foci di infezione da microbi intracellulari; questi aggregati ricordano i granulomi.
- **Deficit di adesione leucocitaria.**  
È causato da mutazioni a carico dei geni che codificano per le integrine o per enzimi necessari per l'espressione dei ligandi delle selectine. Come conseguenza i leucociti circolanti non riescono ad aderire saldamente all'endotelio vascolare e non vengono reclutati nei siti di infezione.
- **Deficit dei fattori del complemento (C2, C3 o C4).**
- **Sindrome di Chédiak-Higashi.**  
È caratterizzata dal funzionamento anomalo dei granuli lisosomiali dei leucociti. Riguarda principalmente i fagociti e le cellule NK.

## IMMUNODEFICIENZE ACQUISITE (SECONDARIE)

Le cause più frequenti nei paesi sviluppati sono le infezioni da virus (HIV), neoplasie che coinvolgono il midollo osseo, trattamenti radio- e chemioterapici, malnutrizione calorico-proteica e rimozione della milza.

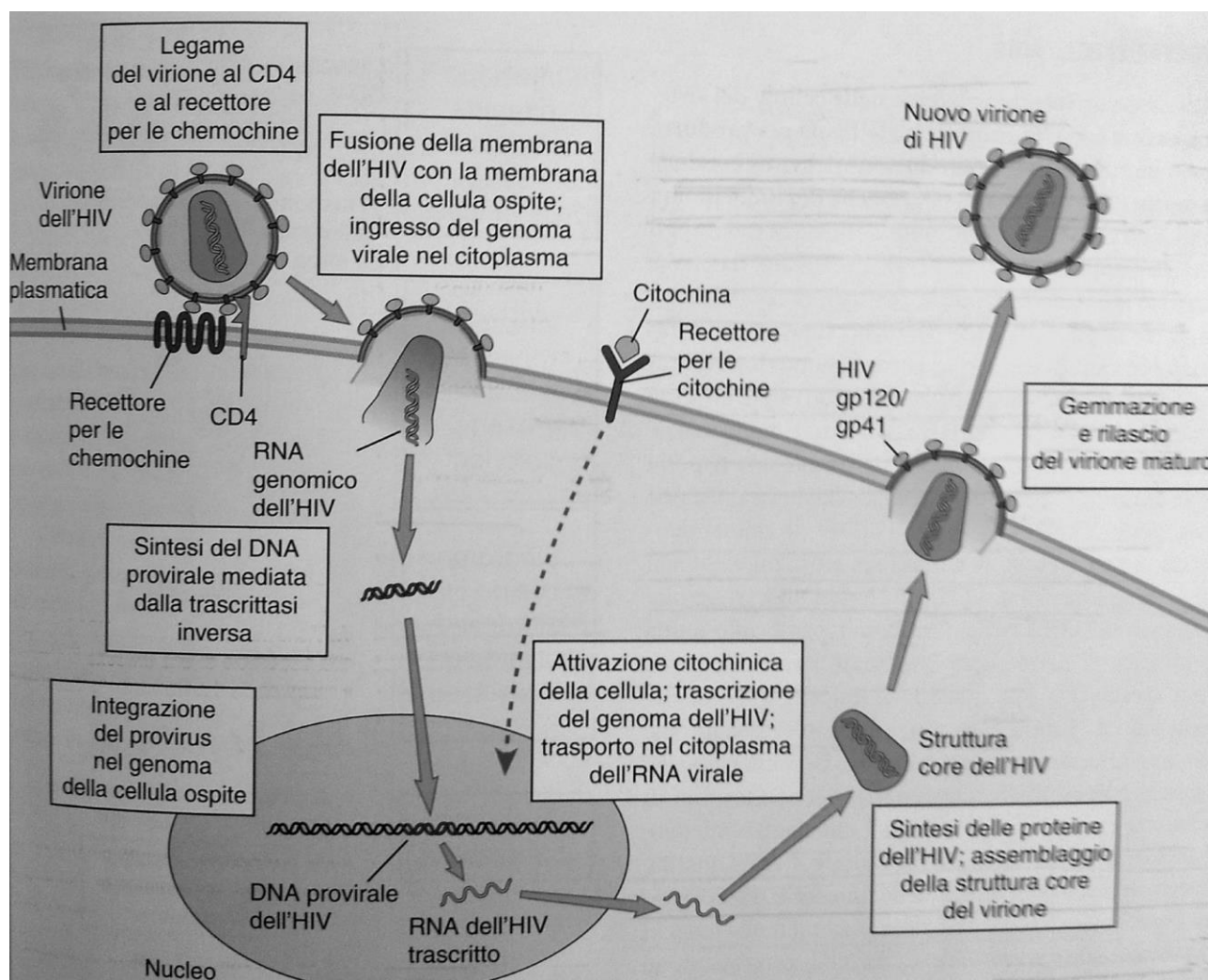
### ***Sindrome da immunodeficienza acquisita***

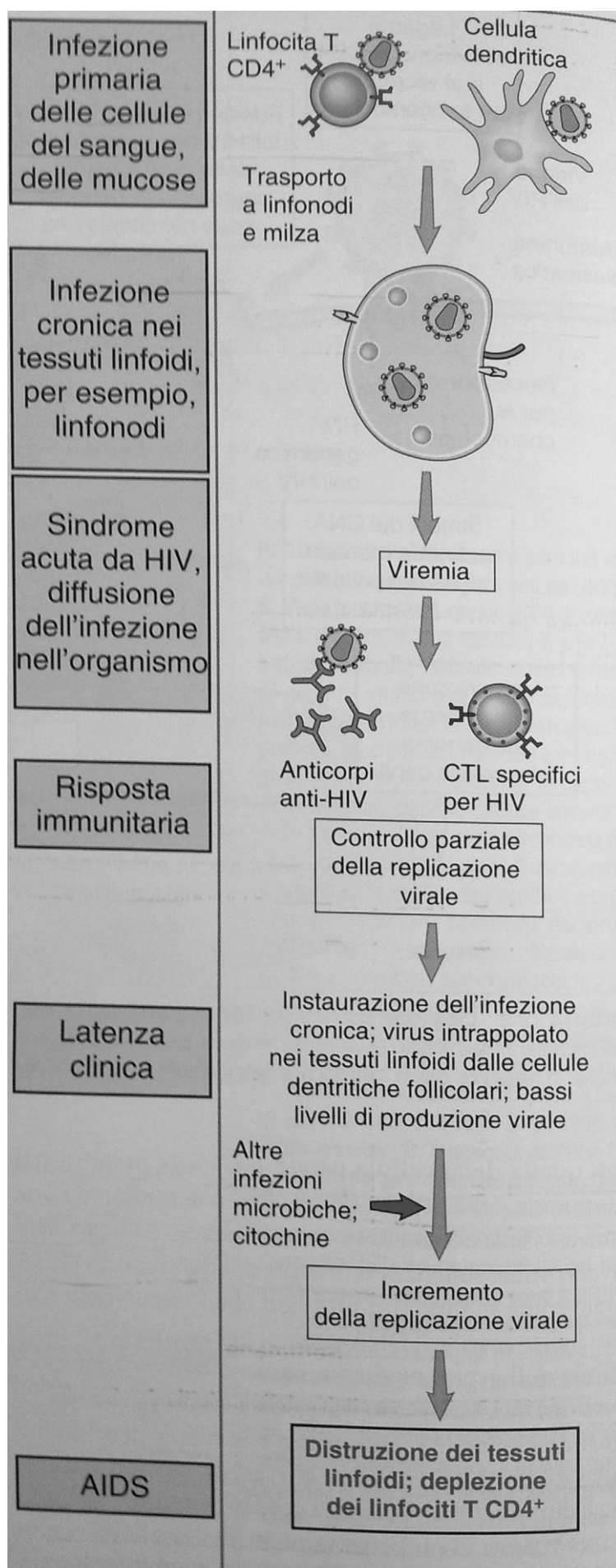
L'HIV è un retrovirus che infetta le cellule del sistema immunitario (linfociti T CD4+, macrofagi e cellule dendritiche). L'infezione è mediata dalla principale glicoproteina dell'envelope denominata *gp120*, che si lega al CD4 e ai recettori per le chemochine (CXCR4 nei linfociti T e CCR5 nei macrofagi).

Dopo l'infezione ci può essere un'acuta viremia; il virus infetta i linfociti T CD4+, le cellule dendritiche e i macrofagi localizzati nei siti d'ingresso agli epiteli, negli organi linfoidi e in circolo. L'ingresso del virus nei siti mucosali è associato a una massiva morte dei linfociti T infettati.

All'interno della cellula infettata la trascrittasi inversa virale sintetizza una copia di DNA usando l'RNA virale come stampo e il DNA virale si integra nel DNA della cellula dell'ospite mediante l'azione dell'enzima integrasi (il DNA virale così integrato è chiamato provirus).

Quando le cellule infettate vengono attivate da stimoli esterni e si attiva la trascrizione dei geni per la risposta immunitaria, si può riattivare anche il provirus stimolando la produzione di RNA e proteine virali. Questo consente l'assemblaggio del core virale in corrispondenza della membrana cellulare, l'acquisizione di un envelope lipidico dall'ospite e la gemmazione del virione pronto a infettare un'altra cellula.





Nel corso dell'infezione da HIV la principale fonte di particelle virali infettive è rappresentata dai linfociti T CD4<sup>+</sup> attivati, mentre le cellule dendritiche e i macrofagi rappresentano i serbatoi di infezione.

L'attiva espressione genica virale e la conseguente sintesi di proteine virali possono interferire con l'apparato biosintetico dei linfociti T, determinando morte cellulare durante l'infezione produttiva. La perdita dei linfociti T durante la progressione della malattia verso l'AIDS è comunque molto superiore al numero di cellule infette. La causa di ciò è da ricercare nella continua attivazione dei linfociti T (comune in queste infezioni) che li porta ad apoptosi attraverso il processo di *morte cellulare indotta dall'attivazione*. Possono morire anche altre cellule infette, come le cellule dendritiche e i macrofagi; ciò determina la distruzione dell'architettura degli organi linfoidi.

### Caratteristiche cliniche

Subito dopo l'infezione da HIV, i pazienti possono provare una sindrome parainfluenzale acuta con febbre e malessere, correlata alla viremia iniziale. Successivamente la malattia entra in un periodo di latenza clinica, durante la quale si assiste alla perdita progressiva dei linfociti T CD4+ nei tessuti linfoidei; infine, il numero di cellule T CD4+ nel sangue inizia a diminuire e quando il loro numero scende al di sotto di  $200/\text{mm}^3$  (valori normali  $1500 \text{ cellule}/\text{mm}^3$ ) i pazienti diventano suscettibili a infezioni e vengono diagnosticati come affetti da AIDS conclamato.

A questo punto i pazienti sono spesso soggetti a infezioni da microbi intracellulari e sono soggetti a infezioni "opportunistiche". Questi pazienti mostrano risposte antivirali deficitarie nella componente dei linfociti T citotossici, anche se l'HIV non infetta i linfociti T CD8+; ciò è dovuto alla deficitaria stimolazione da parte dei linfociti T helper.

I pazienti affetti da AIDS sono suscettibili anche a infezioni da batteri extracellulari a causa della riduzione delle risposte anticorpali T-dipendenti. Essi divengono inoltre suscettibili ai tumori causati dai virus oncogeni: i tipi più frequenti di tumore sono i *linfomi a cellule B* (da HPV) e il *sarcoma Kaposi* (da HHV).

Gli individui infetti da HIV producono anticorpi e CTL contro antigeni virali (come la gp120) ma tali risposte sono inefficaci in quanto il virus muta rapidamente il principale determinante antigenico bersaglio della risposta anticorpale. Inoltre i CTL sono spesso inefficaci nell'uccidere le cellule infette, poiché il virus inibisce l'espressione delle molecole MHC di classe I. Inoltre, la lisi delle cellule infette da parte dei CTL può provocare la diffusione dell'infezione ai macrofagi coinvolti nella rimozione delle cellule lisate.