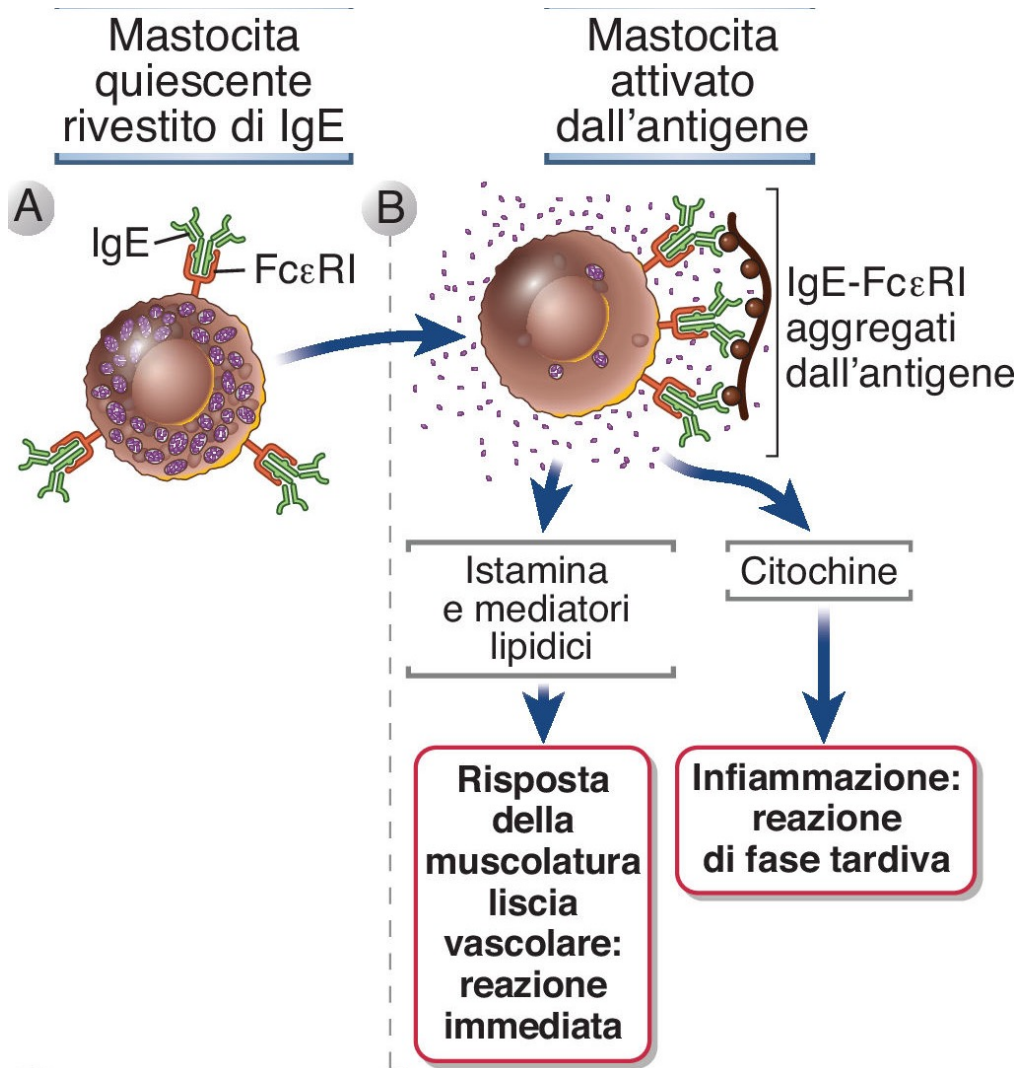
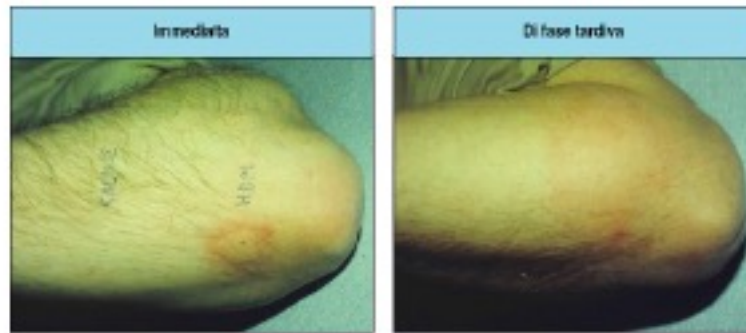


L'interazione fra allergene e IgE determina l'attivazione dei mastociti



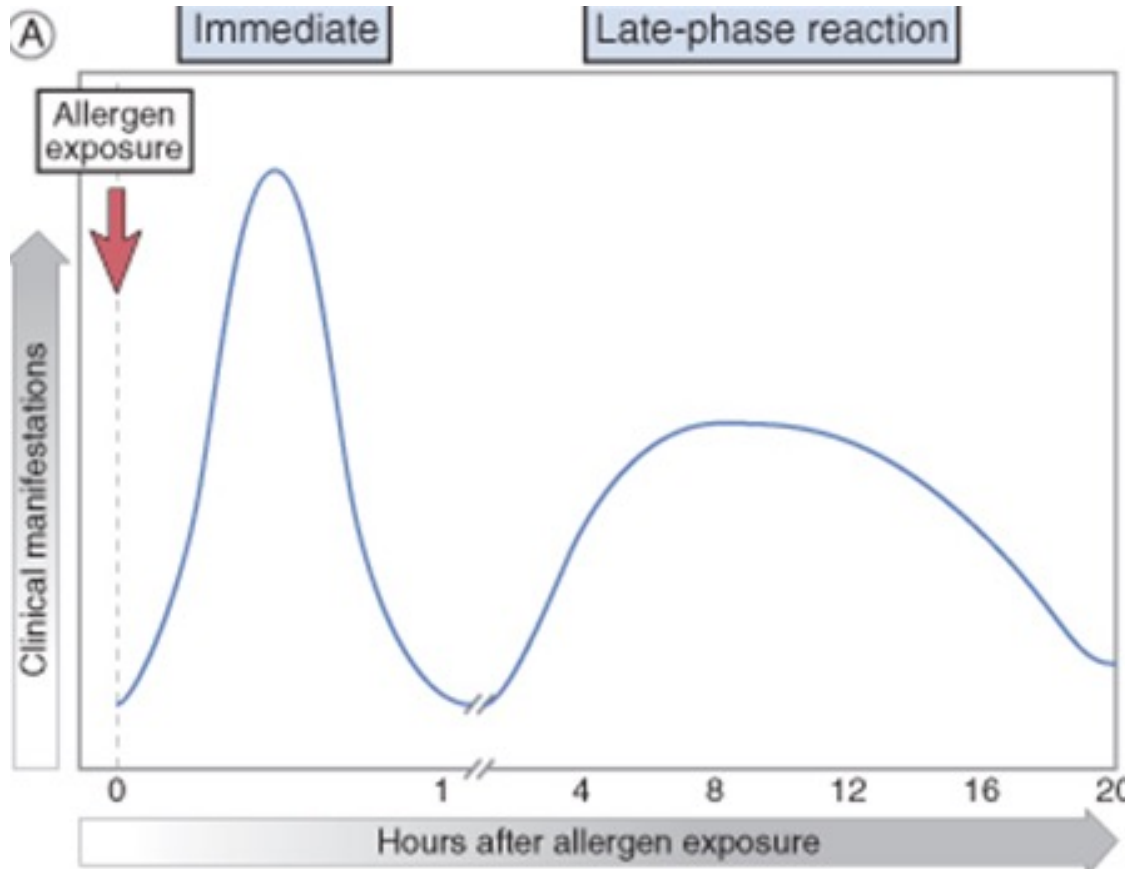
Il mastocita attivato rilascia mediatori che sono responsabili delle manifestazioni cliniche e patologiche delle reazioni di ipersensibilità di tipo I. La reazione di ipersensibilità di tipo I presenta una fase immediata e una fase tardiva.

Aspetto della reazione immediata e della fase tardiva che si sviluppa dopo iniezione intradermica dell'antigene in un soggetto allergico all'acaro della polvere



La reazione tardiva consiste nell'accumulo di leucociti (neutrofili eosinofili linfociti Th2) mediato dal TNF-alfa e da fattori chemiotattici per eosinofili e linfociti T.

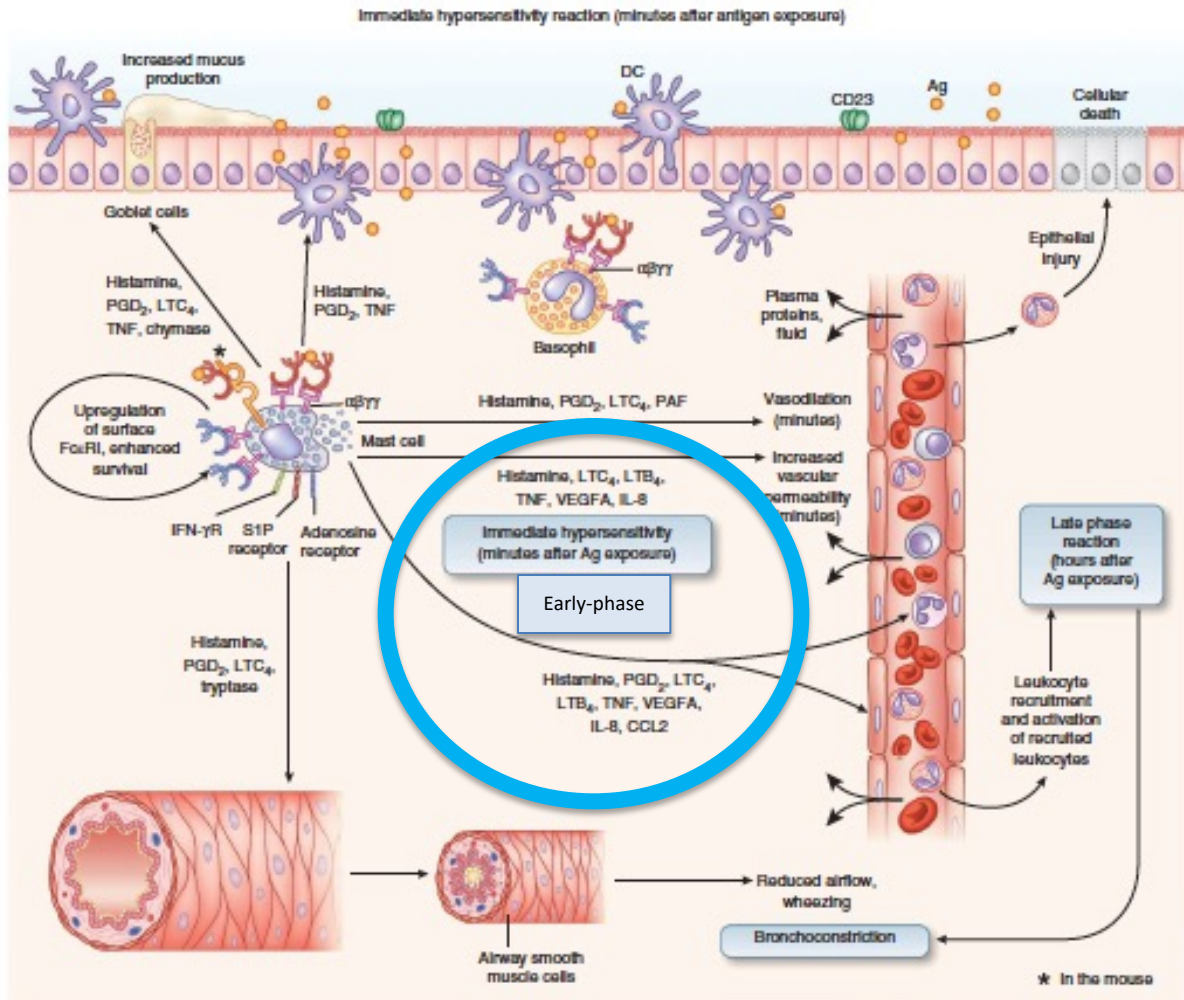
Fase immediata e fase tardiva della reazione di ipersensibilità di tipo I



La fase immediata della reazione di ipersensibilità di tipo I ha luogo pochi minuti dopo l'esposizione all'allergene (5-10 minuti).

La fase tardiva si sviluppa dopo alcune ore dal contatto con l'allergene e può persistere anche per diverse ore

Il secondo incontro con l'allergene determina la reazione di ipersensibilità immediata «early phase»



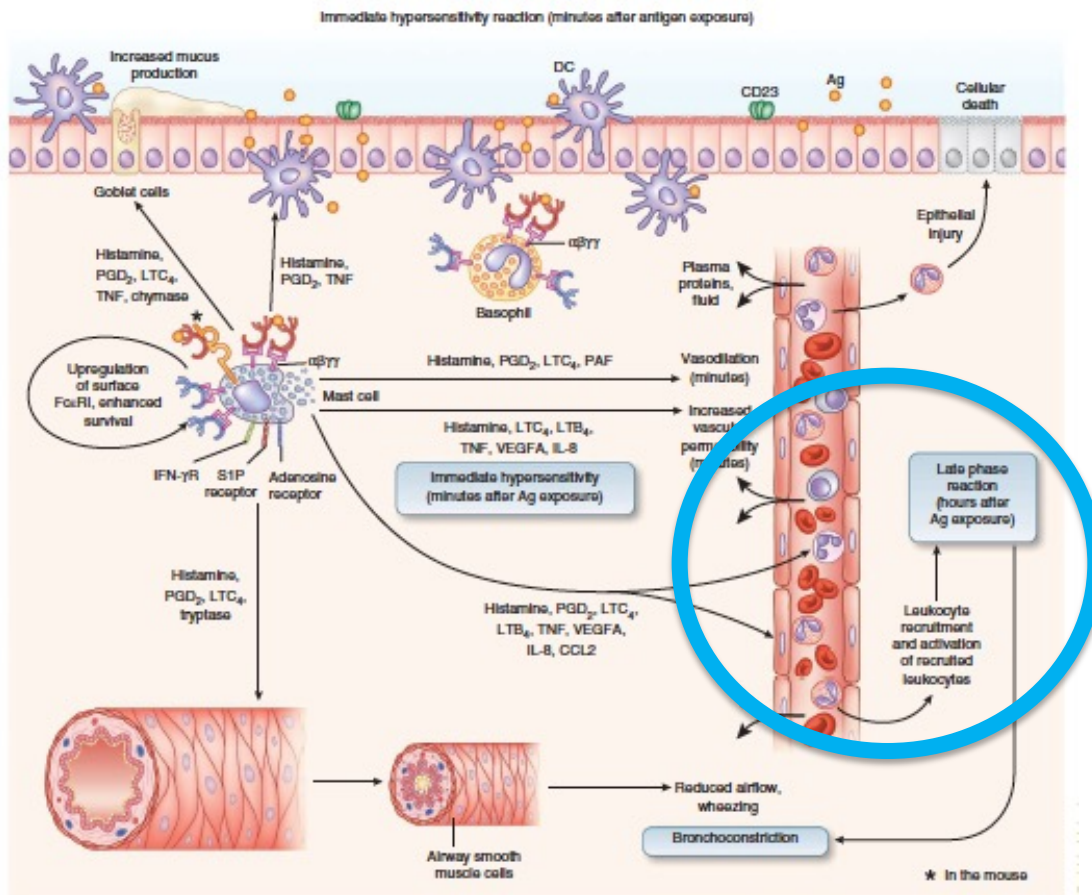
Il secondo contatto con l'allergene determina l'aggregazione degli FcεRI sui mastociti e la loro attivazione. I mastociti attivati rilasciano diversi mediatori biologici.

I mediatori rilasciati immediatamente dopo l'attivazione dei mastociti mediano la **“early phase” fase immediata**

caratterizzata da:

- i) aumento della permeabilità vasale e vasodilatazione
- ii) contrazione della muscolatura bronchiale
- iii) secrezione di muco

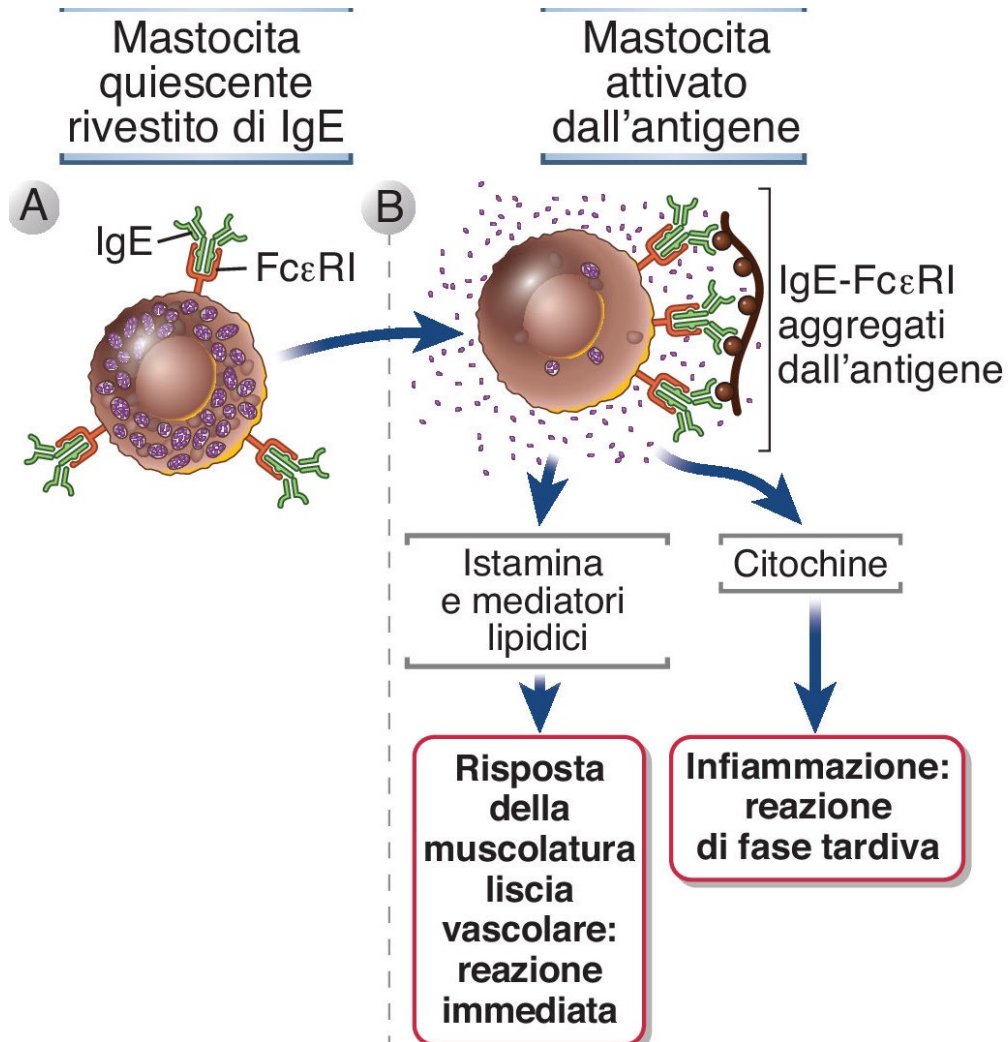
Late phase reaction nelle reazioni di ipersensibilità immediata



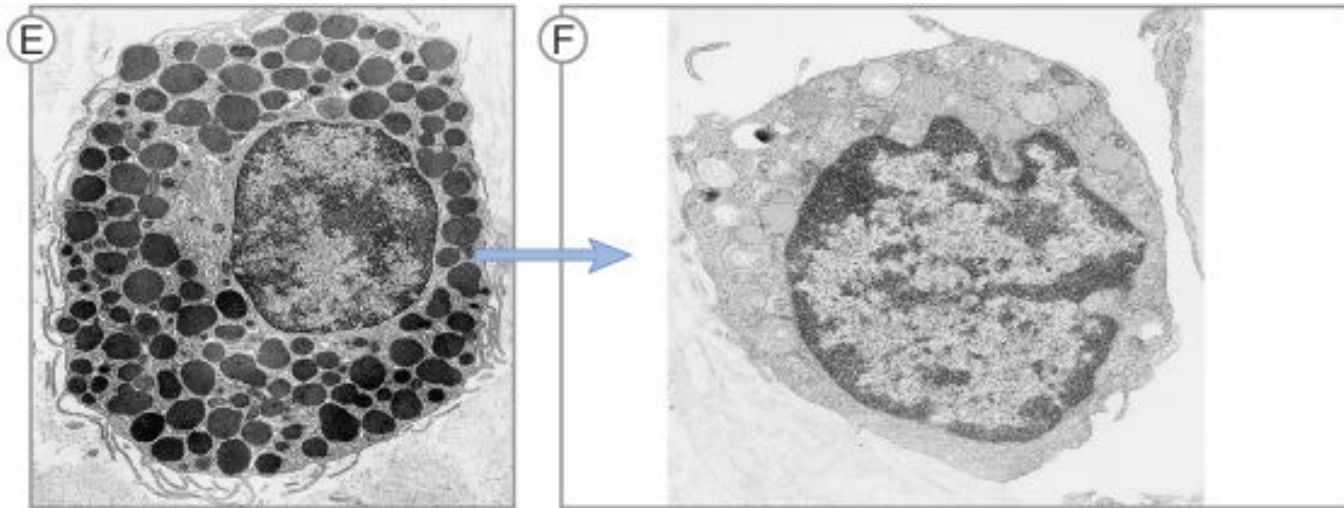
La fase tardiva delle reazioni di ipersensibilità immediata si sviluppano dopo 2-6h dall'incontro con l'allergene e riflettono il reclutamento e l'attivazione delle cellule Th2, eosinofili, basofili e altri leucociti nel sito di contatto con l'allergene.

Tale reclutamento è mediato dalle citochine prodotte dai mastociti e dagli altri leucociti reclutati.

I mediatori rilasciati o prodotti dai mastociti attivati dall'allergene mediano la fase precoce e la fase tardiva delle reazioni allergiche



Mediatori prodotti dai mastociti e basofili attivati

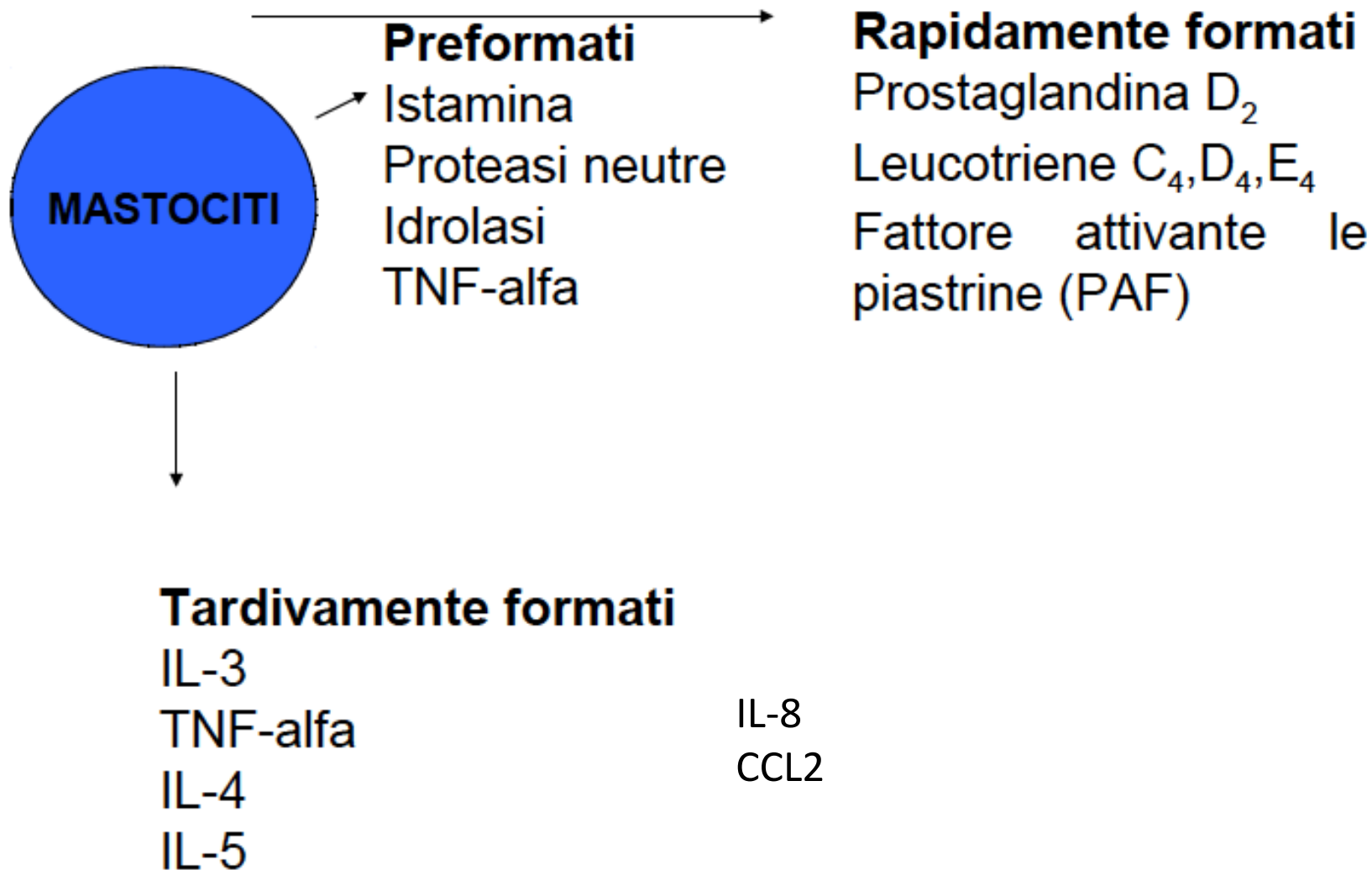


© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

- **MEDIATORI PREFORMATI:** ISTAMINA, TNF- α
- **MEDIATORI DI NUOVA SINTESI:** METABOLITI DELL'ACIDO ARACHIDONICO (prostaglandine e leucotrieni)

CITOCHINE

MEDIATORI PRODOTTI DAI MASTOCITI



L'istamina

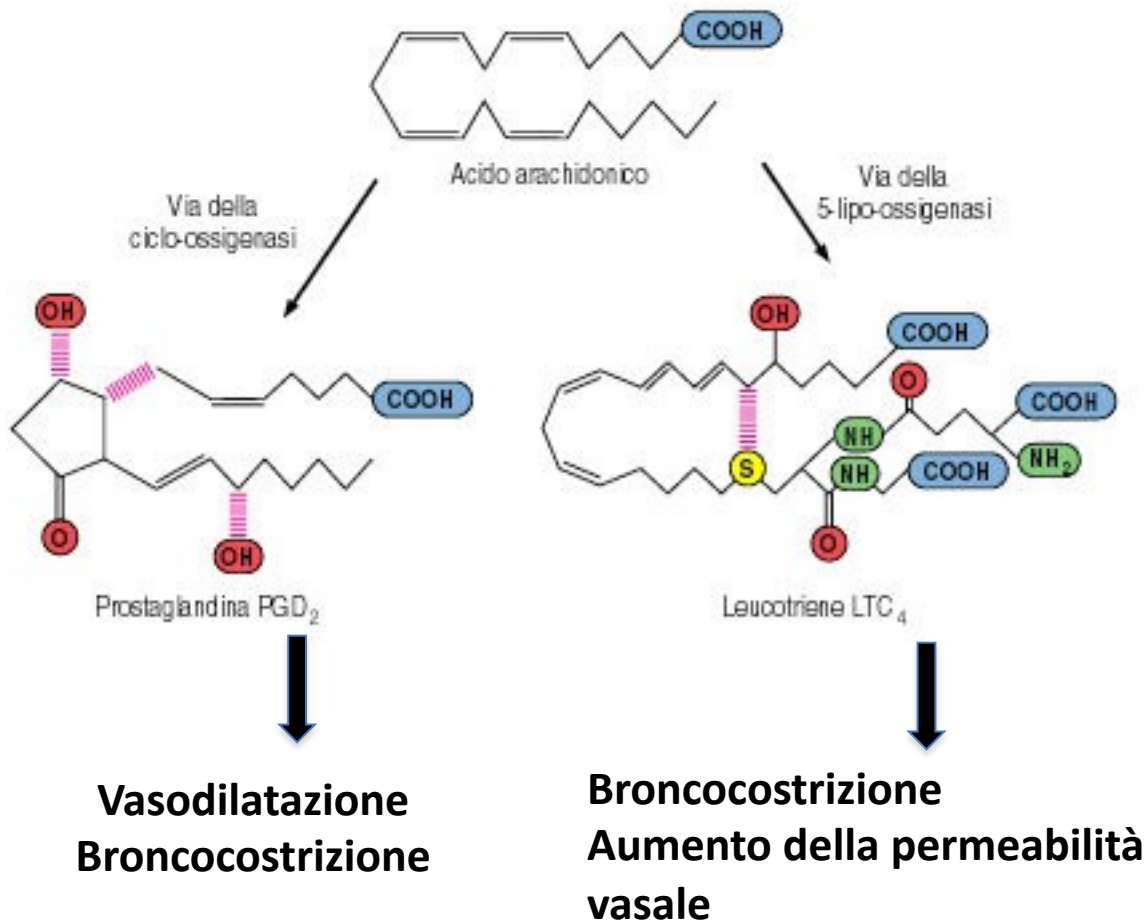


L'istamina deriva dalla decarbossilazione dell'istidina ed agisce legandosi a recettori espressi sulle cellule bersaglio (H1, H2, H3, H4) mediando:

1) Contrazione delle **cellule endoteliali (aumento della permeabilità vasale)** e stimolazione della produzione di Prostaciclina=PGI₂ e ossido nitrico che agiscono rilassando la muscolatura liscia dei vasi causando **vasodilatazione**.

2) **Contrazione della muscolatura liscia bronchiale e intestinale.**

Mediatori Lipidici: Leucotrieni e prostaglandine



I principali metaboliti dell'acido arachidonico prodotti dai mastociti attivati sono: la prostaglandina D_2 e i leucotrieni LTC_4 , LTD_4 , LTE_4 .

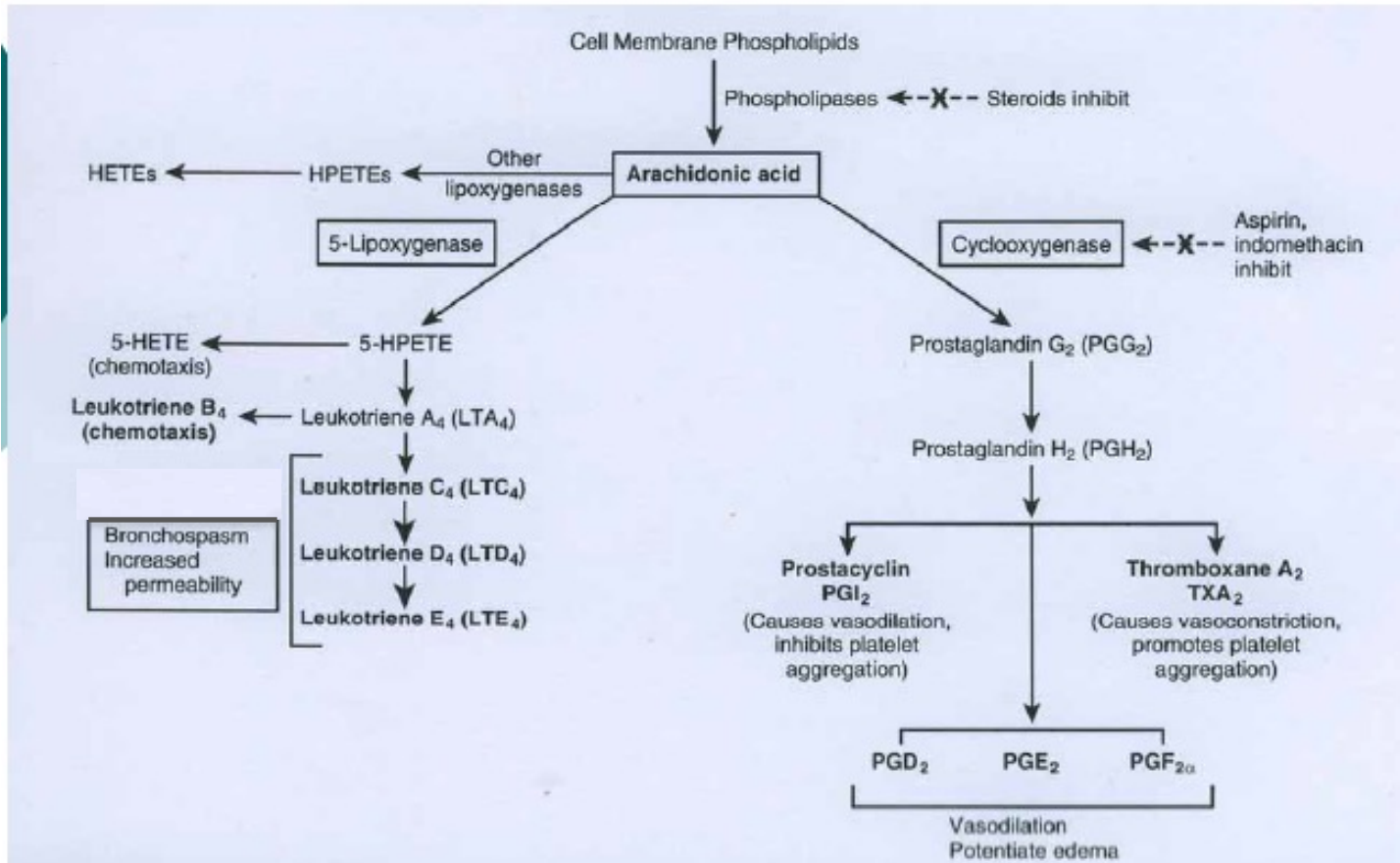
La Prostaglandina D_2 (PGD_2) generata attraverso la via della ciclossigenasi si lega a specifici recettori espressi sulle cellule muscolari lisce inducendo vasodilatazione e broncocostrizione

- Leucotriene C_4 generato attraverso la via della lipo-ossigenasi

= prolungata broncocostrizione e aumento della permeabilità vasale.

I leucotrieni C_4 e D_4 hanno una azione broncocostrittrice 1000 volte superiore a quella dell'istamina

Generazione dei metaboliti dell'acido arachidonico



5-HPETE acido 5-idrossieicosatetraenoico

In seguito ad attivazione la fosfolipasi A2 libera l'acido arachidonico dai fosfolipidi di membrana. La via della ciclossigenasi mediata dai due enzimi COX-1 e COX-2 porta alla produzione delle **prostaglandine**. Nella via della lipossigenasi l'acido arachidonico viene trasformato in LTA_4 . LTA_4 viene rapidamente trasformato in **LTB_4** e **LTC_4** .

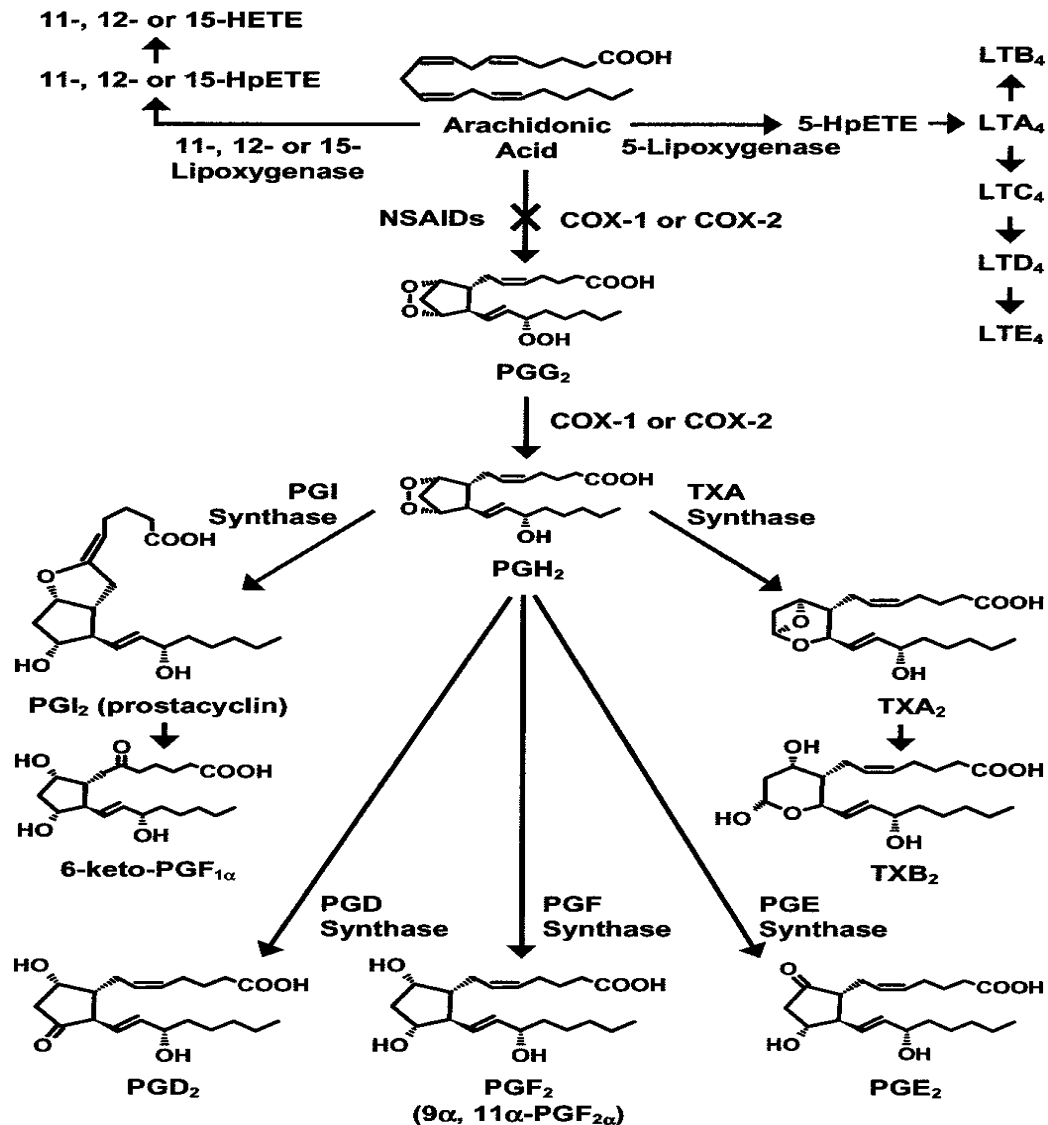
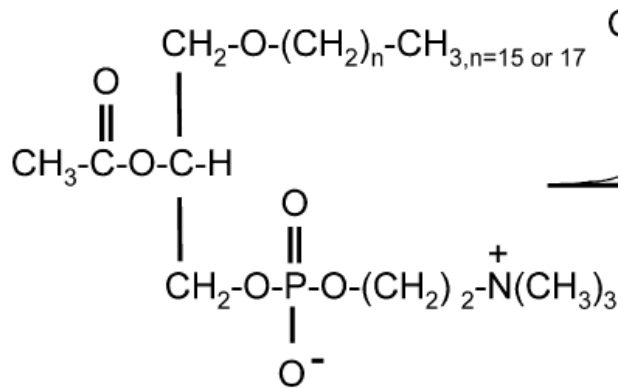


FIG. 1. The arachidonic acid cascade. The fate of arachidonic acid in cells as it is metabolized by lipoxygenases to HETEs and hydroperoxyeicosatetraenoic acids (HPETEs) or by cyclooxygenases to prostaglandin H₂ via the short-lived hydroperoxyl-containing intermediate prostaglandin G₂. NSAIDs block the synthesis of prostaglandin G₂. Prostaglandin H₂ spontaneously rearranges or is enzymatically isomerized, oxidized, or reduced to yield bioactive prostaglandin isomers, some of which are shown. [Reprinted with permission from *Clinician's Manual on COX-2 Inhibition* second edition (Vane JR, Botting R, Emery P, and Hawkey CJ, eds) Science Press Ltd., London, 2002].

Platelet activating factor



PAF

Il PAF viene sintetizzato a partire dalla lisogliceril-etero fosforilcolina derivata dall'idrolisi dei fosfolipidi di membrana ad opera della fosfolipasi A2.

Il PAF ha una azione broncocostrittrice diretta, rilassa la muscolatura liscia vascolare causando vasodilatazione.

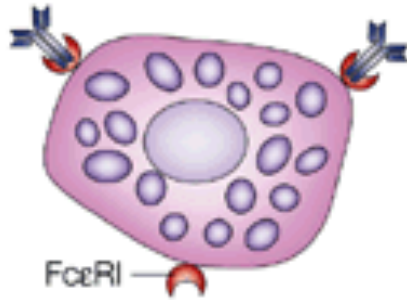
Citochine prodotte dai mastociti attivati

Le citochine prodotte da mastociti e basofili attivati dall'allergene sono prodotte più tardivamente e contribuiscono al processo infiammatorio allergico tardivo (late phase) mediando :

i) reclutamento di leucociti infiammatori quali eosinofili, basofili, neutrofili e cellule T CD4+

ii) l'attivazione dell'endotelio e delle cellule immuni

Citochine prodotte dai mastociti attivati



I mastociti attivati producono: TNF- α , IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, CCL2, CCL3 e il GMCSF.

TNF- α attraverso l'up-regolazione delle molecole di adesione sulle cellule endoteliali e le chemochine IL-8 e CCL2 favoriscono il reclutamento dei leucociti.

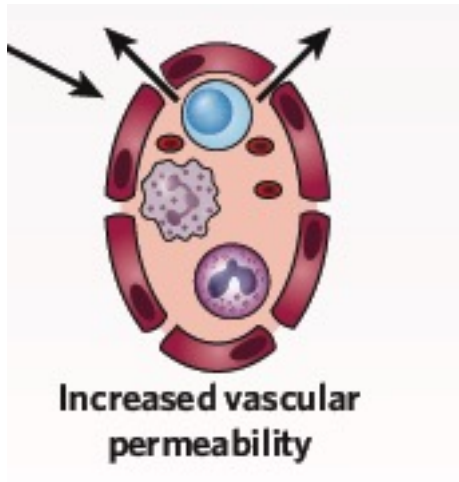
IL-3 favorisce la generazione di mastociti a partire dai progenitori midollari CD133+.

IL-5 coinvolta nella maturazione, reclutamento, attivazione degli eosinofili.

IL-13 induce la secrezione di muco

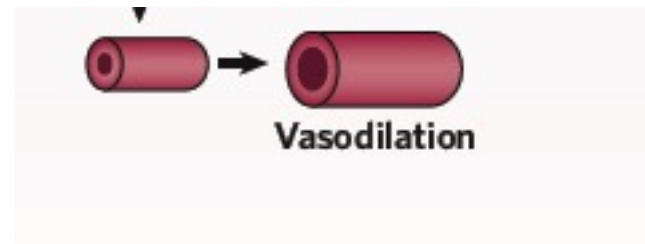
IL-4 favorisce il reclutamento dei leucociti dal circolo sanguigno upregolando le molecole di adesione sulle cellule endoteliali.

Mediatori responsabili delle modificazioni vascolari nelle reazioni di ipersensibilità di tipo I

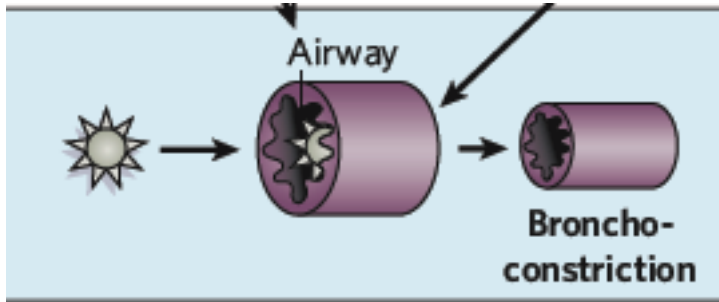


Aumento della permeabilità vasale: Istamina, LTC₄, LTD₄, LTE₄ (cys-LTs).

Vasodilatazione: Istamina, PGD₂, PAF



Mediatori responsabili della broncocostrizione e della contrazione della muscolatura liscia intestinale nelle reazioni di ipersensibilità di tipo I

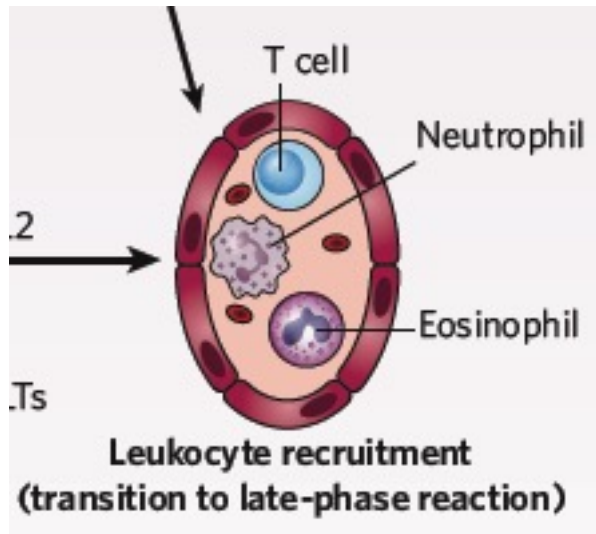


Istamina, PGD_2 , LTC_4 .



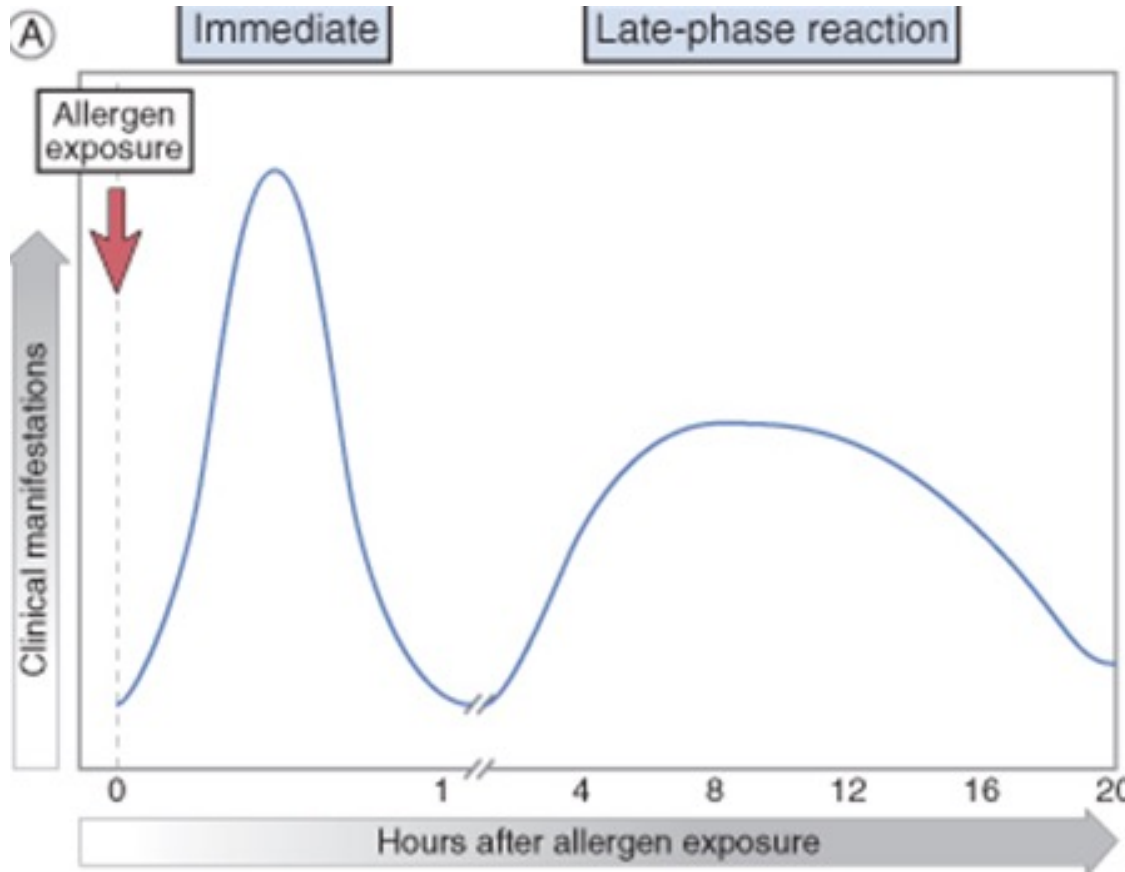
**Aumento
della peristalsi
intestinale**

Mediatori responsabili del reclutamento dei leucociti e della loro attivazione nelle reazioni di ipersensibilità di classe I



L'infiammazione allergica caratterizzata dal reclutamento di linfociti Th2, eosinofili e neutrofili è mediata da diverse citochine prodotte dai mastociti: $\text{TNF-}\alpha$, IL-8, CCL2, IL-5

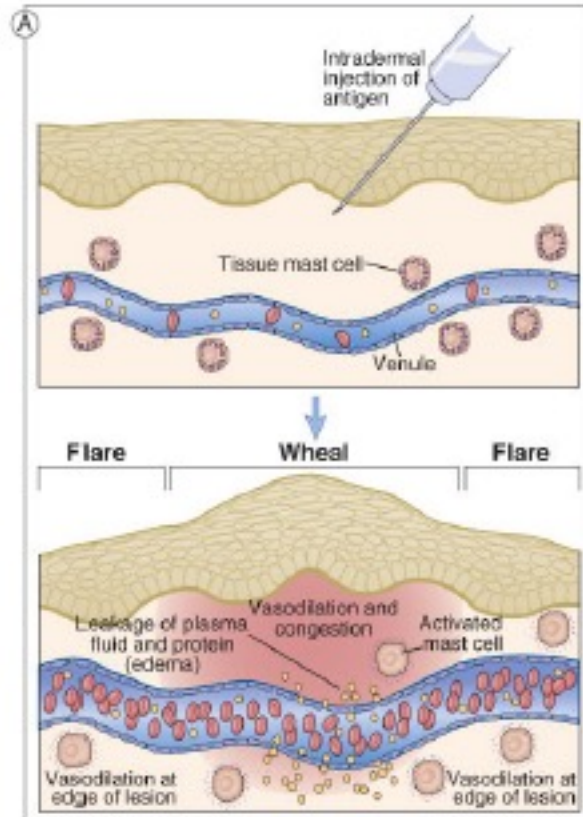
Fase immediata e fase tardiva della reazione di ipersensibilità di tipo I



La fase immediata della reazione di ipersensibilità di tipo I ha luogo pochi minuti dopo l'esposizione all'allergene. Questa fase è dovuta all'azione dei mediatori preformati e dei metaboliti dell'acido arachidonico rilasciati dai mastociti attivati. Questi sono responsabili dei sintomi della fase immediata.

La fase tardiva si sviluppa dopo alcune ore dal contatto con l'allergene ed è mediata dalle citochine, chemochine e fattori di crescita che sono sintetizzati e rilasciati più tardivamente dai mastociti attivati e che mediano il reclutamento dei linfociti Th2, degli eosinofili, e dei neutrofili.

Reazione allergica localizzata



Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology. See www.studenticonsult.com

Figure 19-8 The wheal and flare reaction in the skin.

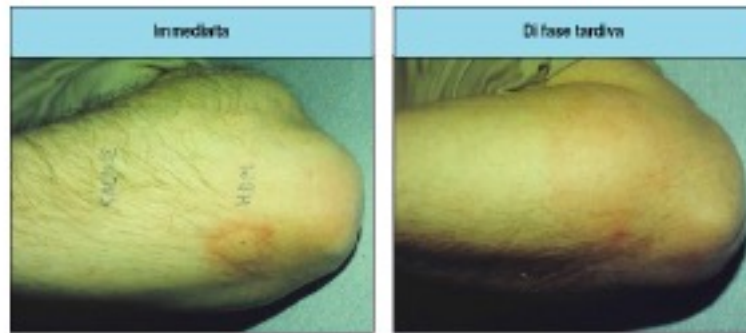
La reazione ponfo-eritematosa è la reazione caratteristica innescata dall'inoculo dell'allergene per via intradermica.

- 1) Arrossamento del sito di inoculo (dilatazione dei capillari e rallentamento del flusso)
- 2) Rigonfiamento (fuoriuscita di fluidi e proteine del plasma)

La reazione ponfo eritematosa si manifesta nel giro di 5-10 minuti dall'inoculo dell'allergene.

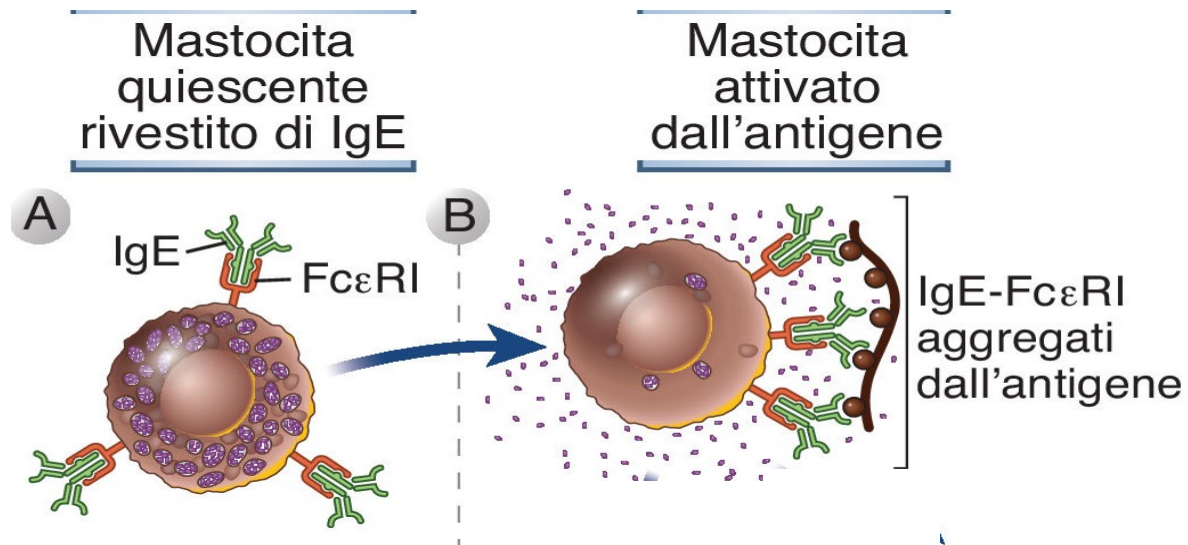
Dopo 2-4 ore fa seguito una reazione infiammatoria tardiva caratterizzata dall'accumulo di neutrofili, eosinofili linfociti T CD4+

Aspetto della reazione immediata e della fase tardiva che si sviluppa dopo iniezione intradermica dell'antigene in un soggetto allergico all'acaro della polvere

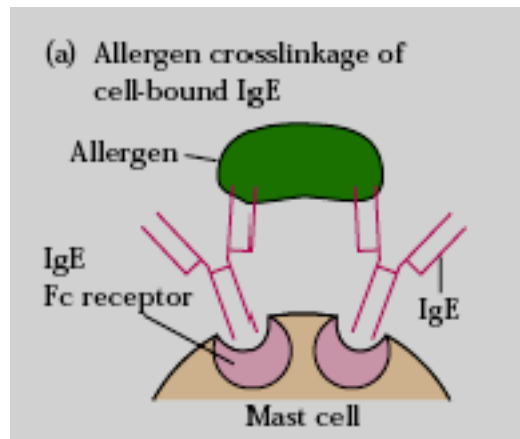


La reazione tardiva consiste nell'accumulo di leucociti (neutrofili eosinofili linfociti Th2) mediato dal TNF-alfa e da fattori chemiotattici per eosinofili e linfociti T.

Nelle reazioni allergiche l'attivazione dei mastociti è dovuta alla aggregazione dei recettori $Fc\epsilon RI$ in seguito alla interazione fra allergene-IgE



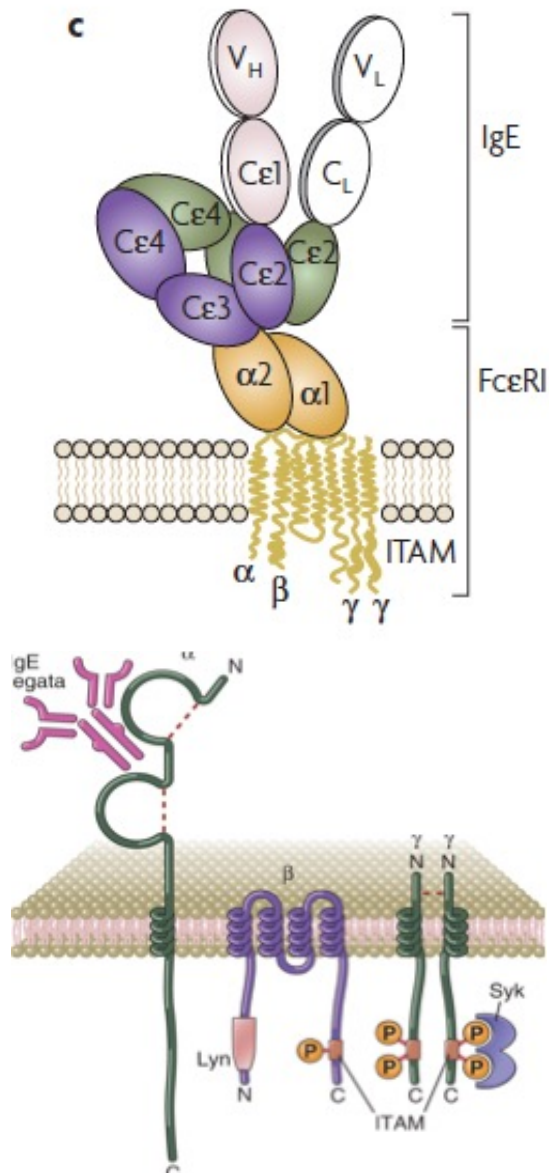
In che modo l'allergene interagendo con le IgE legate al mastocita determina l'attivazione del mastocita?



La degranulazione dei mastociti mediata dalle IgE ha inizio quando un allergene lega 2 o più IgE (crosslinking).

Allergeni monovalenti non sono in grado di indurre degranulazione

Recettore ad alta affinità per le IgE: FcεRI



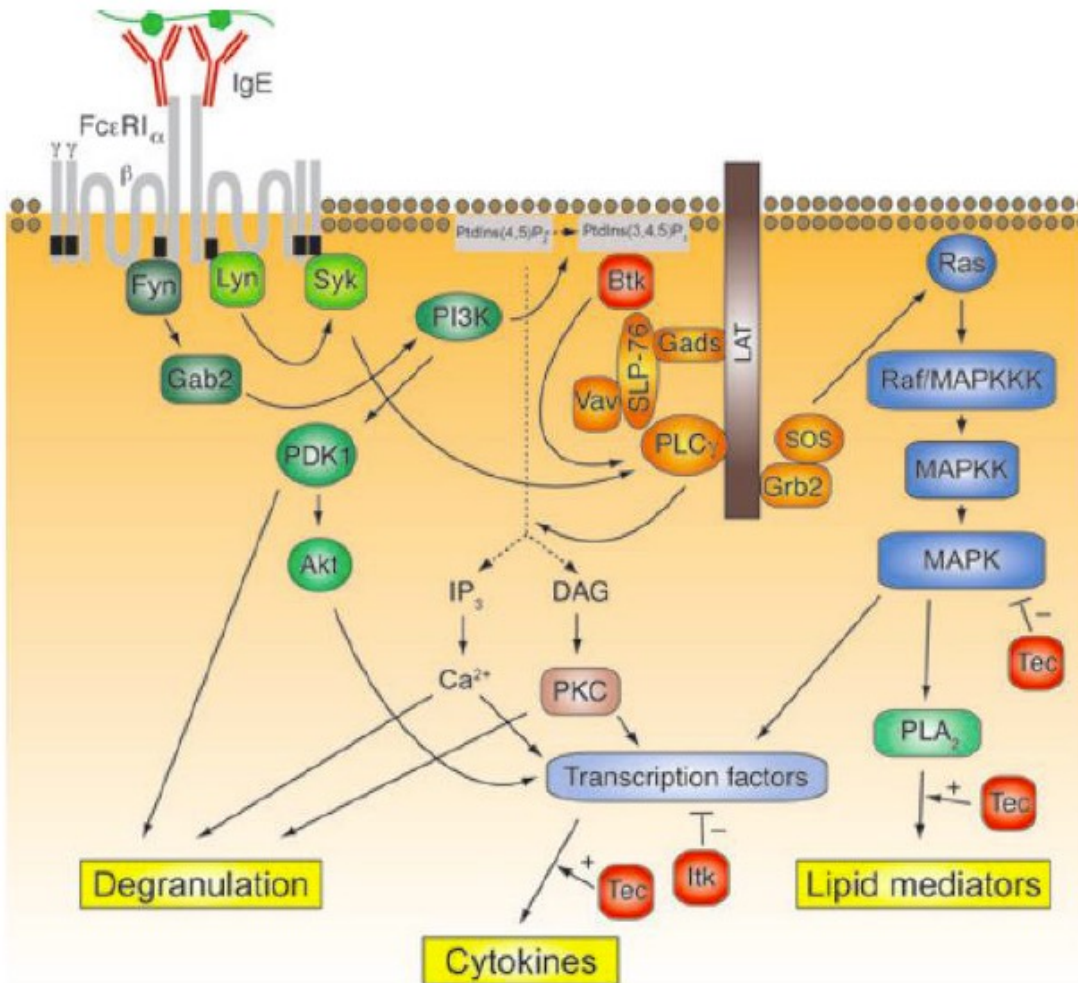
I mastociti e i basofili esprimono il recettore ad alta affinità per le IgE che è composto da tre subunità polipetidiche: catena α , catena β e l'omodimero $\gamma\gamma$.

Catena α = appartenente alla superfamiglia delle Ig presenta due domini Ig like nella porzione extracellulare e lega con alta affinità i domini CH3 e CH4 delle IgE.

Catena β = attraversa la membrana 4 volte contiene un motivo ITAM.

Dimero $\gamma\gamma$ si estende nella regione intracitoplasmatica e presenta sequenze ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif: YXXL/I(x)₆₋₈YXXL/I).

Attivazione dei mastociti: eventi biochimici



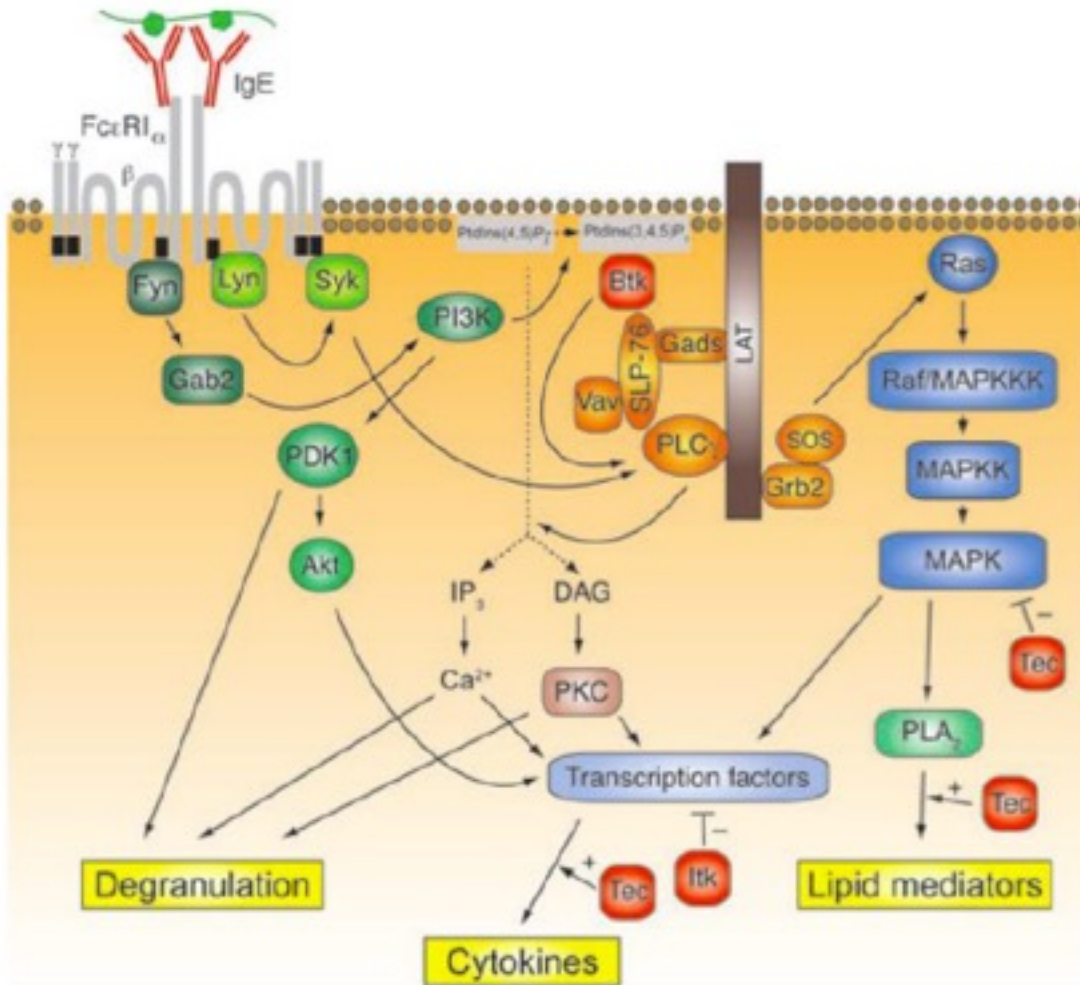
L'aggregazione degli FcεRI in seguito al legame fra l'antigene e le IgE determina l'attivazione dei mastociti con conseguente:

- i) secrezione dei granuli,
- ii) produzione dei mediatori lipidici,
- iii) sintesi di citochine.

L'aggregazione degli FCεR permette:

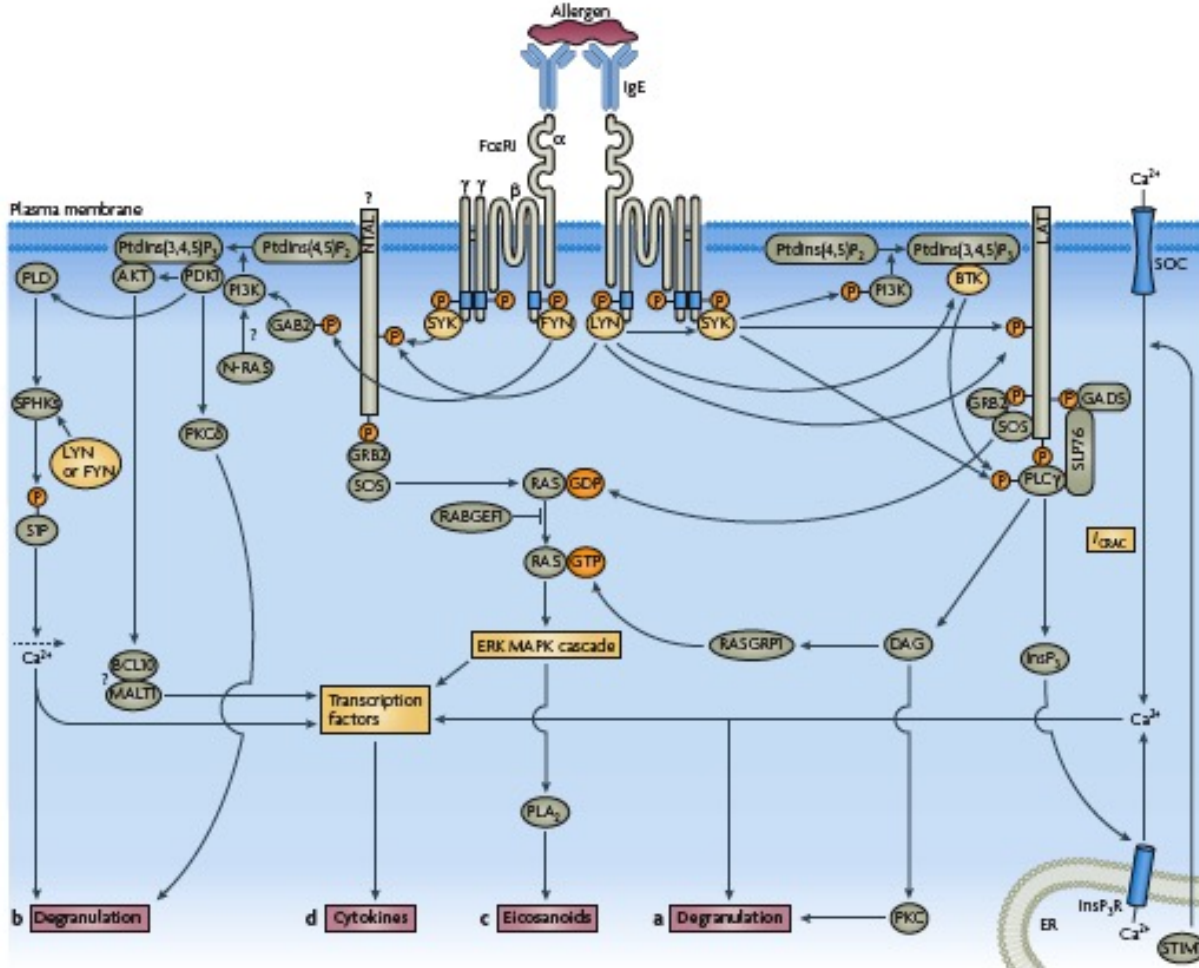
- i) la fosforilazione delle sequenze ITAM delle catene β e γ del recettore
- ii) l'attivazione a valle delle tirosin chinasi che fosforilano proteine adattatrici che coordinano l'attivazione di distinte vie di segnalazione.

Eventi precoci nella trasduzione dell'FcεRI



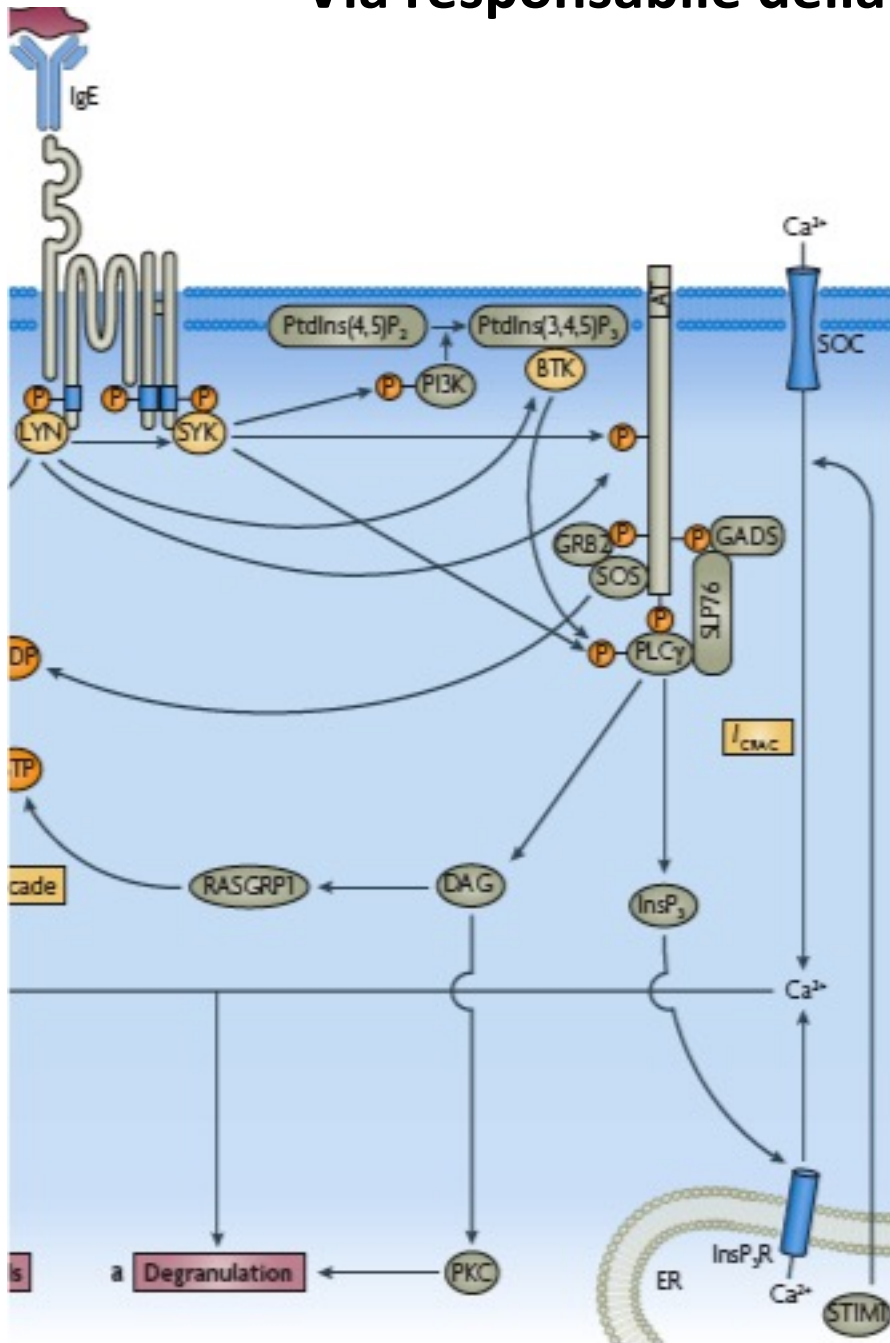
Gli eventi precoci indotti dalla aggregazione degli FcεRI includono la fosforilazione delle sequenze ITAM presenti sulle catene beta e gamma del recettore da parte della src chinasi lyn. La fosforilazione delle ITAM media il reclutamento della tirosin chinasi SYK sulle sequenze ITAM delle catene gamma.

Attivazione delle vie responsabili della degranulazione e della sintesi dei mediatori lipidici



SYK attivata fosforila la molecola adattatrice LAT (Linker for the activation of T cells) che in questo modo è in grado di legare diverse proteine di segnalazione quali la fosfolipasi C γ (PLC γ) e la molecola adattatrice Grb2 permettendo l'attivazione della PLC γ e della via di Ras responsabili della degranulazione e dell'attivazione della fosfolipasi A2 (responsabile dell'idrolisi dei fosfolipidi di membrana e della liberazione di acido arachidonico da cui sono sintetizzati prostaglandine e leucotrieni) rispettivamente.

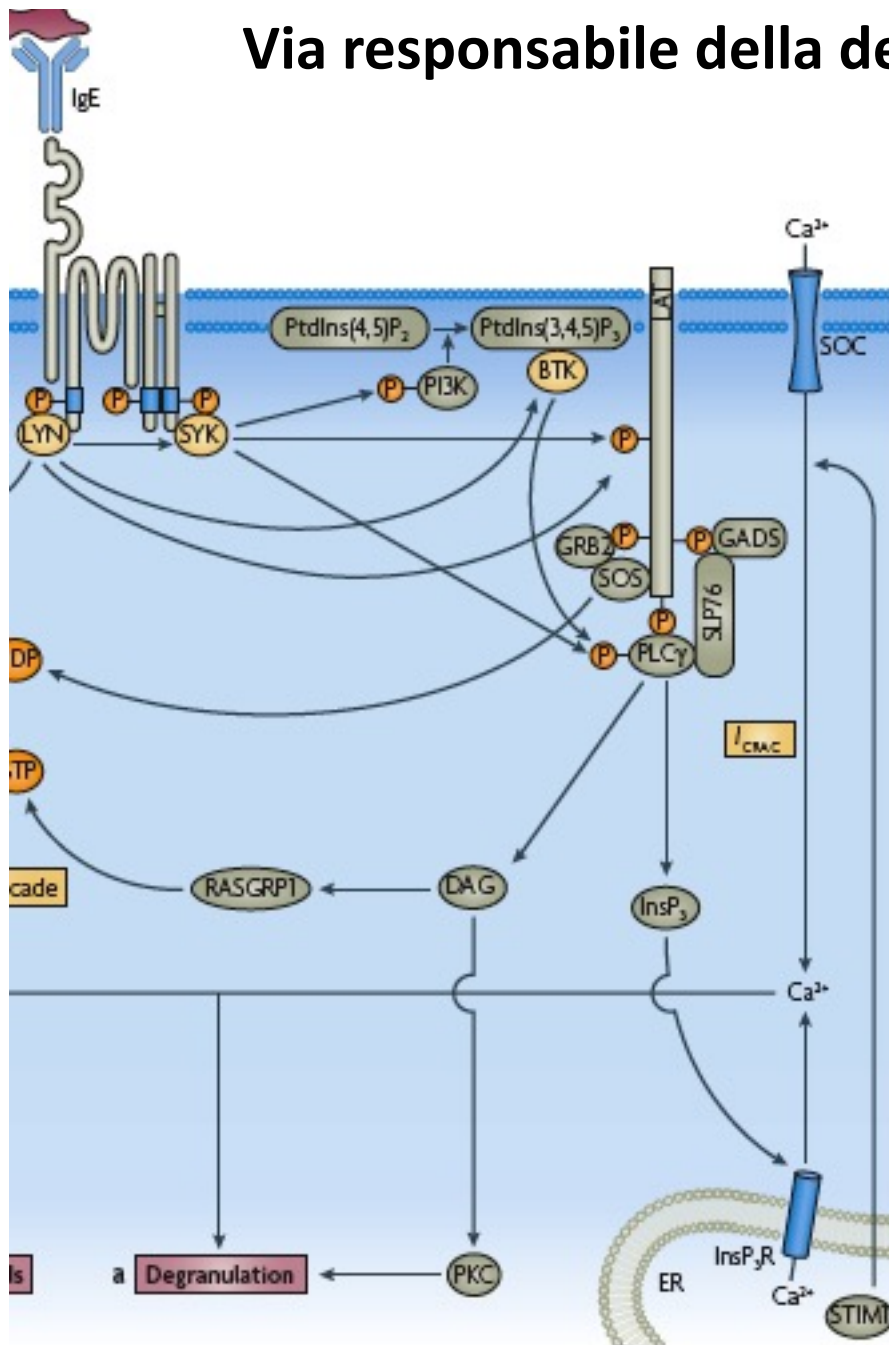
Via responsabile della degranulazione



Il reclutamento su LAT fosforilata di GADS, SLP76 e PLC γ determina l'attivazione di quest'ultima. PLC γ fosforilata scinde il fosfatidil inositolo bifosfato in IP3 e DAG.

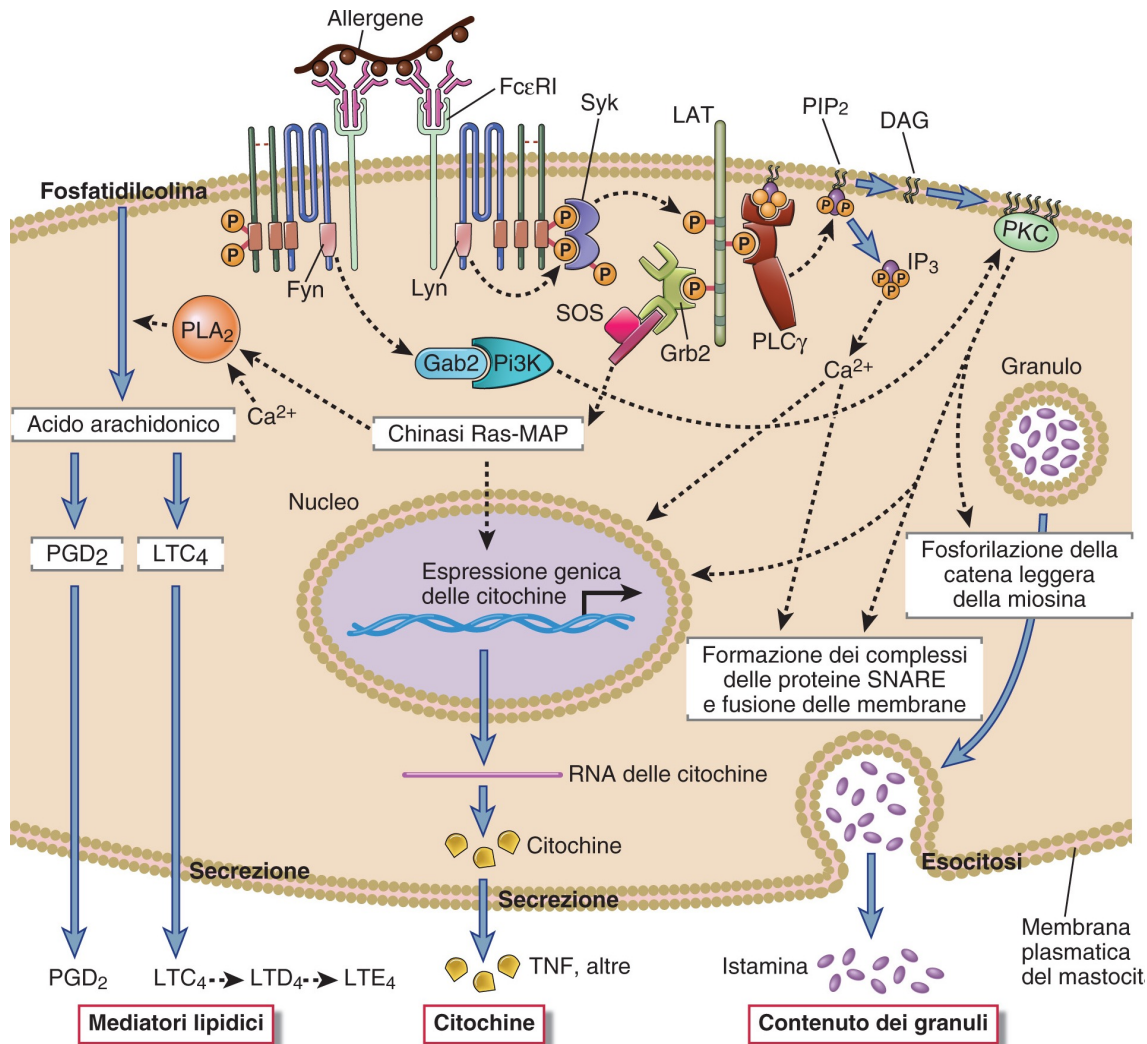
L'IP3 media il rilascio di calcio dal reticolo endoplasmatico, aumentando i livelli di Ca^{2+} intracellulare mentre il DAG attiva la PKC. La fosforilazione delle catene della miosina da parte della PKC porta al disassemblaggio dei complessi actina miosina presenti sotto la membrana plasmatica permettendo la fusione dei granuli.

Via responsabile della degranulazione



La deplezione di Ca⁺⁺ dai compartimenti cellulari determina un influsso di Ca⁺⁺ extracellulare. La deplezione di Ca⁺⁺ è rilevata dalle proteine STIM (stromal interaction molecule) le quali attivano i canali ionici di membrana denominati SOC.

Degranulazione



La fusione delle membrane dei granuli con la membrana plasmatica è mediata dall'interazione fra proteine SNARE. La formazione dei complessi fra proteine SNARE è regolata da diverse proteine accessorie. L'aumento dei livelli di calcio e l'attivazione della PKC mediano la fusione dei granuli con la membrana plasmatica.

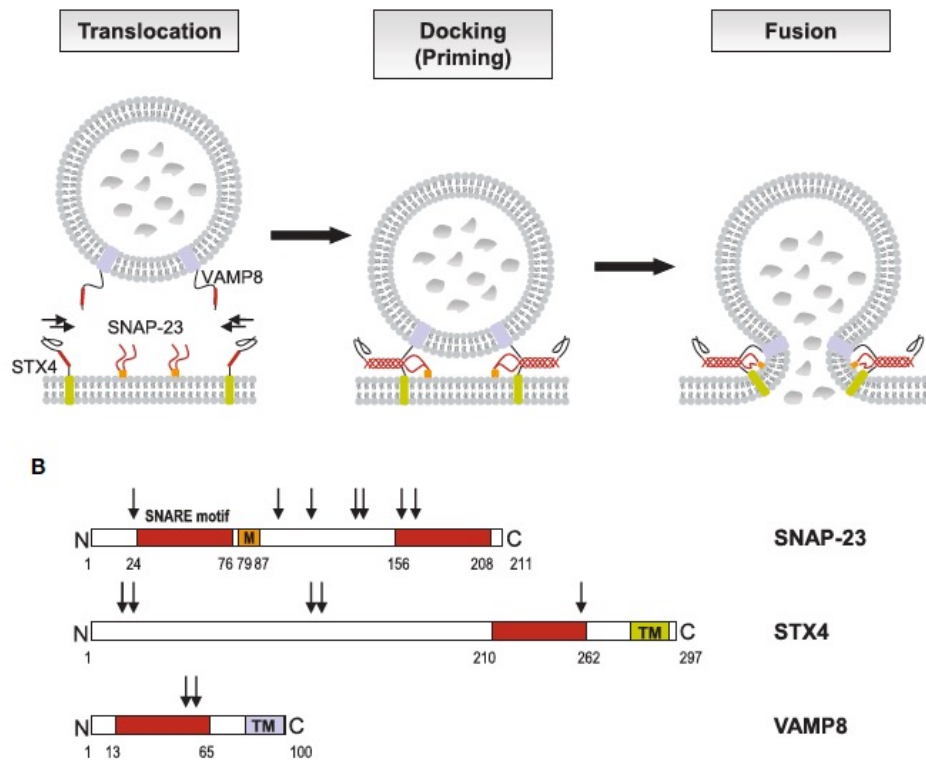


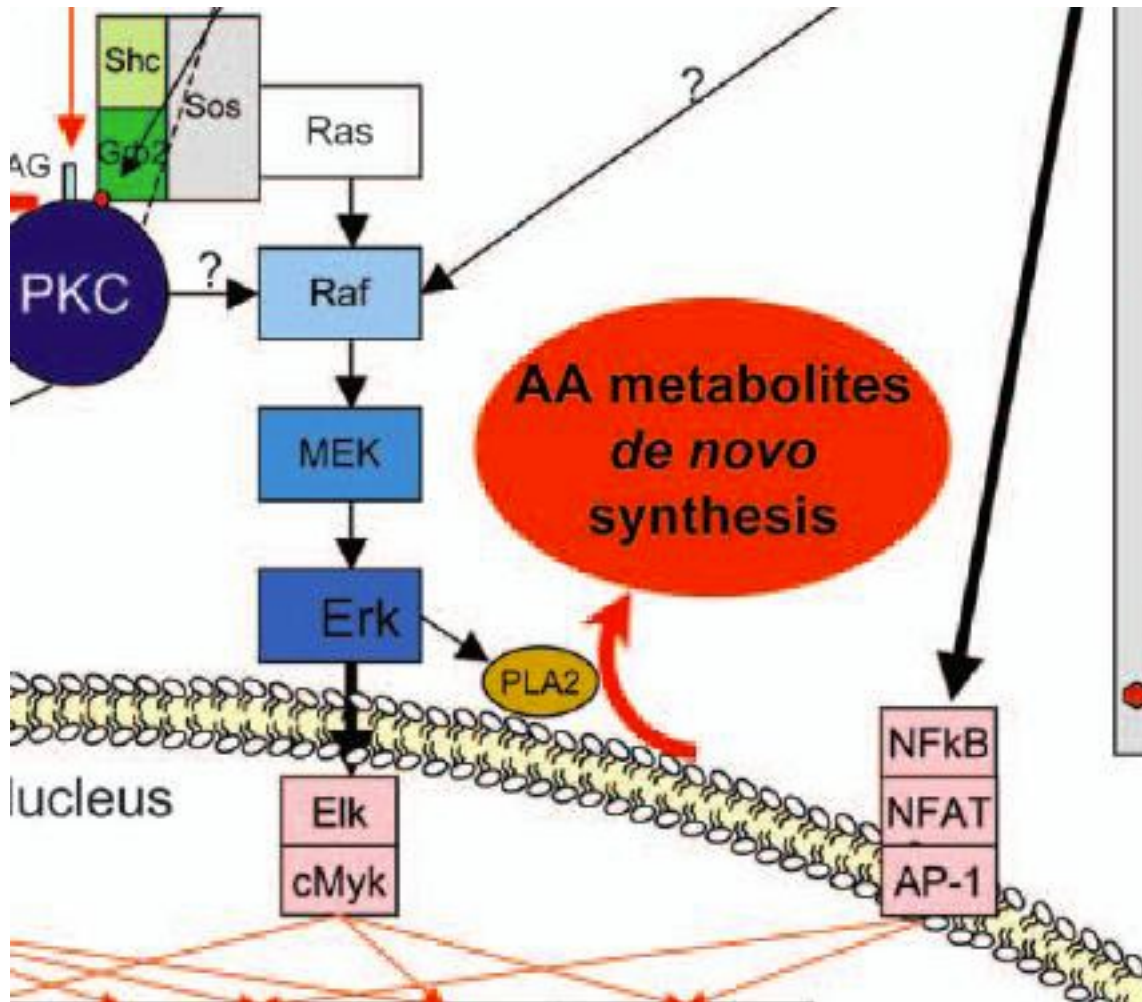
FIGURE 2 | SNARE catalyzed granule fusion in mast cells.

(A) Secretion of mediators requires fusion of vesicle and plasma membranes. Upon activation through FcεRI secretory granules translocate to and dock at the plasma membrane where the t-SNAREs SNAP-23 and STX4 together with the v-SNARE VAMP8 form stable tetrameric complexes of bundled helices bringing the lipid bilayers into a close distance to catalyze membrane fusion. The SNARE motifs of SNAP-23, STX4, and VAMP8, which become highly organized in the four helical bundle during the formation of the trans-SNARE complex are highlighted in color. **(B)** The primary structure of human SNAP-23, STX4,

and VAMP8 as adapted from Hong (2005) is shown with SNARE motifs for each protein in like colors. STX4 and VAMP8 have C-terminal transmembrane domains (TM), whereas the linker domain of SNAP-23, which connects the two SNARE motifs, has a membrane anchor domain, consisting of palmitoylated cysteine residues (M). Numbers indicate protein or domain boundaries, arrows indicate potential phosphorylation sites (<http://www.phosphosite.org>). Phosphorylation of mouse SNAP-23 on Ser⁹⁵ and Ser¹²⁰ was found to modulate regulated mast cell exocytosis (Hepp et al., 2005), whereas phosphorylation of STX4 was not altered during secretion in RBL cells (Pombo et al., 2001).

Via responsabile della sintesi dei mediatori lipidici

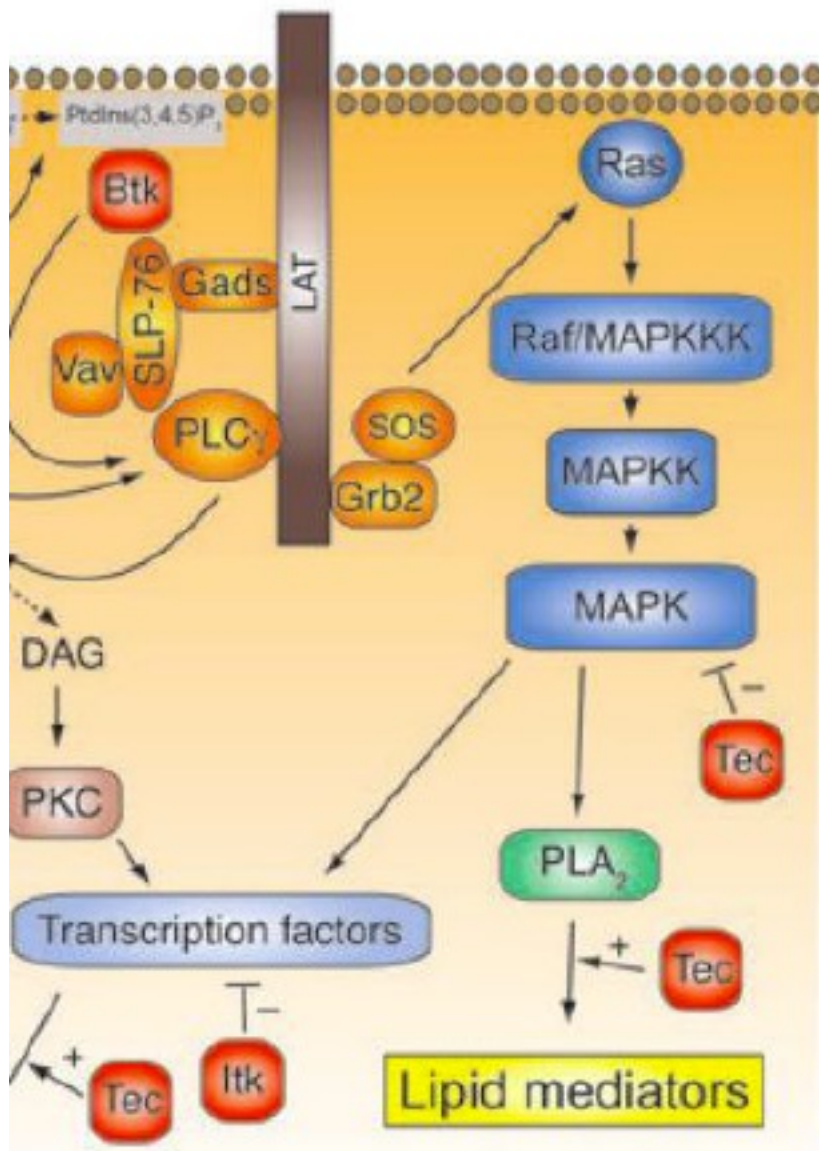
La sintesi dei mediatori lipidici è controllata dall'attivazione della fosfolipasi A2 citoplasmatica



L'attivazione della fosfolipasi A2 richiede la fosforilazione dell'enzima da parte della MAP chinasi Erk e l'aumento della concentrazione citoplasmatica di calcio.

La PLA2 scinde i lipidi di membrana liberando acido arachidonico.

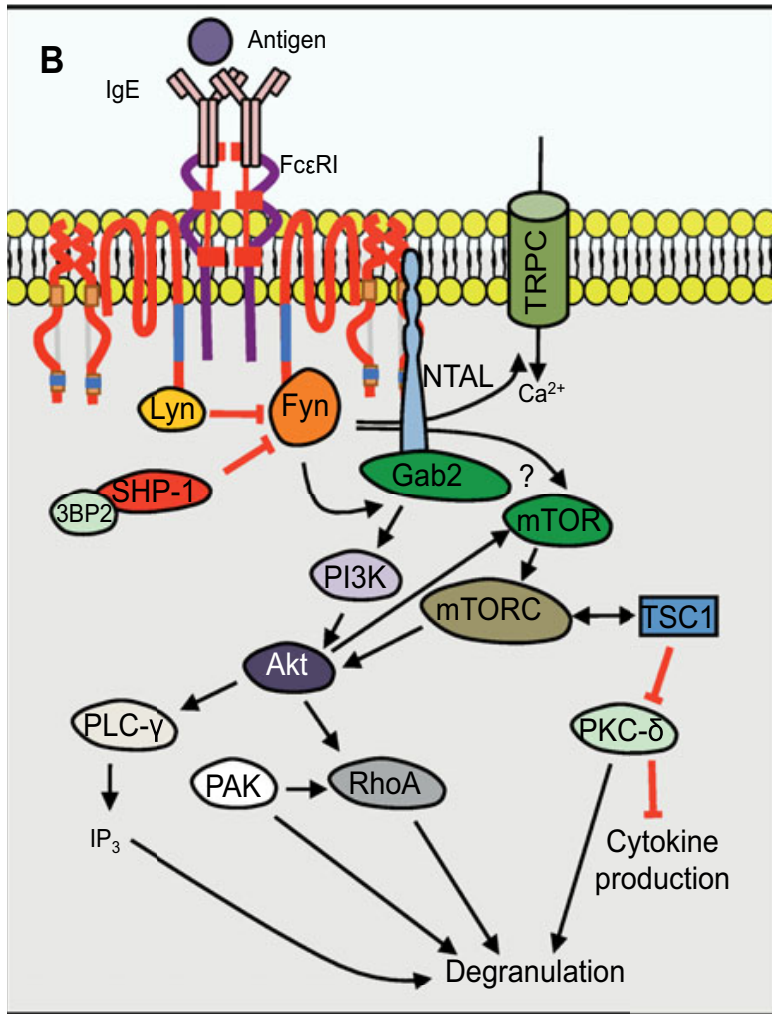
Via responsabile della sintesi dei mediatori lipidici



Il meccanismo di attivazione di Ras coinvolge le proteine adattatrici LAT e Grb2. Una volta associata LAT, Grb2 recluta uno scambiatore GTP/GDP (SOS) generando la forma attiva di Ras. Ras attiva la famiglia di enzimi MAP chinasi.

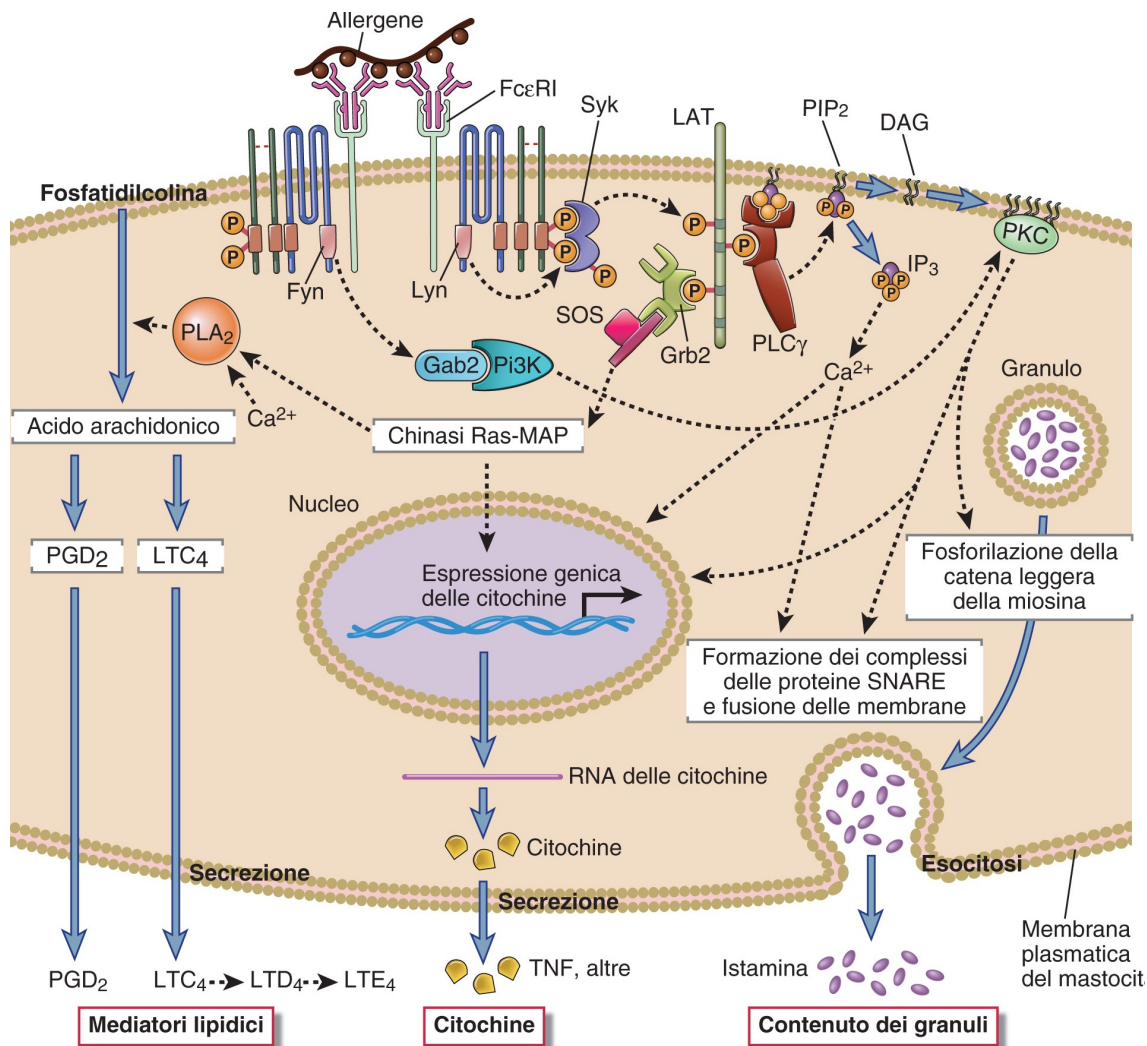
La cascata di chinasi attivata da Ras determina l'attivazione di Erk che fosforila PLA₂.

Via complementare responsabile della degranulazione



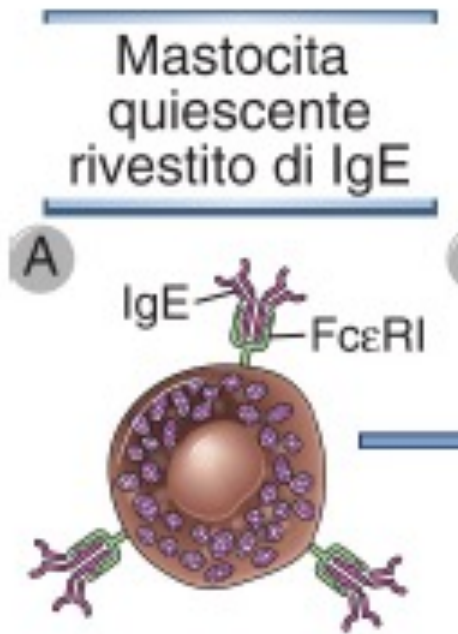
Un secondo pathway coinvolto nella degranulazione dei mastociti è mediato dalla chinasi Fyn e dalla proteina GAB2. In seguito all'aggregazione dei recettori FcεRI, la attivazione di Fyn attiva la PI3K attraverso la formazione di un complesso multiproteico costituito anche da GAB2. La PI3K è cruciale nella propagazione della cascata di Fyn attraverso l'attivazione di Akt, la produzione di PIP3 (fosfatidil inositolo trifosfato) con conseguente reclutamento di diverse proteine alla membrana necessarie per attivare la PKCγ.

Induzione della trascrizione delle citochine nei mastociti attivati



In risposta all'aggregazione dell'FcεRI si ha la traslocazione nucleare di fattori trascrizionali quali NF-κB, N-FAT, AP-1. Tali fattori sono responsabili della trascrizione di diverse citochine quali l'IL-4, IL-5, TNF-α.

Il legame IgE con l' FcεRI stabilizza l'espressione dell'FcεRI



L'interazione dell'FcεRI con le IgE stabilizza l'espressione del recettore sui mastociti e basofili.

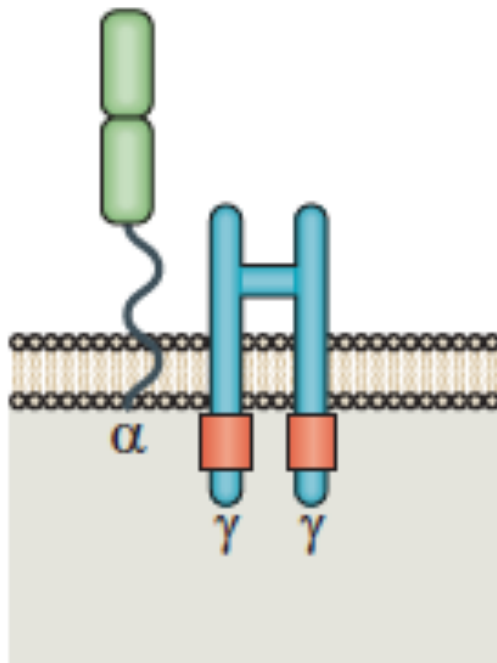
Sia nell'uomo che nel modello murino alti livelli di IgE sieriche sono stati correlati ad una aumentata espressione dell'FcεRI di membrana.

Gli alti livelli di espressione del recettore nei mastociti umani sono stati associati ad un aumento della produzione di istamina e di leucotrieni nelle cellule attivate con un anticorpo anti-IgE .

Forma trimerica ($\alpha\gamma\gamma$) del recettore ad alta affinità per le IgE (Fc ϵ RI)

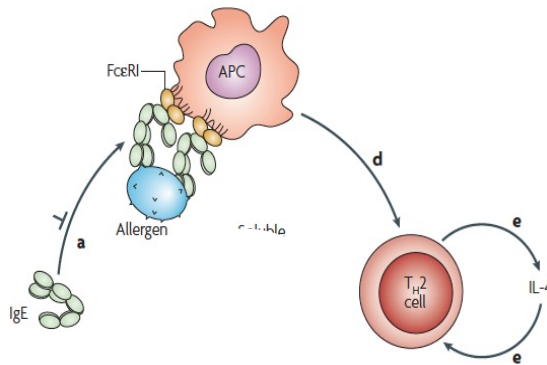
Fc ϵ RI (humans)

Dendritic cells
and macrophages



La forma trimerica dell'Fc ϵ RI può essere espressa da una varietà di altre cellule quali: macrofagi, cellule dendritiche, eosinofili, piastrine e neutrofilo. Questo recettore legato alle IgE aiuta la presentazione dell'antigene da parte delle cellule presentanti l'antigene.

Ruolo dell'FcεRI nella presentazione dell'antigene



L'interazione delle IgE con l'FcεRI espresso dalle cellule dendritiche (Langerhans e altre) facilita la cattura dell'antigene favorendo l'attivazione dei linfociti nella sottomucosa o nei linfonodi.