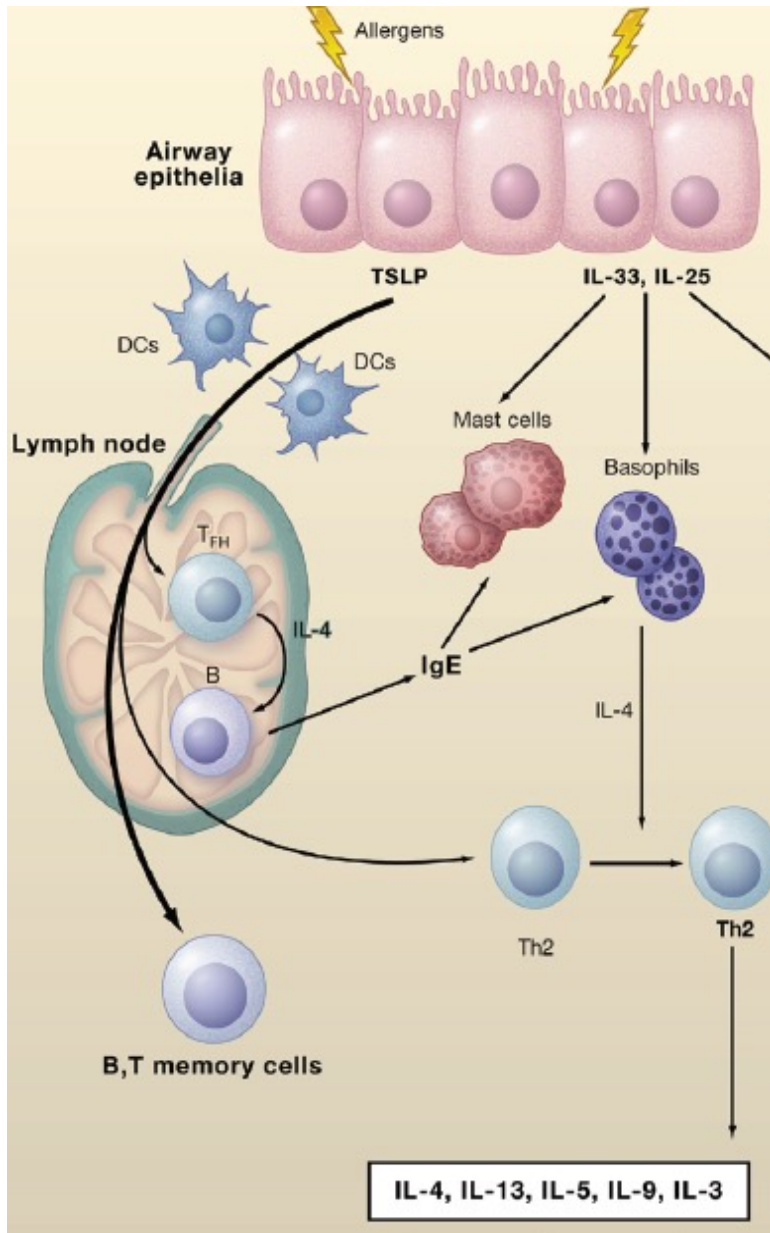


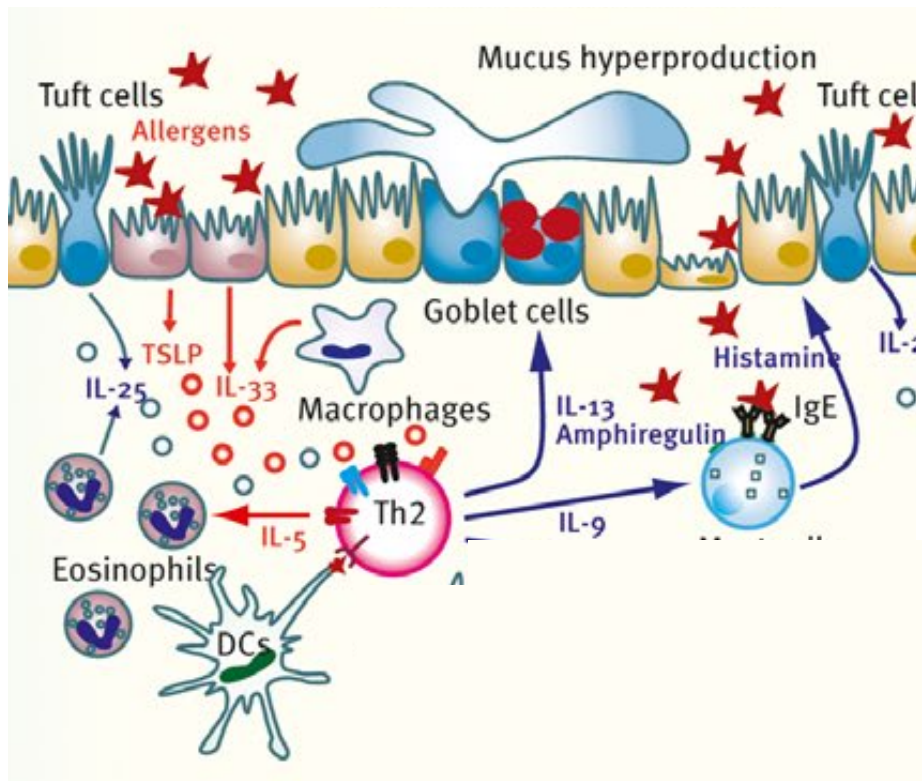
## Fase di sensibilizzazione



In un soggetto allergico il primo incontro con l'allergene induce una risposta anticorpale o umorale caratterizzata dalla produzione di IgE.

Inoltre sono indotti linfociti T helper 2 che sono caratterizzati dalla produzione di IL-4, IL-5, IL-9, IL-13.

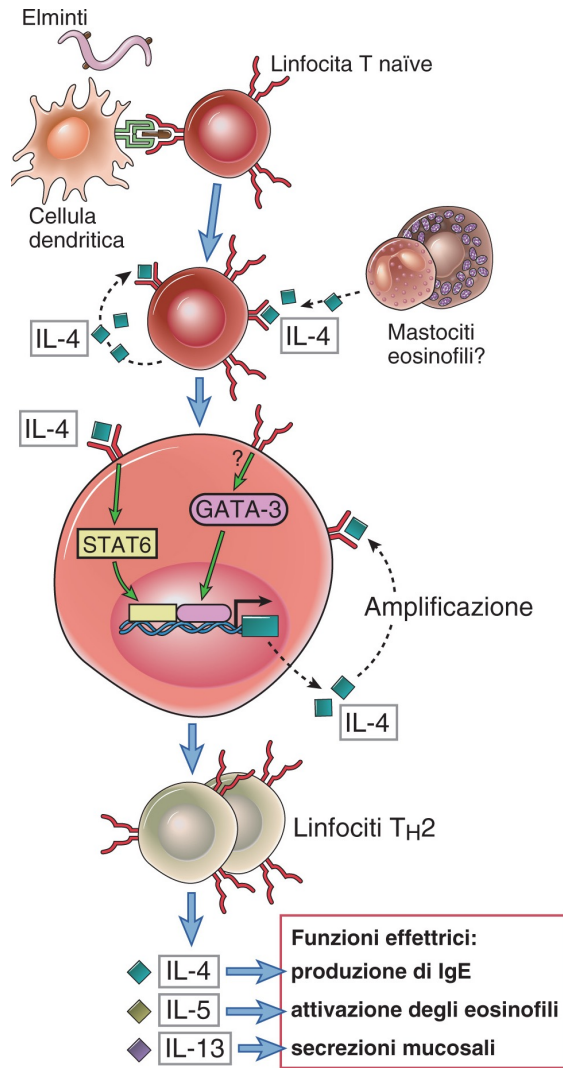
# I linfociti Th2 mediano la risposta infiammatoria nelle reazioni allergiche



L'infiammazione allergica caratterizza le malattie allergiche quali l'asma, le rinosinusiti, la dermatite atopica.

L'infiammazione allergica è caratterizzata dalla presenza di linfociti Th2, eosinofili, mastociti, e si accompagna a iperproduzione di muco e iperreattività bronchiale. I linfociti Th2 producono IL-4, IL-5, IL-13.

# Il differenziamento dei Th2



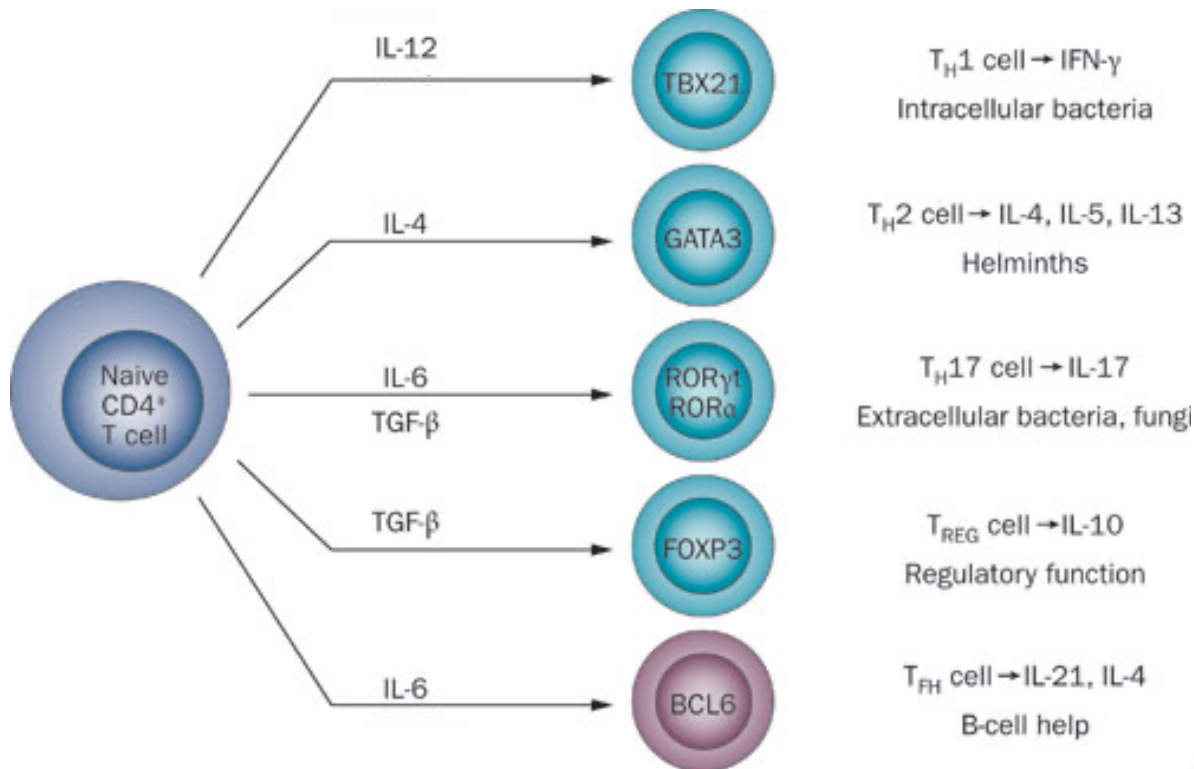
I linfociti Th2 si sviluppano dai linfociti T naïve in seguito al riconoscimento del complesso MHC+peptide espresso dalle cellule dendritiche in presenza di IL-4.

L'IL-4 agisce sui linfociti T helper attivando il fattore di trascrizione STAT6.

STAT6 attivato insieme ai segnali generati dal TCR induce l'espressione del fattore trascrizionale GATA-3. GATA-3 è il principale regolatore del differenziamento dei linfociti Th2 attivando la trascrizione dei geni che codificano per le citochine IL-4, IL-5 e IL-13.

# Il paradigma del differenziamento delle sottopopolazioni dei linfociti T CD4+

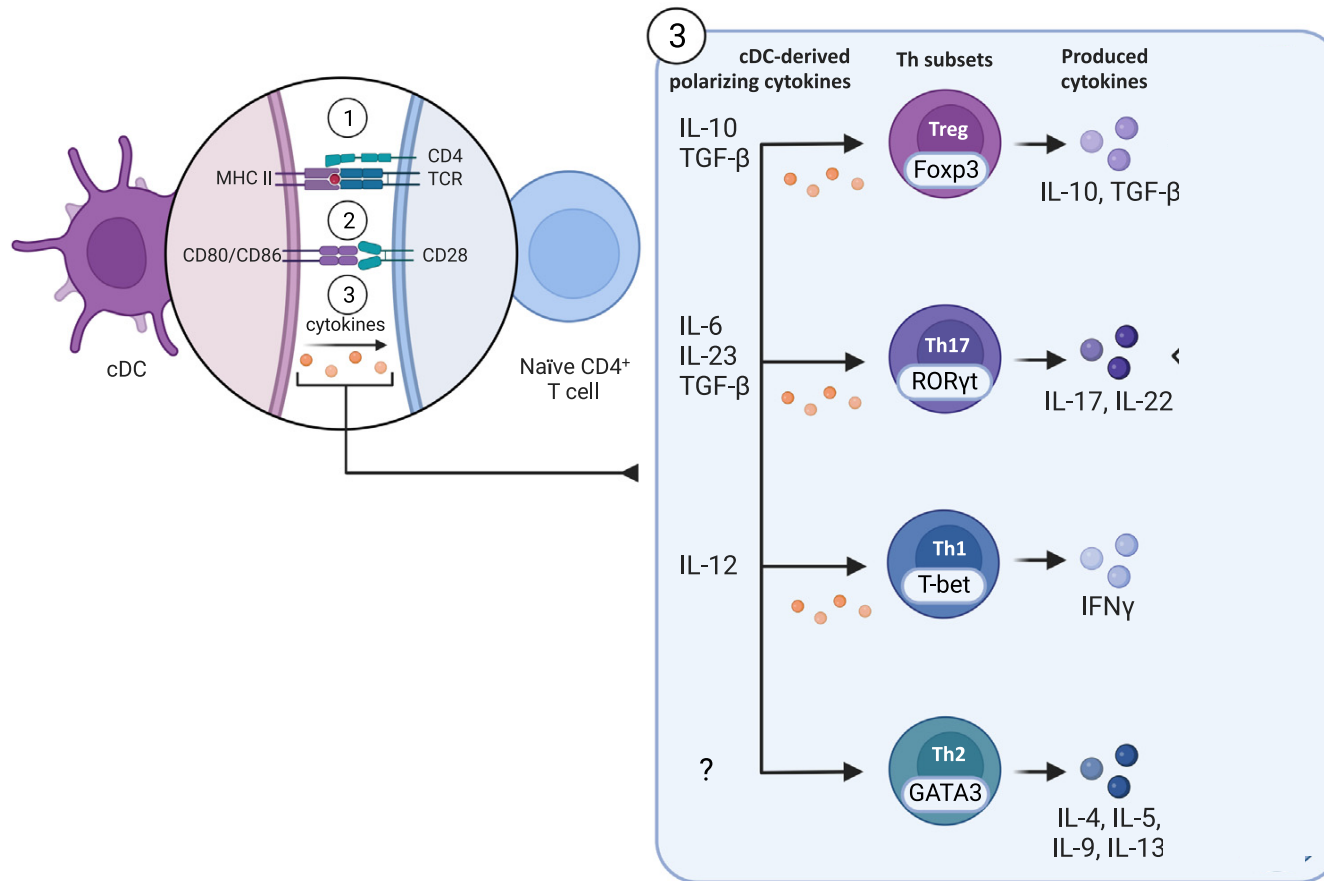
**Figure 1** The CD4<sup>+</sup> T cell development paradigm



Il differenziamento dei linfociti T helper naive in linfociti differenziati appartenenti alle diverse sotto-popolazioni di linfociti Th richiede:

- il riconoscimento del complesso MHC+peptide (segnale 1);
- la costimolazione da parte delle molecole B7.1 e B7.2 espresse dalla cellula dendritica (DC) che legano il CD28 (segnale 2);
- la segnalazione da parte di particolari citochine (segnale 3).

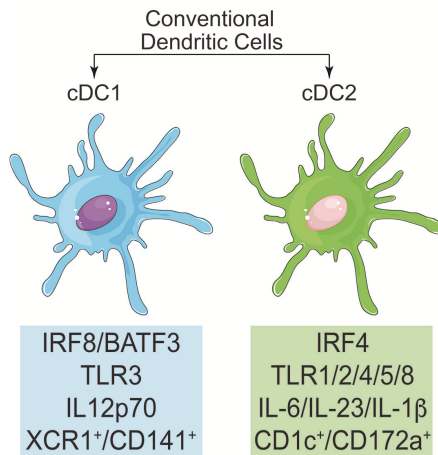
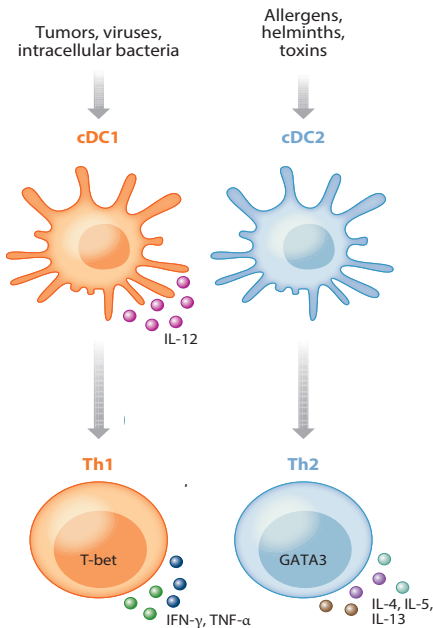
# Attivazione e differenziamento dei linfociti T helper da parte delle cellule dendritiche (DC)



Le cellule dendritiche in seguito all'interazione con i patogeni sono in grado di produrre IL-12, TGF- $\beta$ , IL-10, IL-6 e l'IL-23 e quindi sono considerate sufficienti per attivare i linfociti Th1, Th17, e le Treg essendo in grado di fornire i 3 segnali necessari.

Nel caso dei linfociti Th2, le DC non sono in grado di produrre IL-4 e ad oggi non sono noti i segnali inviati dalle DC per indurre il differenziamento di tali cellule.

## Sottopopolazioni di cellule dendritiche convenzionali



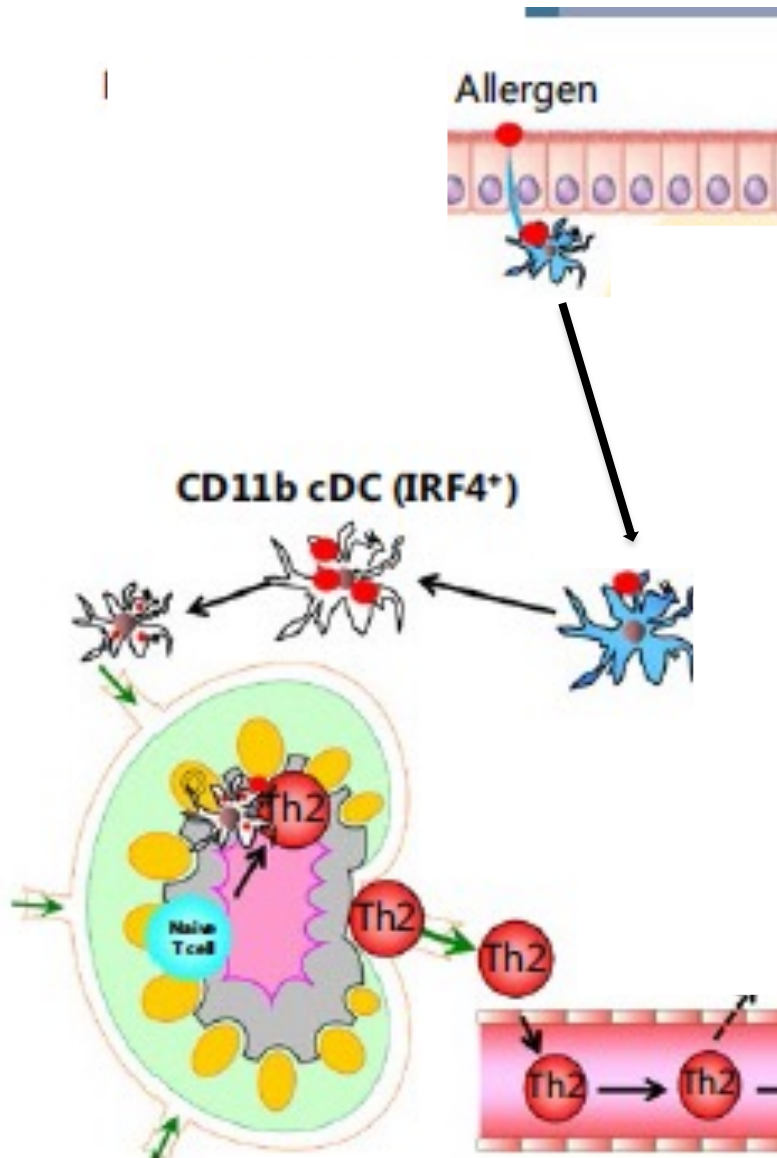
Le cellule dendritiche convenzionali sono distinte in 2 principali sottotipi. Le diverse funzioni di cellule presentanti l'antigene dipendono dalla espressione di recettori per la fagocitosi e pathogen recognition receptor (PRR) :

cDC1 (CD103<sup>+</sup>) = DC migratorie o residenti negli organi linfoidi. Il loro sviluppo dipende dai fattori di trascrizione IRF8, Batf3.

Hanno una maggiore capacità di cross-presentare gli antigeni. Attivano i T CD8<sup>+</sup> e i Th1. Producono IL-12. Sono altamente efficienti per attivare le risposte T verso virus , batteri intracellulari e tumori.

cDC2 (CD11b<sup>+</sup>)= DC migratorie o residenti. Il loro sviluppo dipende dal fattore trascrizionale IRF4. Si distinguono in diverse sottopopolazioni. Attivano i linfociti T CD4<sup>+</sup>.

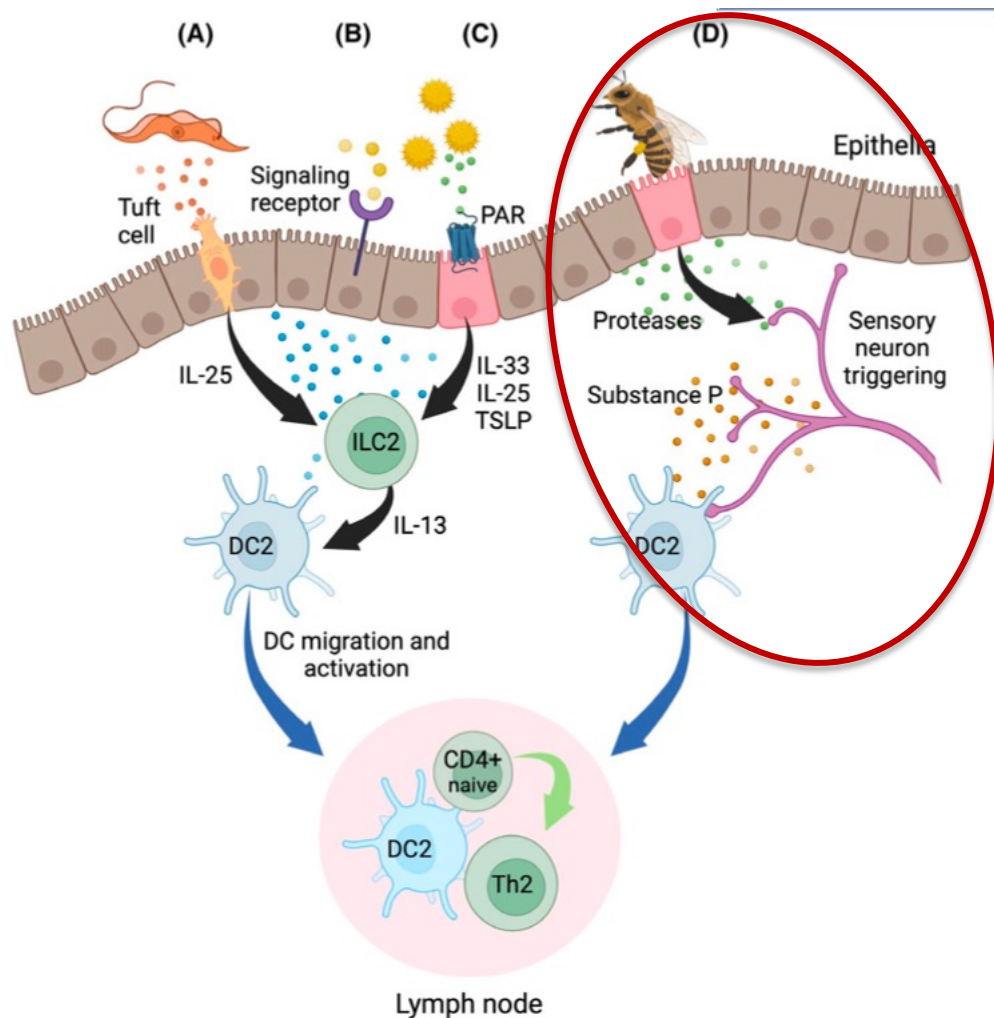
## Il differenziamento dei Th2 richiede le DC



Esperimenti in topi hanno dimostrato che l'eliminazione delle cDC2 migratorie preveniva la sensibilizzazione all'allergene iniettato per via intradermica o applicato sulla cute dei topi. Diversamente la delezione delle DC1 migratorie non influenzava la sensibilizzazione all'allergene. Diversi altri studi hanno confermato che le DC2 dendritiche sono necessarie per il differenziamento delle cellule Th2.

Anche nell'intestino nel caso di infezioni da parte di parassiti e nel polmone nello sviluppo di infiammazione allergica è stato dimostrato che le mig-DC2 sono necessarie per il differenziamento dei linfociti Th2.

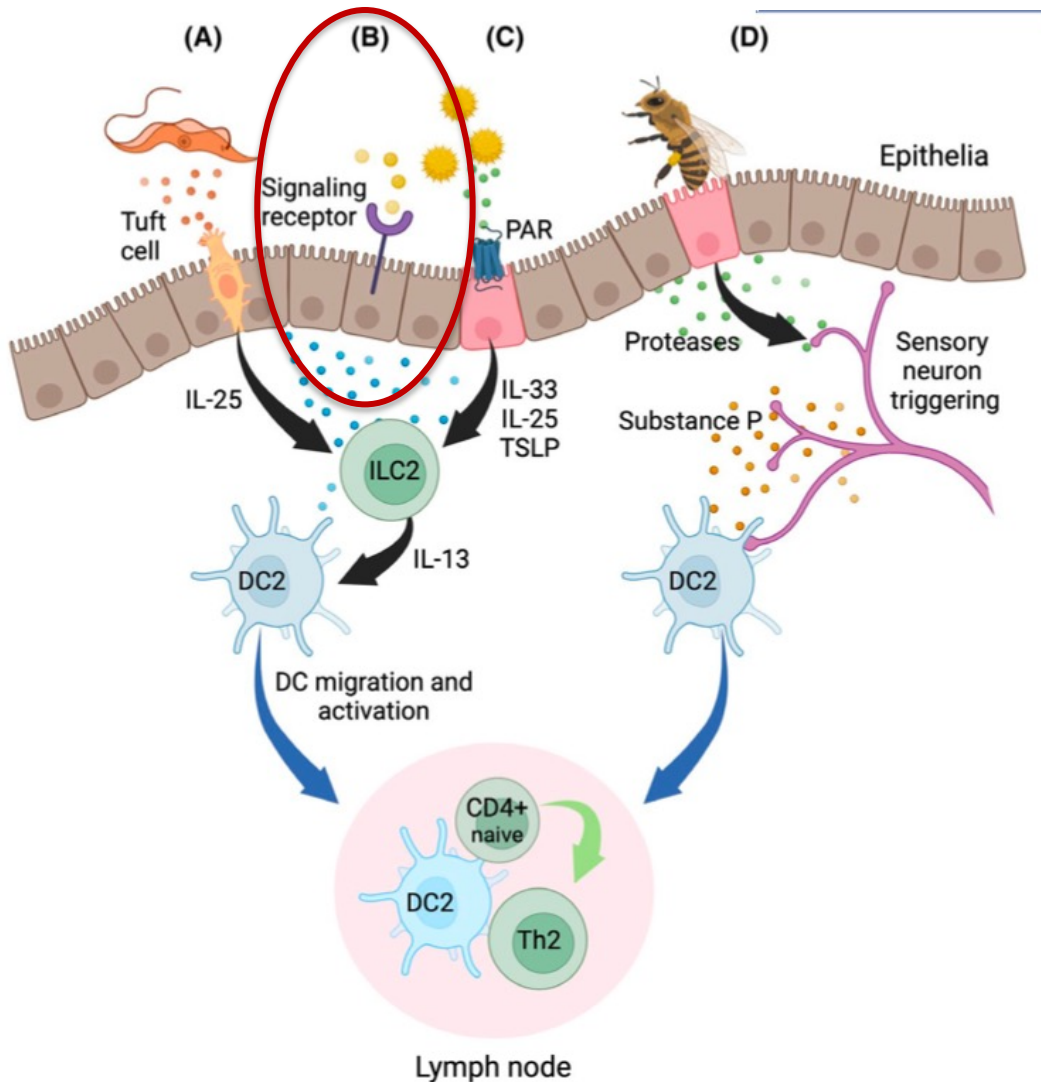
# Rilevamento dell'allergene da parte delle cellule dendritiche cDC2



Gli allergeni diversamente dagli antigeni microbici non presentano molecole comuni e quindi il loro riconoscimento da parte delle cellule del sistema immune innato può avvenire attraverso diversi meccanismi quali:

- L'attività proteasica di veleni, acari della polvere, spore fungine può alterare la barriera epiteliale inducendo danno tissutale e può stimolare i recettori attivati dalle proteasi favorendo la secrezione da parte delle cellule epiteliali di allarmine e citochine come la linfopoietina timica stromale (TSLP), l'IL-25 e l'IL-33. Queste molecole possono condizionale le cDC2 a diventare competenti nel differenziare i linfociti Th in Th2 oppure possono attivare le cellule innate linfoidi di tipo 2 (ILC2) a produrre IL-13.
- Le proteasi possono stimolare i recettori potenziali transienti vanilloidi e i neuroni sensoriali che attraverso il rilascio di mediatori inducono la degranulazione dei mastociti e la migrazione delle cDC2.

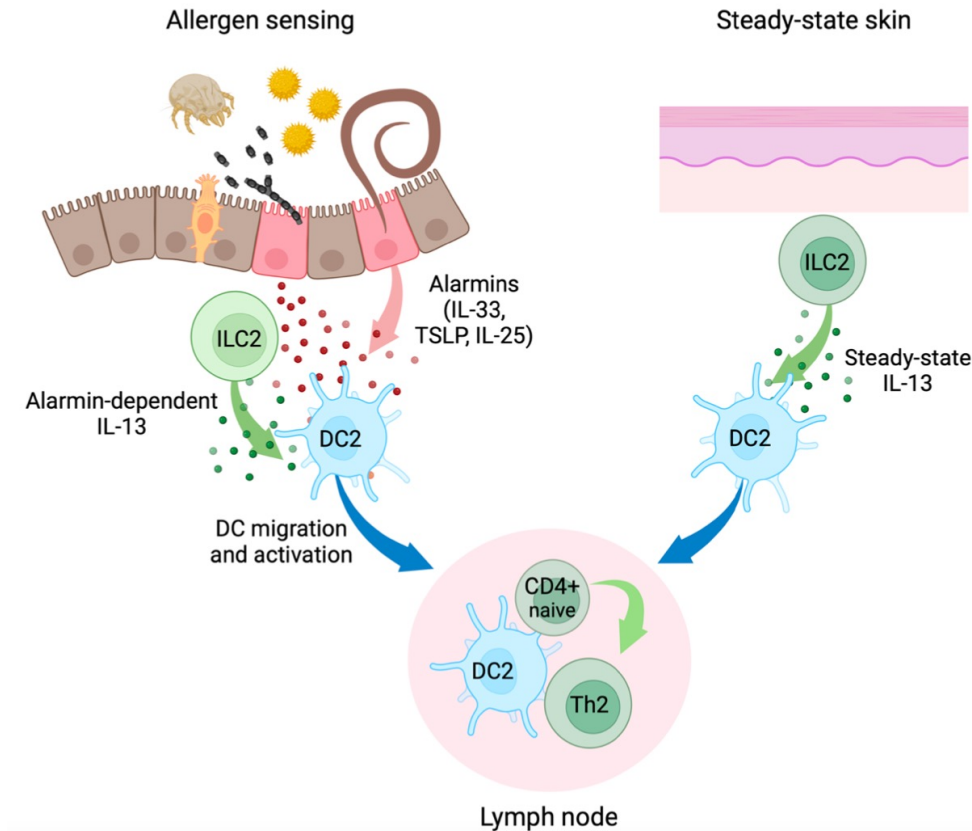
## Rilevamento dell'allergene da parte delle cellule dendritiche cDC2



Gli allergeni si possono legare a recettori di riconoscimento dei patogeni (PRR) quali i TLR (es: le proteine estratte dalle arachidi si legano al TLR1/TLR2 o al TLR2/TLR6; la proteina; la proteina Derp2 dell'acaro della polvere si lega al TLR4).

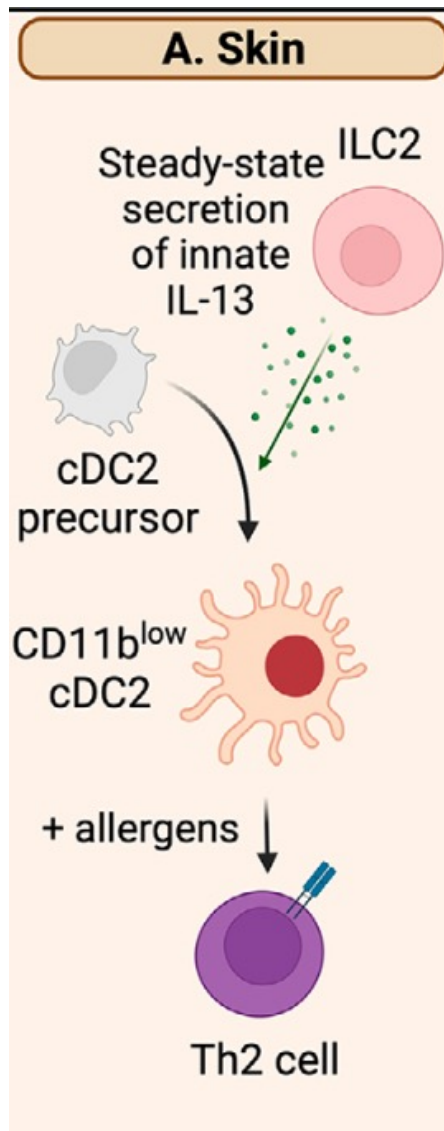
I recettori di riconoscimento possono essere espressi dalle cellule epiteliali promuovendo il rilascio di allarmine o essere espressi dalle cellule dendritiche.

# Rilevamento dell'allergene da parte delle cellule dendritiche cDC2 nella pelle



Mentre nell'intestino e nei polmoni l'interazione fra allergene e cDC2 rende la DC competente a far differenziare i Th in Th2, nella pelle sono state evidenziate ILC2 in grado di produrre costitutivamente IL-13 che quindi programma le cDC2 della pelle a favorire il differenziamento dei Th2.

## Ruolo della IL-13 nella funzione delle cDC2



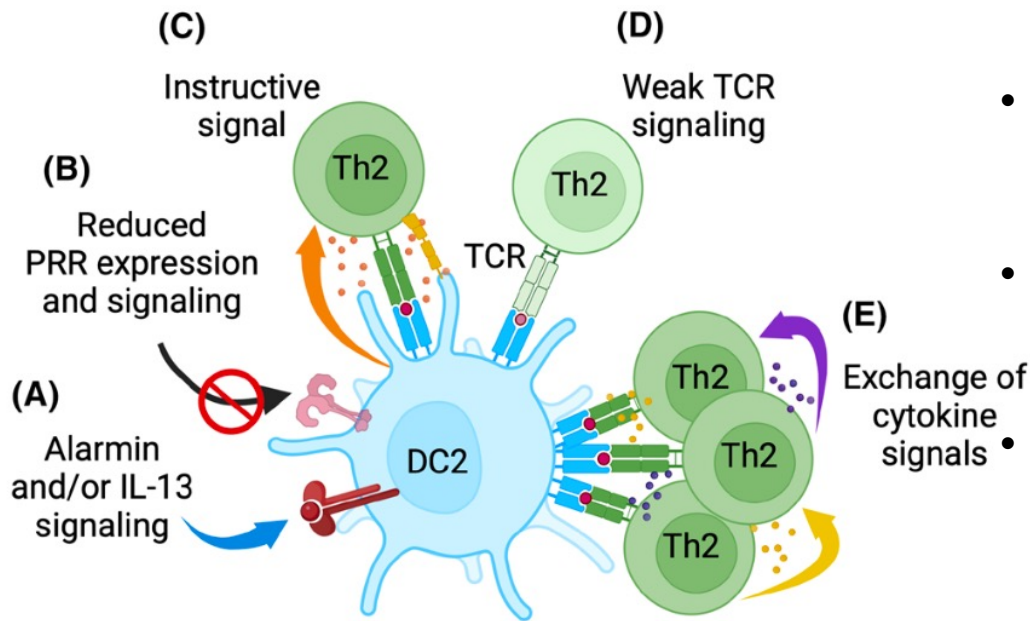
Nella pelle l'IL-13 induce nelle mig-DC2 cambiamenti nella espressione genica. L'IL-13 riduce la trascrizione dei geni codificanti il TLR-1, TLR-2 e TLR-6.

Come conseguenza la stimolazione di questi recettori induce una minore produzione di citochine pro-infiammatorie (IL-12, IL-23, IL-1 $\beta$ )

In generale una minore risposta a stimoli microbici favorisce lo sviluppo di risposte Th2.

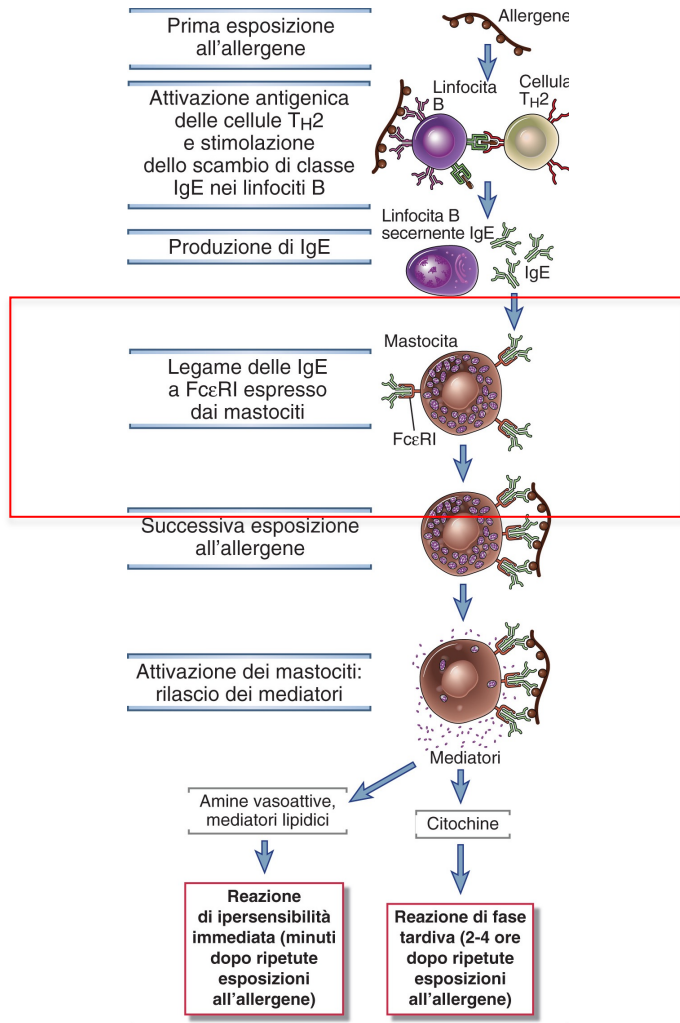
In generale l'IL-13 polarizza le cDC2 in cellule in grado di far differenziare i linfociti T naive in Th2.

## Segnali inviati dalle DC2 coinvolti nel differenziamento dei Th2



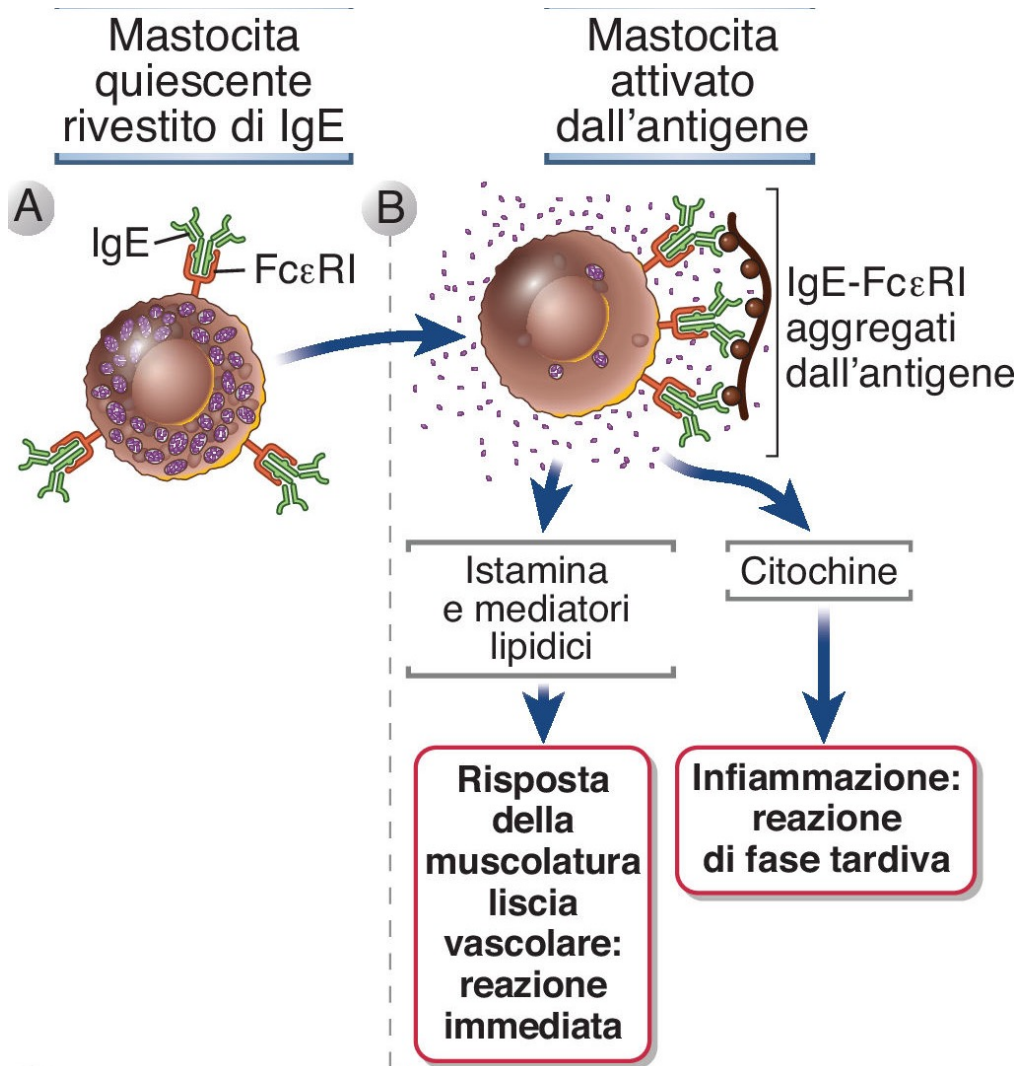
- Segnalazione da parte di allarmine/IL-13 potrebbero conferire alle cDC2 la capacità di indurre il differenziamento dei linfociti Th in Th2
- Ridotta espressione dei pathogen recognition receptor
- Segnali co-stimolatori o citochine espresse dalla cDC2 ancora non noti
- Stimolazione debole del TCR dovuta a basse dosi di antigene o bassa affinità del TCR per il complesso MHC+peptide che è sufficiente per indurre il differenziamento delle Th2 ma non delle Th1.
- Il contatto fra più cellule T con le cDC2 favorisce lo scambio di IL-2 e IL-4 fra cellule favorendo il differenziamento delle Th in Th2.

# Fase effettrice della reazione di ipersensibilità di tipo I



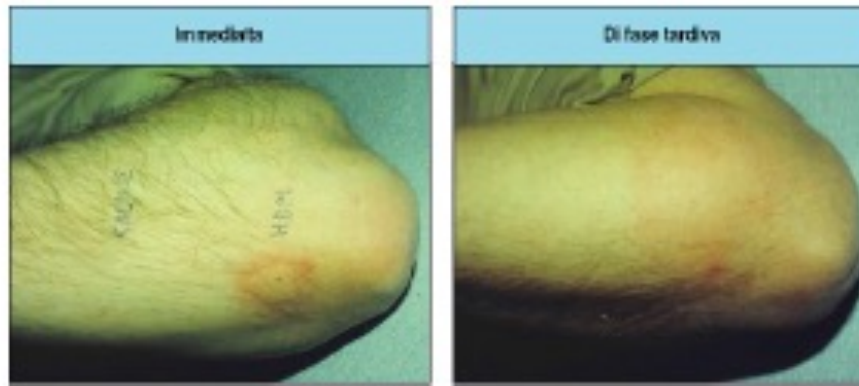
Le IgE prodotte in seguito alla prima esposizione all'allergene circolano nei fluidi corporei e si legano a recettori ad alta affinità (FcεR)I per le IgE espressi dai mastociti e dai basofili

## Nella fase effettrice delle reazioni di ipersensibilità di tipo I 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.

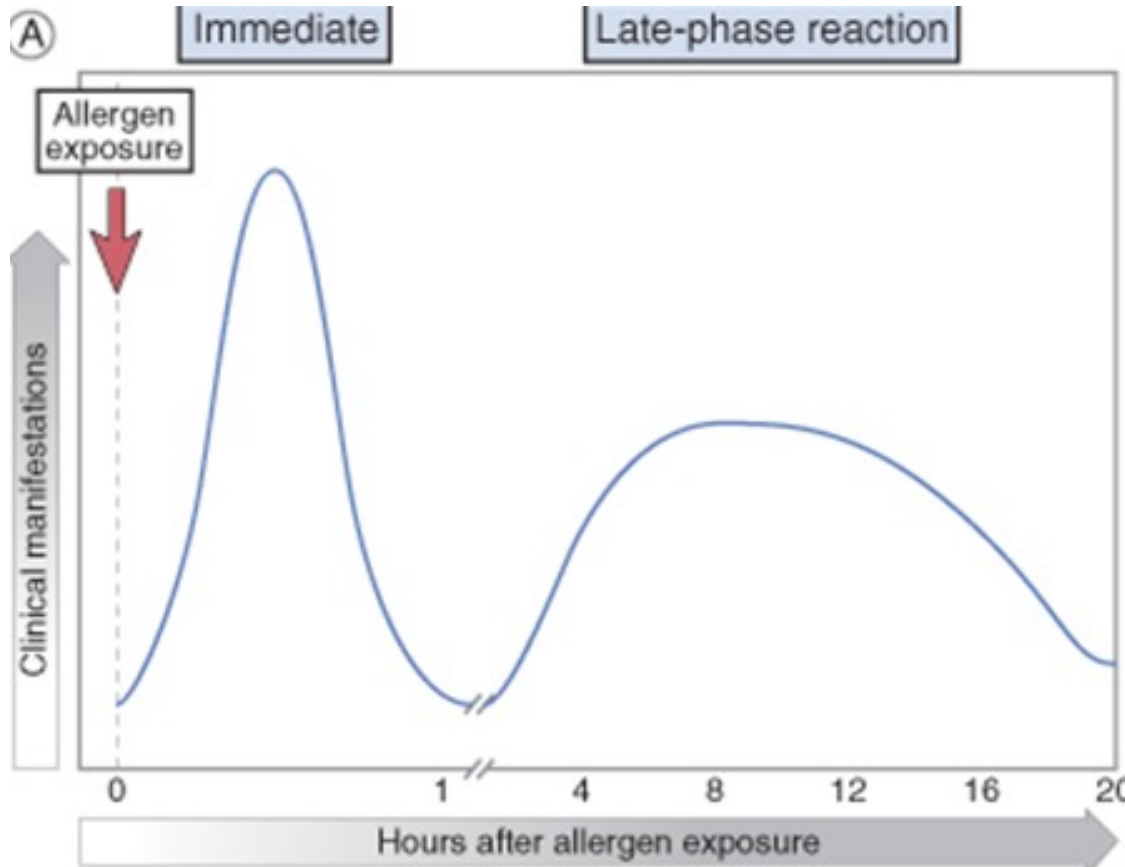
## Aspetto della fase immediata e della fase tardiva delle reazioni di ipersensibilità di fase I



La fase immediata è dovuta alla vasodilatazione e all'aumento della permeabilità dei vasi che causa rossore e fuoriuscita di liquidi e proteine dai vasi.

La fase tardiva consiste nell'accumulo di linfociti Th2, eosinofili mediato da citochine fra cui il  $\text{TNF-}\alpha$ , l'IL-5.

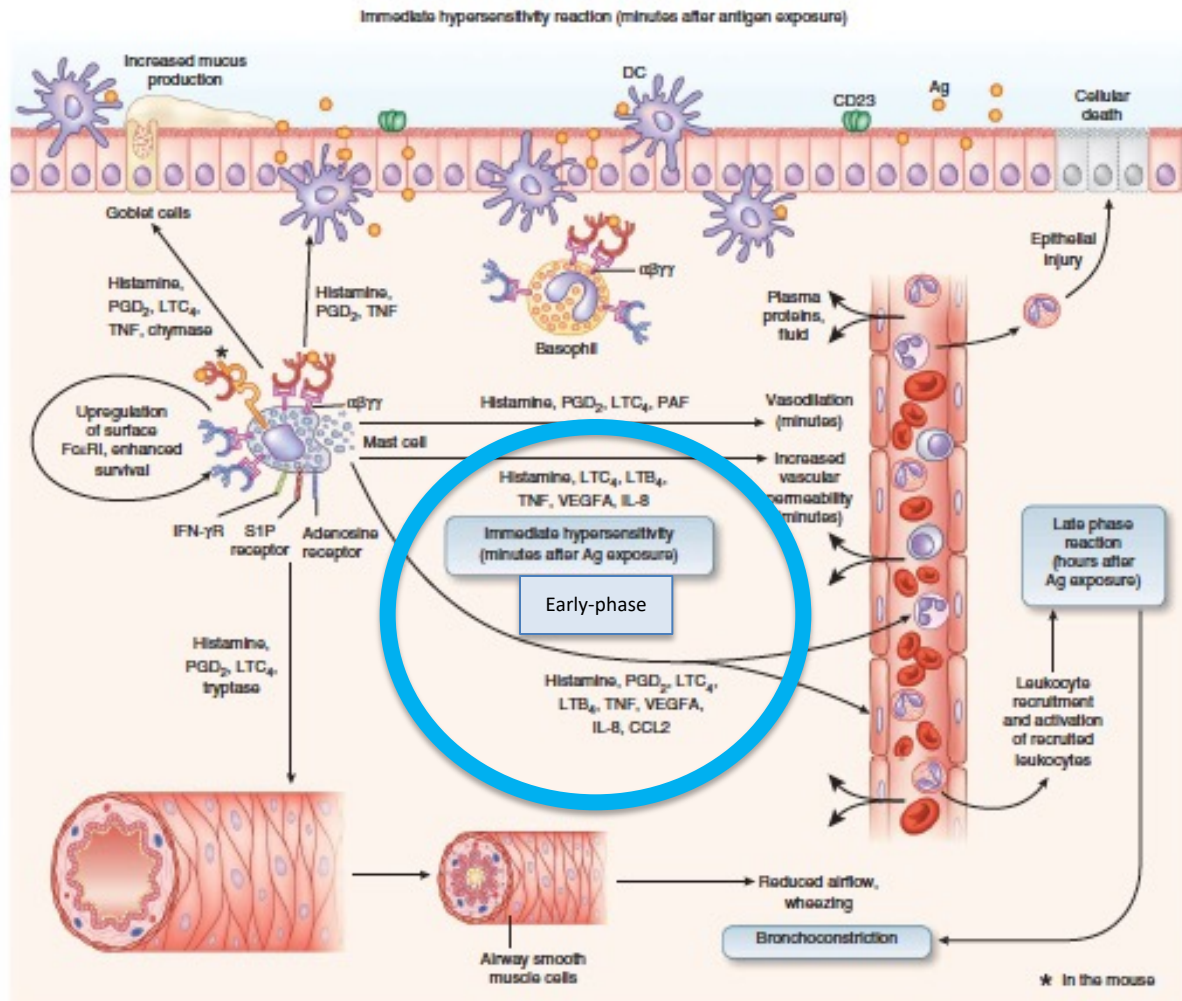
## Fase immediata e fase tardiva della reazione di ipersensibilità di tipo I



**La fase immediata** della reazione di ipersensibilità di tipo I ha luogo pochi minuti dopo l'esposizione all'allergene (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»

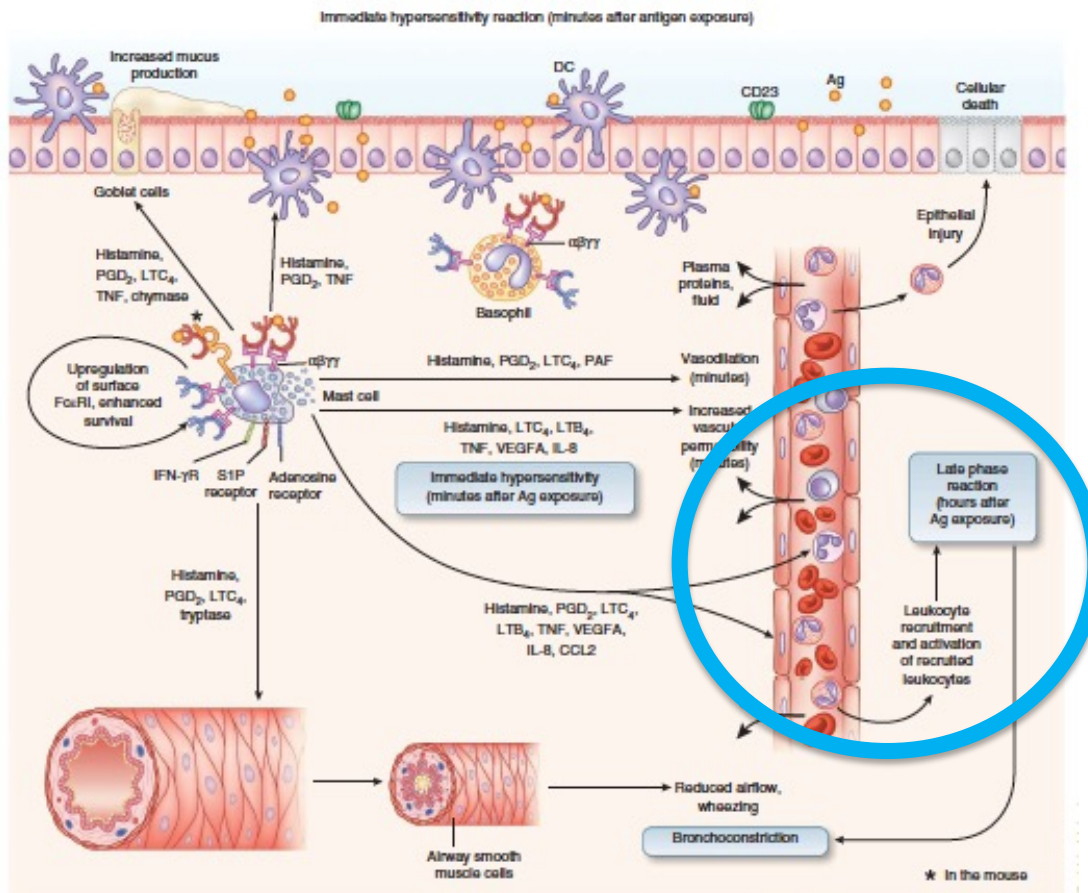


Il secondo contatto con l'allergene determina l'aggregazione degli FcεRI sui mastociti e la loro attivazione. I mastociti attivati rilasciano diversi mediatori biologici.

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

- Vasodilatazione e aumento della permeabilità vasale
- contrazione della muscolatura bronchiale
- secrezione di muco

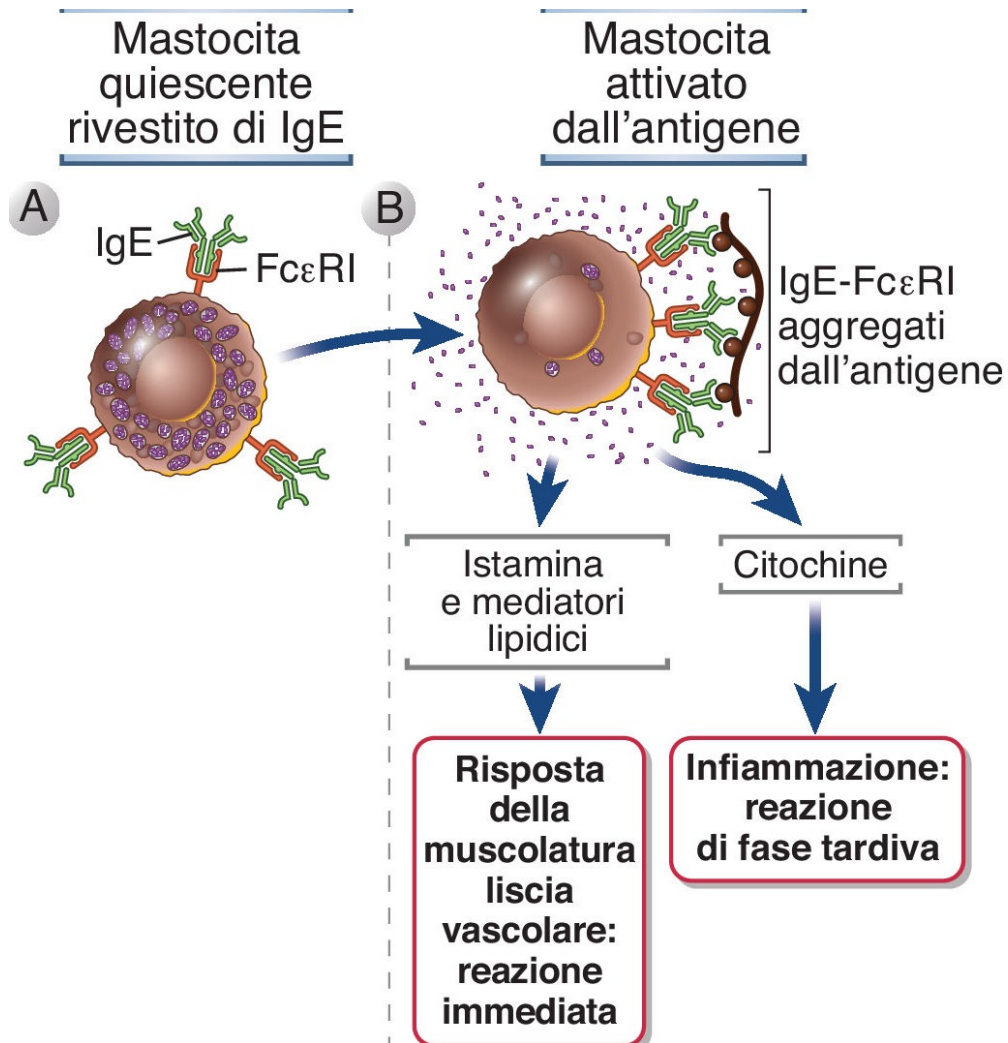
# Late phase reaction nelle reazioni di ipersensibilità immediata



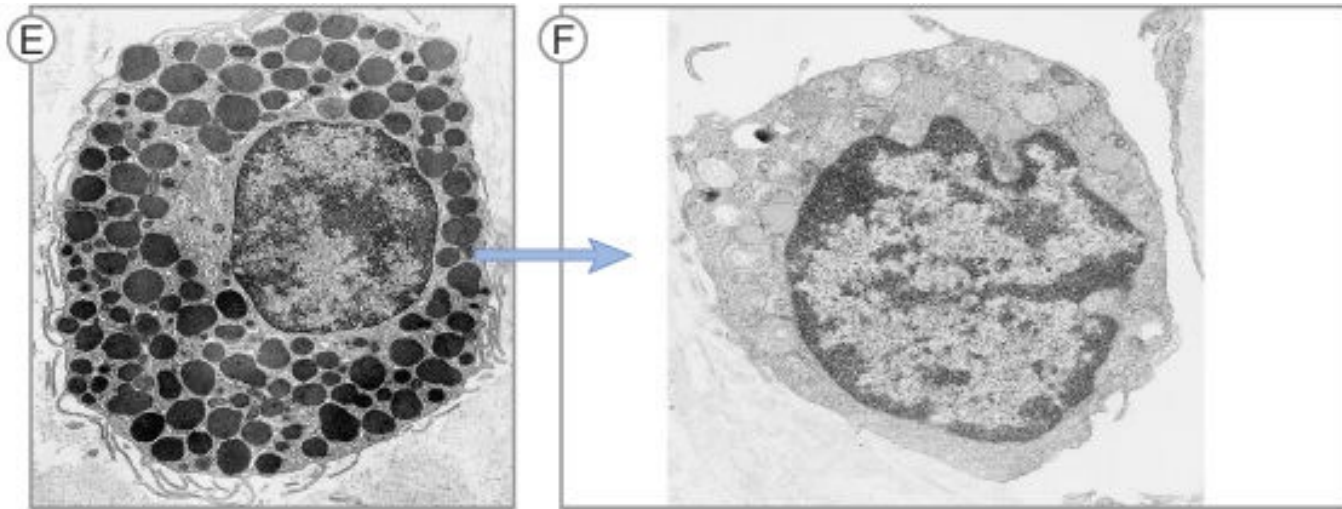
La fase tardiva delle reazioni di ipersensibilità immediata si sviluppa dopo 2-6h dall'incontro con l'allergene e riflette il reclutamento e l'attivazione delle cellule Th2, eosinofili, basofili e altri leucociti nel sito di contatto con l'allergene.

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

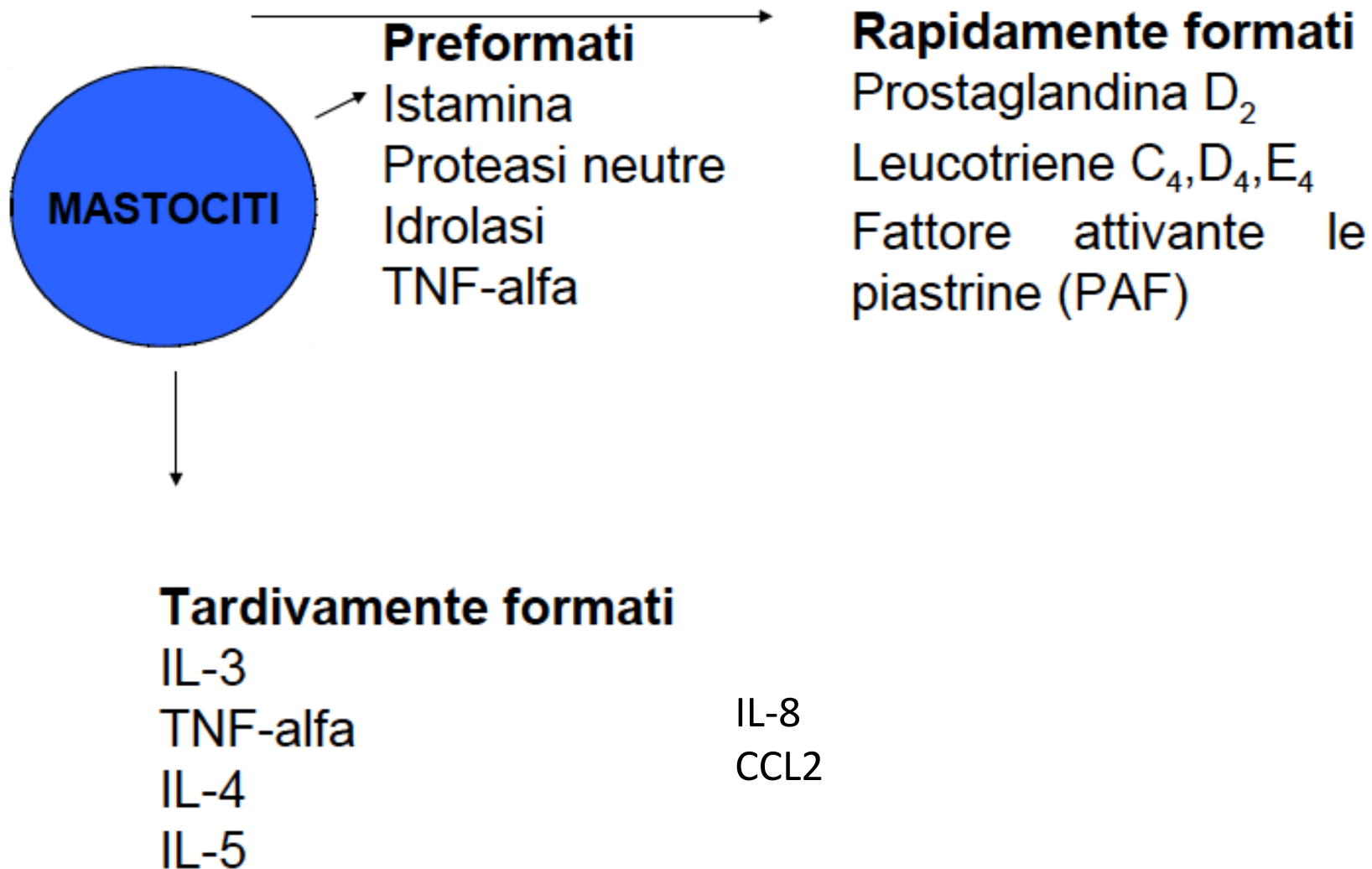


© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e [www.studentconsult.com](http://www.studentconsult.com)

- **MEDIATORI PREFORMATI:** ISTAMINA,  $\text{TNF-}\alpha$
- **MEDIATORI DI NUOVA SINTESI:** METABOLITI DELL'ACIDO ARACHIDONICO (prostaglandine e leucotrieni)

CITOCHINE

# MEDIATORI PRODOTTI DAI MASTOCITI



# L'istamina

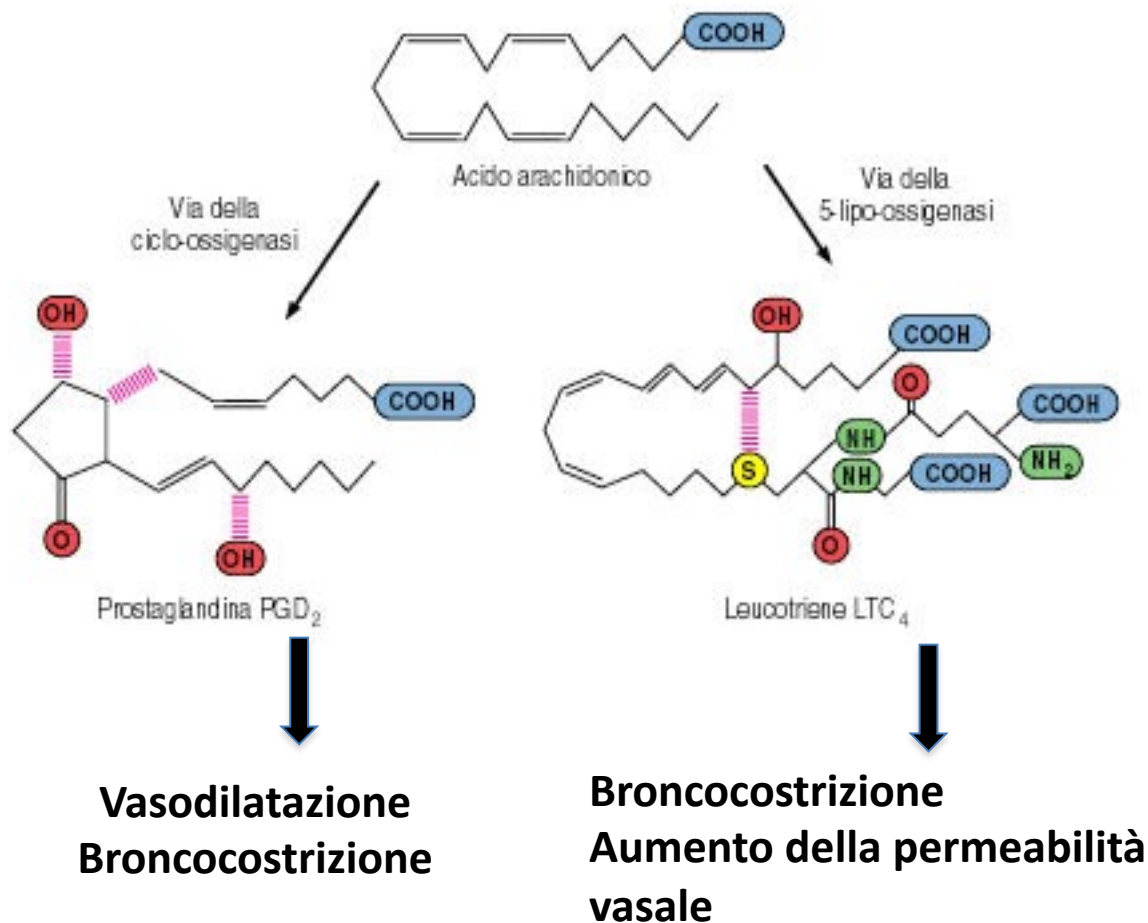


L'istamina deriva dalla decarbossilazione dell'istidina, agisce legandosi a recettori espressi sulle cellule bersaglio (H1, H2, H3, H4) media:

1) Contrazione delle **cellule endoteliali (aumento della permeabilità vasale)** e stimola nelle cellule endoteliali la produzione di Prostaciclina=PGI<sub>2</sub> 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  $LTC_4$ ,  $LTD_4$ ,  $LTE_4$ .

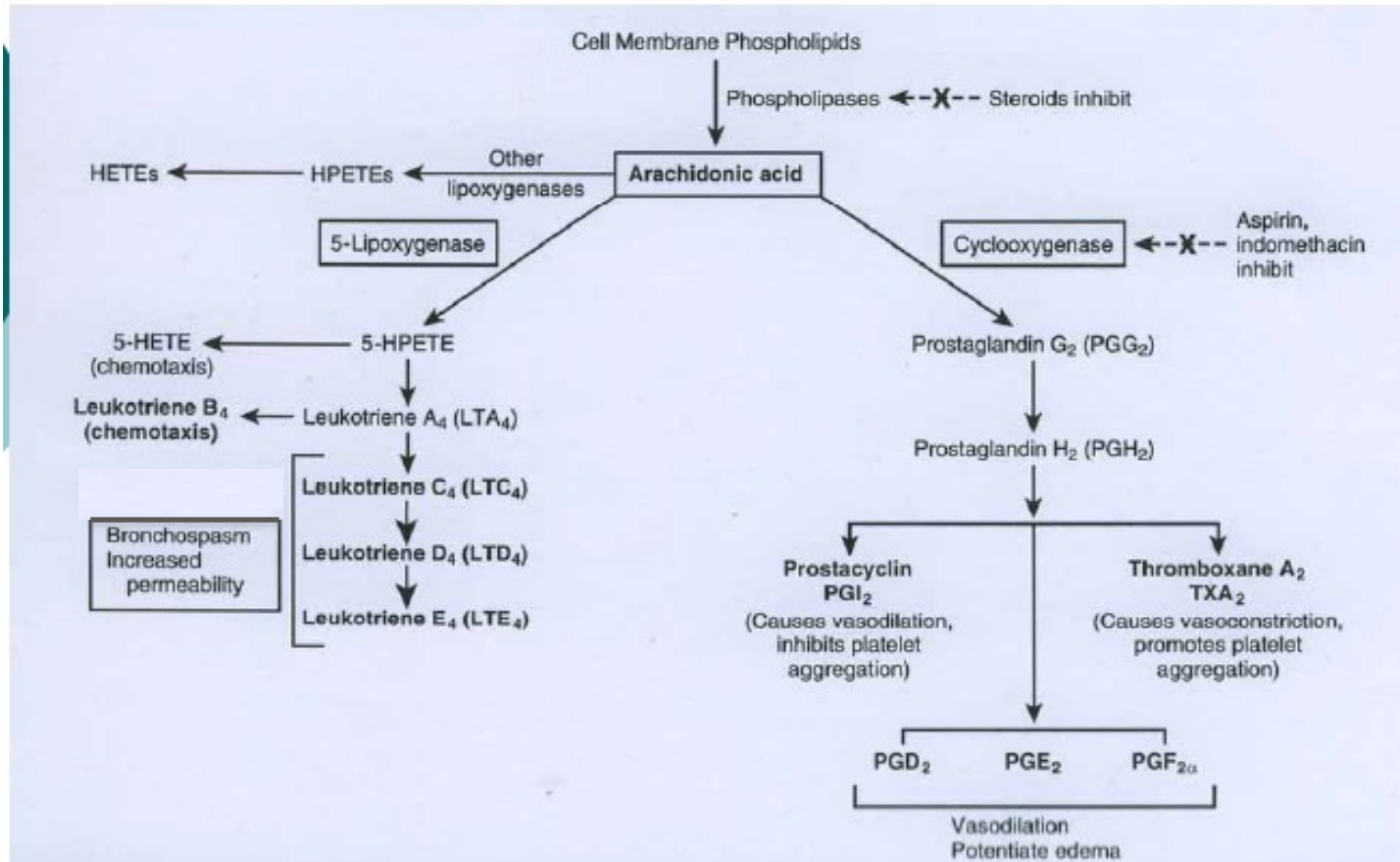
La Prostaglandina  $D_2$  ( $PGD_2$ ) generata attraverso la via della ciclossigenasi si lega a specifici recettori espressi sulle cellule muscolari lisce inducendo vasodilatazione e broncocostrizione

- 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

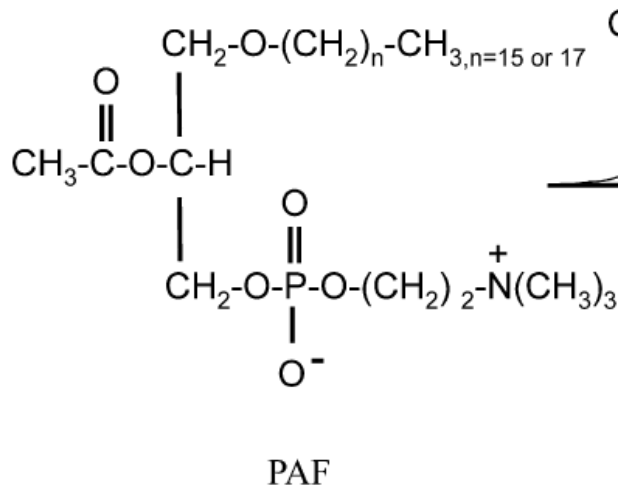
# Generazione dei metaboliti dell'acido arachidonico



5-HPETE acido 5-idrossieicosatetraenoico

L'attivazione della fosfolipasi A2 nei mastociti attivati 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<sub>4</sub>. LTA<sub>4</sub> viene rapidamente trasformato in **LTB<sub>4</sub>** e **LTC<sub>4</sub>**.

# Platelet activating factor



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

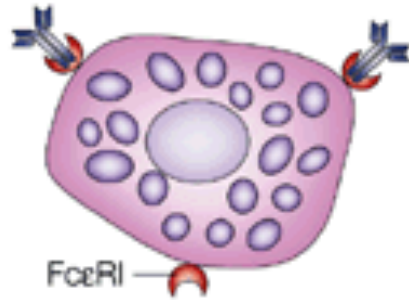
Il PAF ha una azione broncocostrittrice diretta, rilassa la muscolatura liscia vascolare causando vasodilatazione.

## **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) il 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:  $\text{TNF-}\alpha$ , IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, CCL2, CCL3 e il GM-CSF.

$\text{TNF-}\alpha$  attraverso l'up-regolazione delle molecole di adesione sulle cellule endoteliali e le chemochine IL-8 e CCL2 favoriscono il reclutamento dei leucociti.

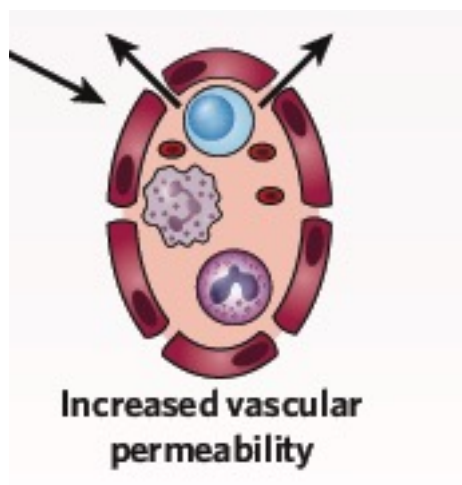
IL-3 favorisce la generazione di mastociti a partire dai progenitori midollari CD133+.

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

IL-13 induce la secrezione di muco

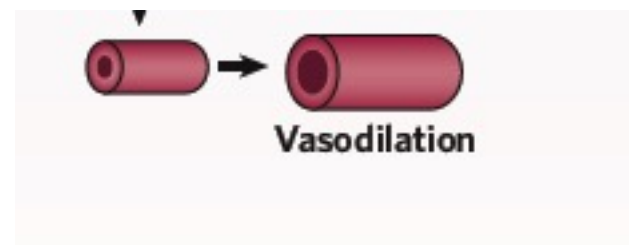
IL-4 favorisce il reclutamento dei leucociti dal circolo sanguigno upregolando le molecole di adesione sulle cellule endoteliali.

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

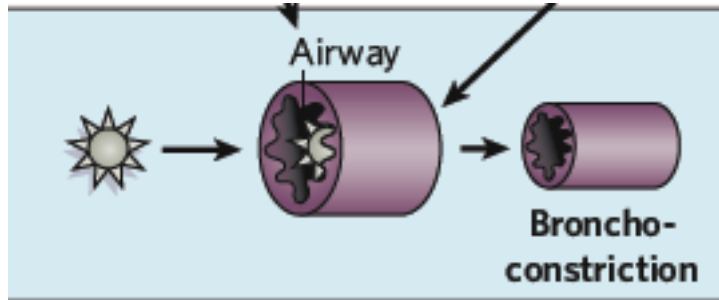


**Aumento della permeabilità vasale:** Istamina,  $\text{LTC}_4$ ,  $\text{LTD}_4$ ,  $\text{LTE}_4$  (cys-LTs).

**Vasodilatazione:** Istamina,  $\text{PGD}_2$ , PAF



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

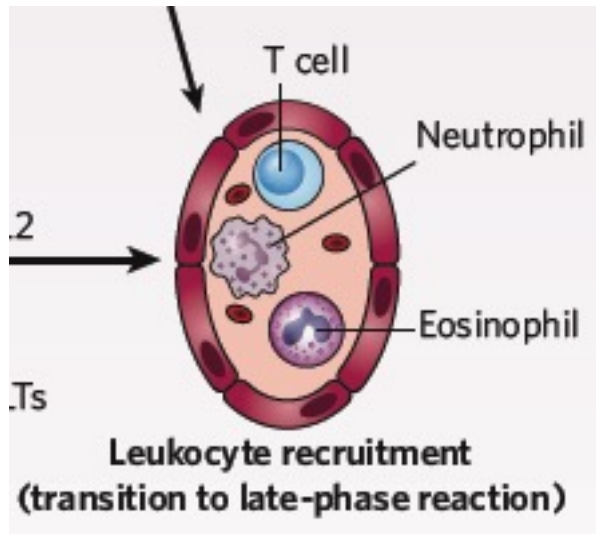


Istamina,  $\text{PGD}_2$ ,  $\text{LTC}_4$ .



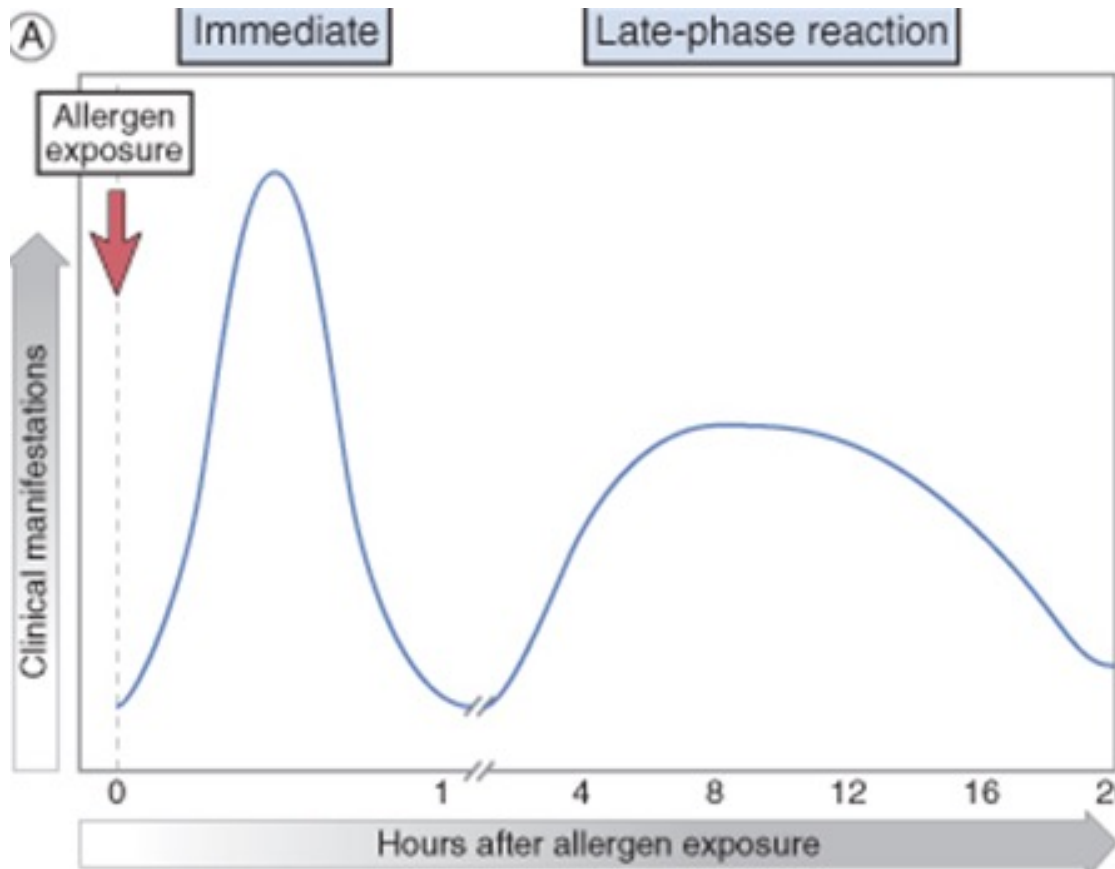
**Aumento  
della peristalsi  
intestinale**

# 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

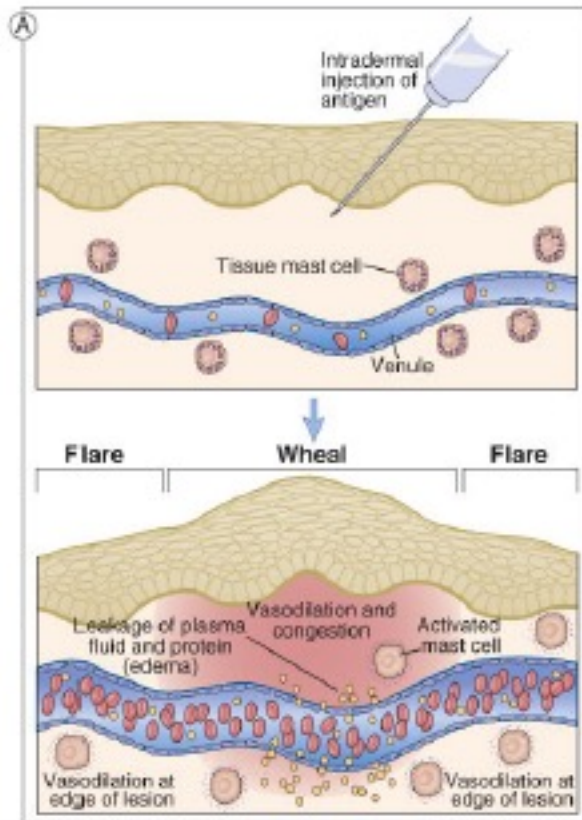
## Fase immediata e fase tardiva della reazione di ipersensibilità di tipo I



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.studentconsult.com](http://www.studentconsult.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+

## Prick test



Il prick test è un esame allergometrico che consente di formulare una diagnosi di allergia. Sono **test cutanei** per verificare la **reazione allergica** a diversi tipi di **sostanze**: alimenti, veleno di insetti, lattice, polvere e acari, polline, peli di animali. Al paziente vengono applicate modeste quantità dell'allergene della sostanza sospettata di provocare la reazione. L'applicazione avviene solitamente sull'avambraccio interno, favorendone la penetrazione nella pelle con graffi leggeri. Se in corrispondenza dell'applicazione si verifica un'eruzione cutanea, sotto forma di rash, pomfi o chiazze rosse, il paziente è molto probabilmente positivo a quel tipo di allergene e può essere formulata una diagnosi.