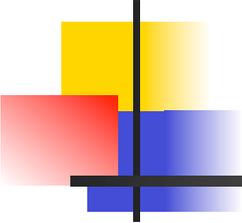


Meccanismi effettori dei linfociti T citotossici



Immunità specifica: caratteristiche generali

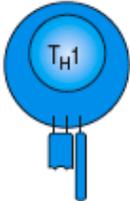
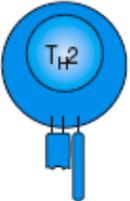
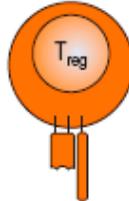
- **Immunità umorale**

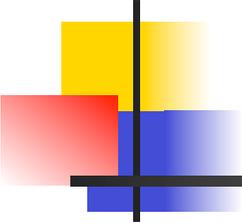
- Riconoscimento dell'antigene mediante anticorpi
- Rimozione patogeni e tossine extracellulari

- **Immunità cellulo-mediata**

- Riconoscimento dell'antigene mediante TCR
- Rimozione virus e batteri intracellulari

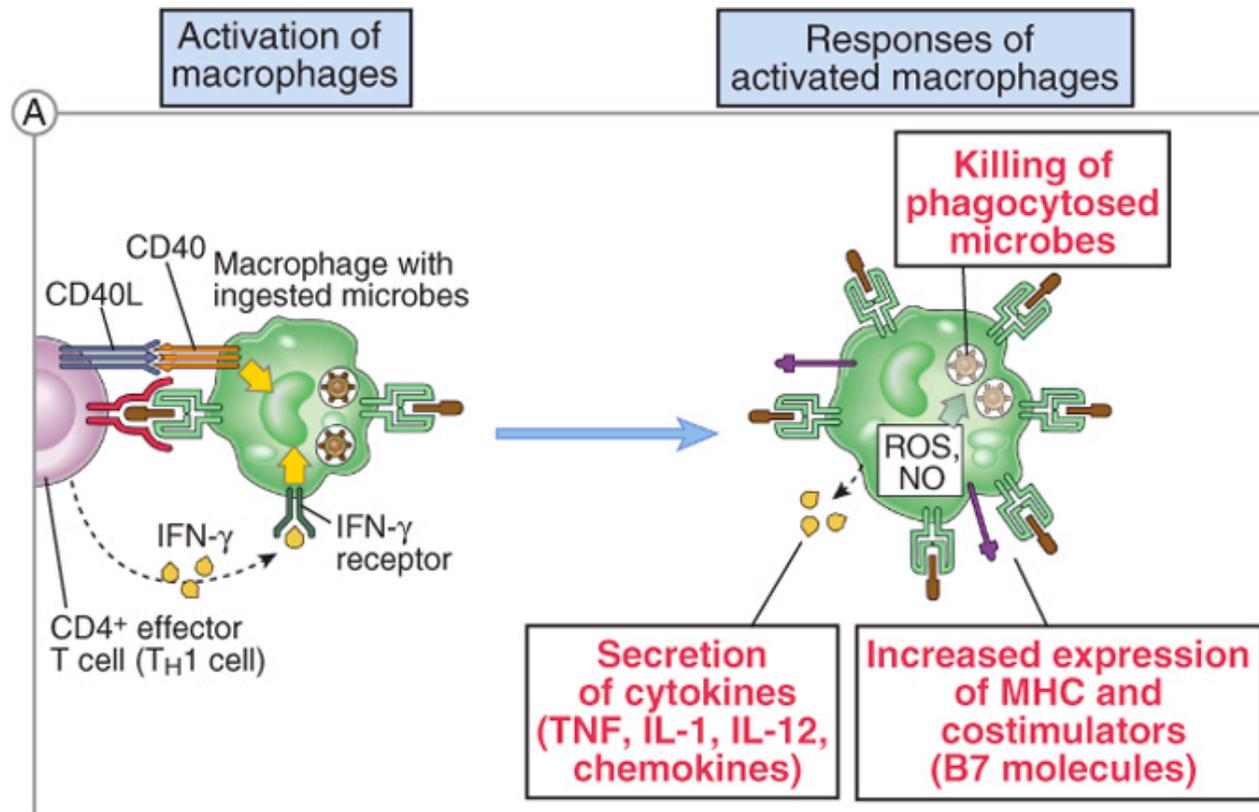
Linfociti T effettori

	Cellule T CD8 citotossiche	Cellule CD4 T _H 1	Cellule CD4 T _H 2	Cellule CD4 T _H 17	Cellule T CD4 regolatorie (vari tipi)
Tipi di cellule T effettrici					
Funzioni principali nella risposta immunitaria acquisita	Uccidono le cellule infettate da virus	Attivano i macrofagi infettati Forniscono aiuto alle cellule B per la produzione di anticorpi	Forniscono aiuto alle cellule B per la produzione di anticorpi, specialmente IgE	Aumentano la risposta dei neutrofili	Sopprimono le risposte delle cellule T
Patogeni	Virus (per esempio, influenza, rabbia, vaiolo) Alcuni batteri intracellulari	Microbi che persistono nelle vescicole del macrofago (per esempio micobatteri, <i>Listeria</i> , <i>Leishmania donovani</i> , <i>Pneumocystis carinii</i>) Batteri extracellulari	Elminti parassiti	Batteri extracellulari (per esempio, <i>Salmonella enterica</i>)	

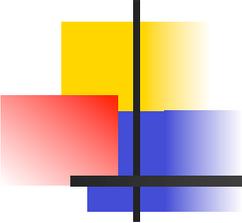


Le risposte verso i patogeni intracellulari: Fagociti

- La **risposta specifica** contro i microrganismi all'interno dei **fagosomi** e' mediata dai **linfociti** T_H1
- L'**uccisione** dei microrganismi e' dovuta ai **fagociti** (macrofagi attivati)
- I radicali liberi (**ROS, RNS e NO**) eliminano il patogeno, ma non la cellula infetta

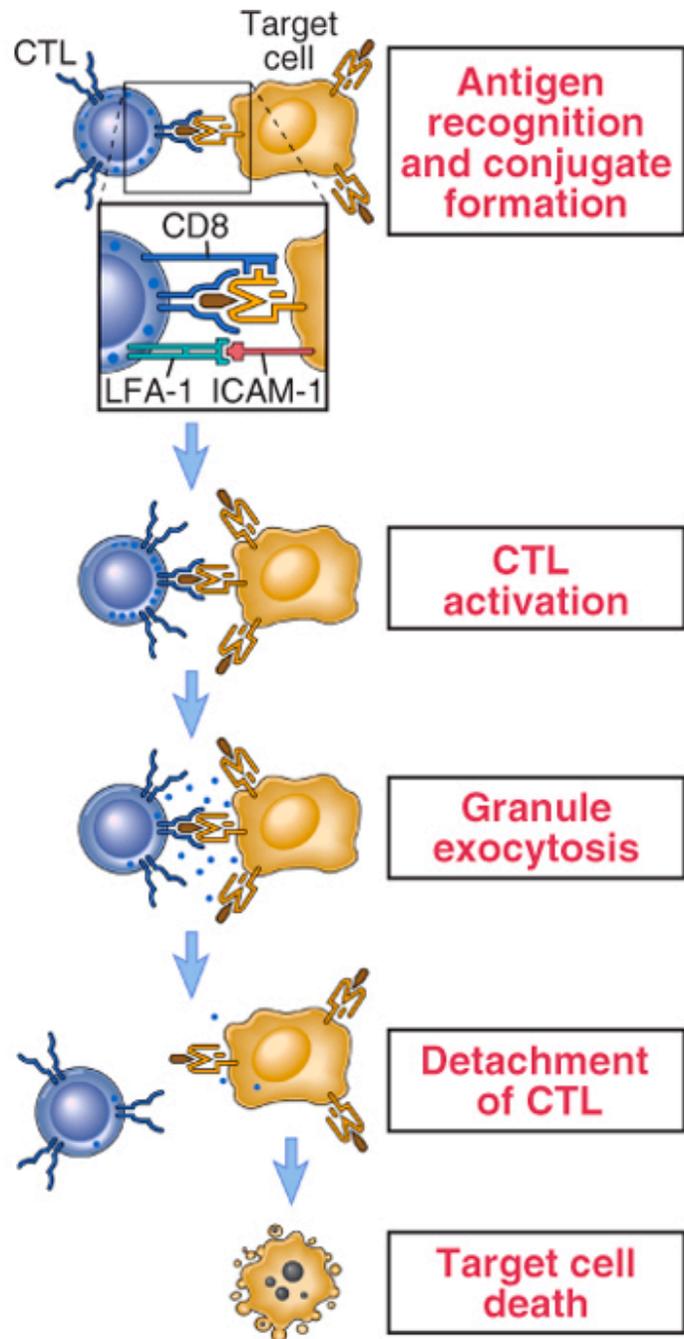


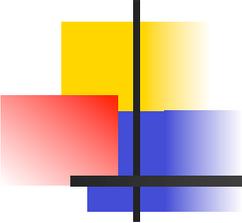
Macrophage response	Role in cell-mediated immunity
Production of reactive oxygen species, nitric oxide, increased lysosomal enzymes	Killing of microbes in phagolysosomes (effector function of macrophages)
Secretion of cytokines (TNF, IL-1, IL-12)	TNF, IL-1: leukocyte recruitment (inflammation) IL-12: T _{H1} differentiation, IFN- γ production
Increased expression of B7 costimulators, MHC molecules	Increased T cell activation (amplification)



Le risposte verso i patogeni intracellulari: CTL

- La **risposta specifica** contro i microrganismi nel **citoplasma** e' mediata dai **linfociti T citotossici**
- L'**uccisione** dei microrganismi e' dovuta ai **linfociti T citotossici**
- I CTL inducono l'**apoptosi** della cellula bersaglio
- Eliminazione del **patogeno** e della **cellula infetta**



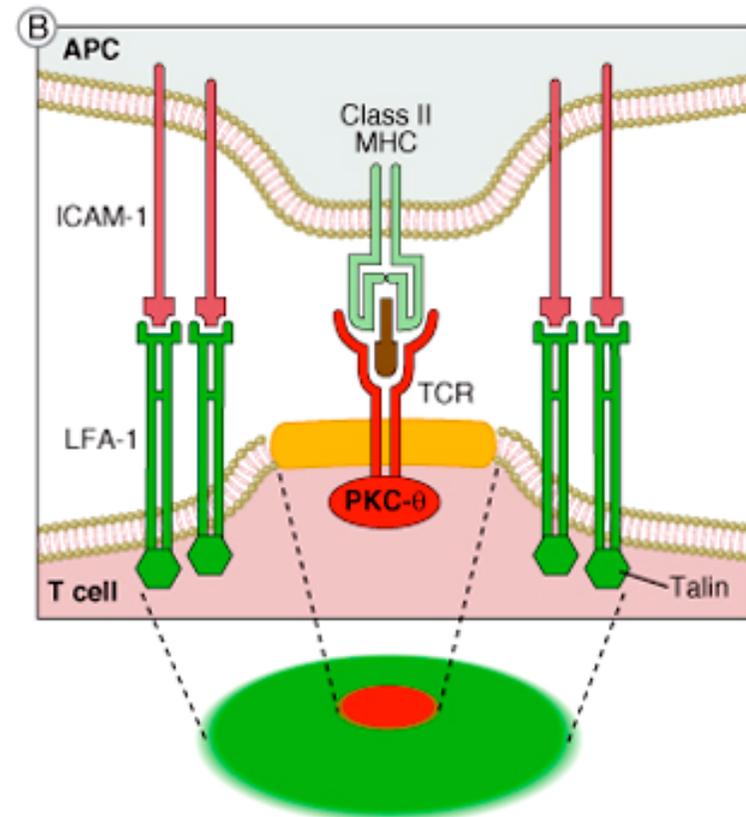


Le fasi dell'azione CTL

- 1) Riconoscimento Ag
- 2) Sinapsi immunologica
- 3a) Esocitosi dei granuli litici
- 3b) Interazione mediante Fas Ligand (FasL)
- 4) Apoptosi della cellula bersaglio infetta

La sinapsi immunologica

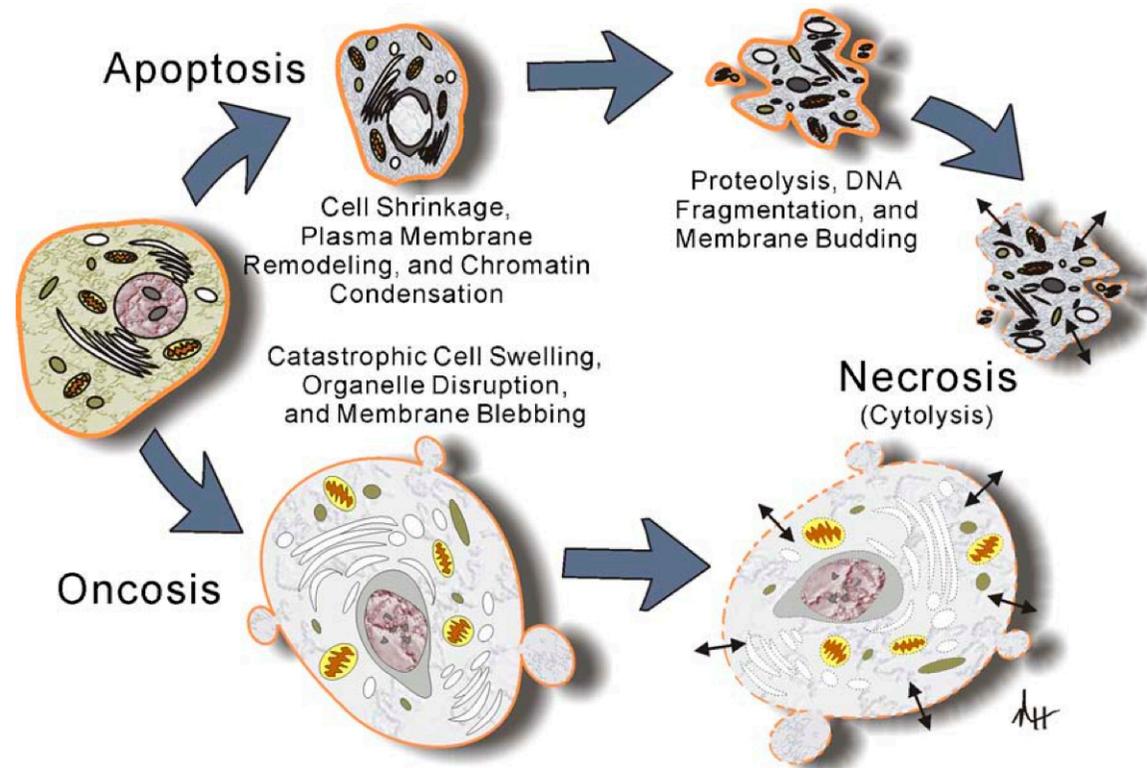
- La formazione della sinapsi immunologica coinvolge nella **parte centrale** (~ 15 nm): TCR/MHC, CD28/B7, CD3, CD8 o CD4
- L'interazione fisica e' rafforzata nella **parte periferica** (~ 40 nm) dall'integrina LFA-1 che lega ICAM-1

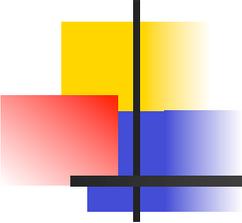


Contatto cellula-cellula



Apoptosi e Necrosi: caratteristiche morfologiche



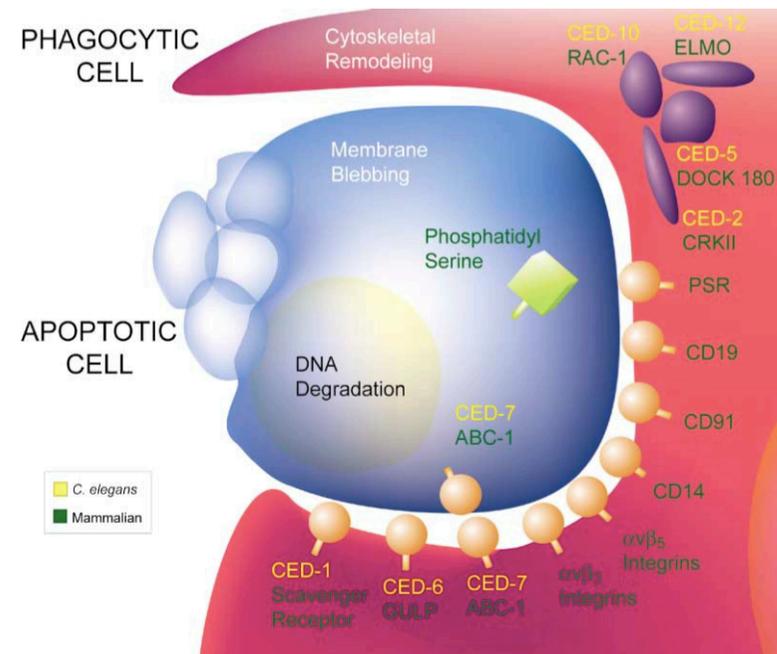


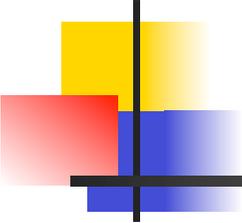
Apoptosi e Necrosi: differenze biologiche

- L'apoptosi e' un processo **attivo** e **controllato geneticamente** (morte cellulare programmata)
- La necrosi e' un processo **passivo** e **non regolato**
- L'apoptosi impedisce il rilascio del contenuto intracellulare → Nessuna infiammazione
- La necrosi scatena la fuoriuscita del contenuto intracellulare → Infiammazione

Rimozione delle cellule apoptotiche

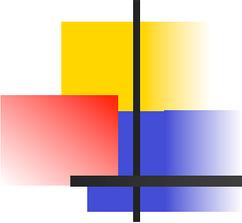
- La fosfatidil-serina esposta sulla cellula apoptotica e' il segnale per la fagocitosi
- Rimozione “pulita”:
 - Citochine anti-infiammatorie (TGF- β e IL-10)
 - Nessuna reazione autoimmune





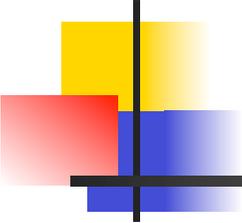
Trasduzione del segnale apoptotico

- **Proteine coinvolte:**
 - Cistein-proteasi = Caspasi
 - I) caspasi iniziatrici
 - II) caspasi effettrici
 - Proteine della famiglia Bcl-2
 - Proteine mitocondriali
 - DNA-Nucleasi



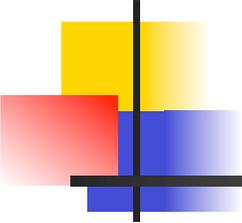
Ruolo delle Caspasi

- Le caspasi sono enzimi proteolitici presenti nella maggior parte delle cellule **in forma inattiva**
- A seguito di uno **stimolo apoptotico** vengono attivate, generando una **cascata proteolitica**
- Le caspasi **iniziatrici** (Casp-8, -9 e -10) trasducono il segnale ed attivano le caspasi **effettrici**
- Le caspasi **effettrici** (Casp-3, -6 e -7) degradano il contenuto cellulare



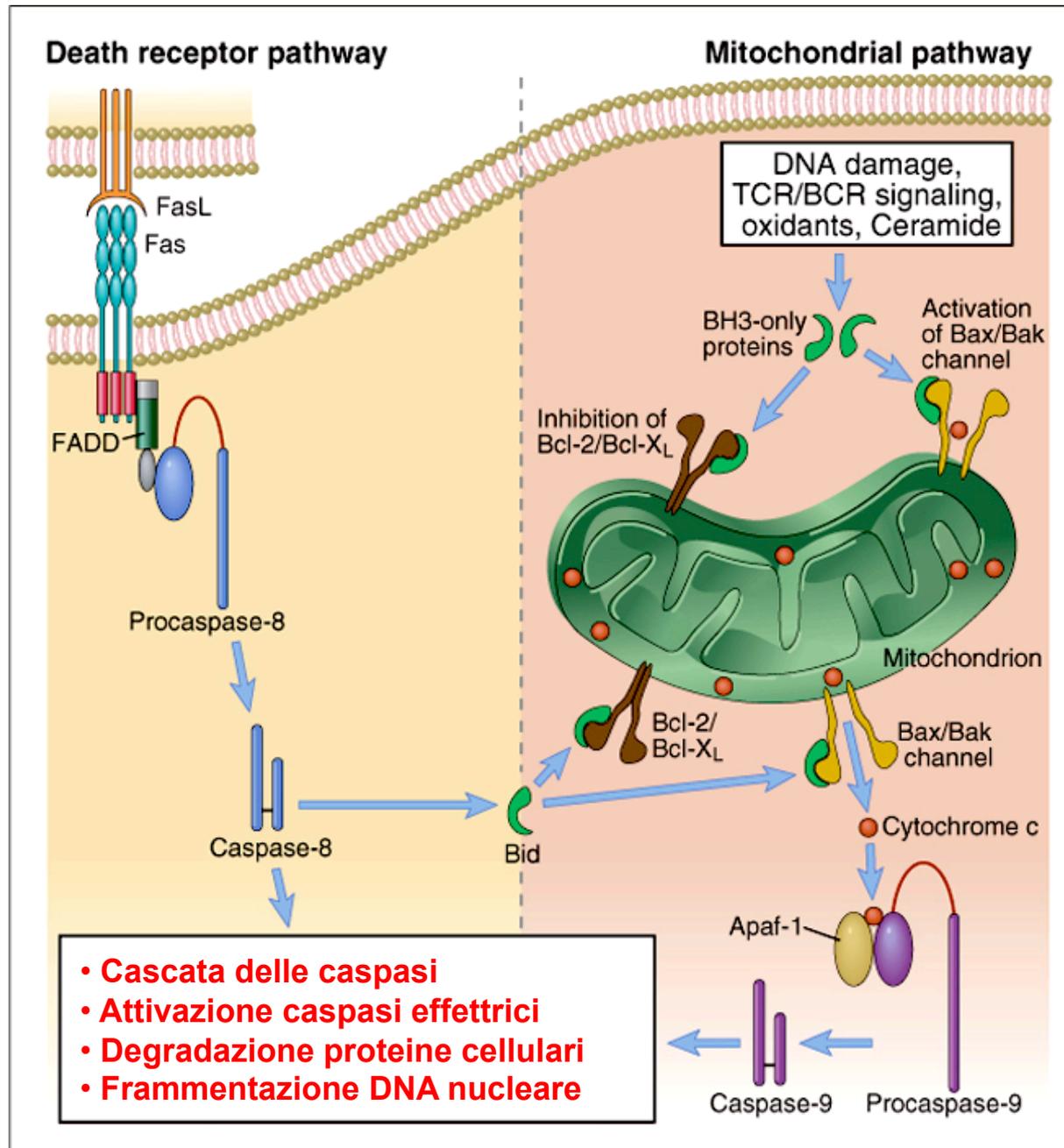
Ruolo delle proteine della famiglia Bcl-2

- Famiglia Bcl-2: circa 20 proteine che regolano l'apoptosi **positivamente** e **negativamente**
- Membri **anti-apoptotici** (Bcl-2, Bcl-X_L, Mcl-1, etc.) impediscono il processo di morte cellulare
- Membri **pro-apoptotici** (Bax, Bad, Bid, etc.) attivano e amplificano il segnale di morte cellulare
 - Blocco o Attivazione del Danno Mitocondriale



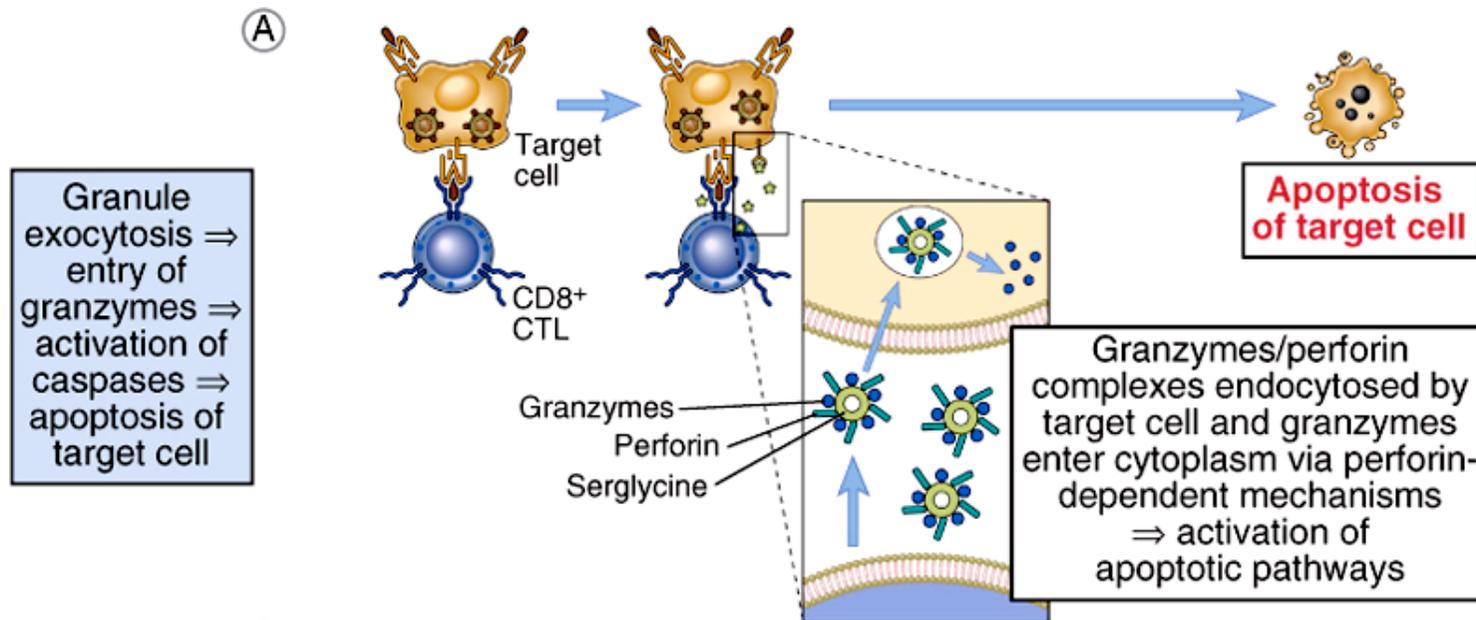
Ruolo delle proteine mitocondriali

- Alcune proteine vengono rilasciate nel citoplasma a seguito del danno mitocondriale:
 - Citocromo c
 - Omi (proteasi)
 - AIF e Endonucleasi G (DNasi)
- Attivazione e/o Amplificazione del Segnale Apoptotico
 - Attivazione delle caspasi e degradazione del DNA cellulare



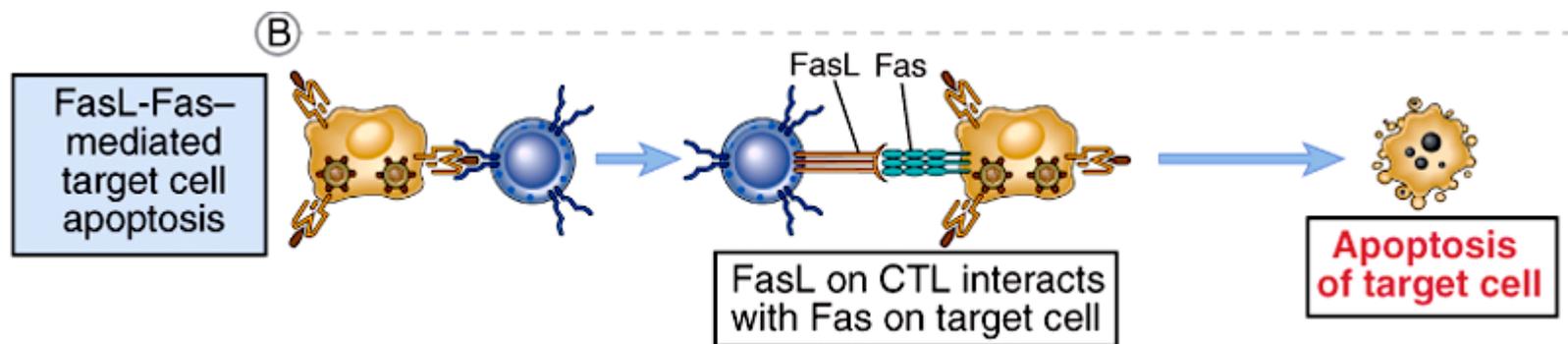
Meccanismi utilizzati dai CTL

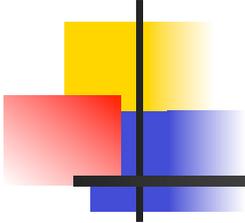
- Esocitosi dei granuli litici contenenti Granzimi e Perforine



Meccanismi utilizzati dai CTL

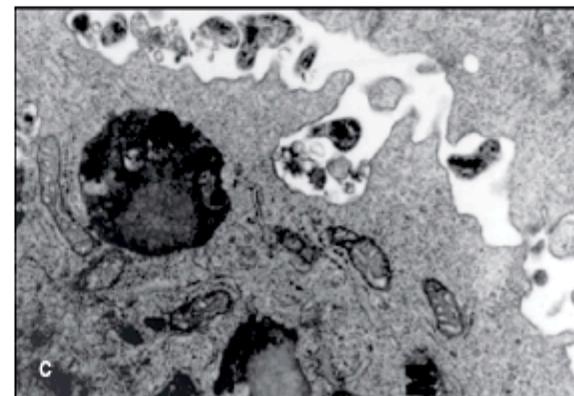
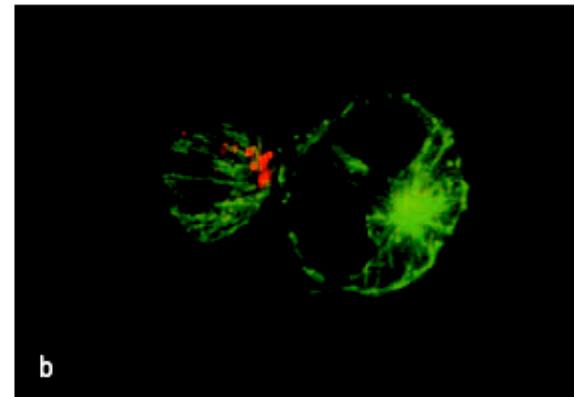
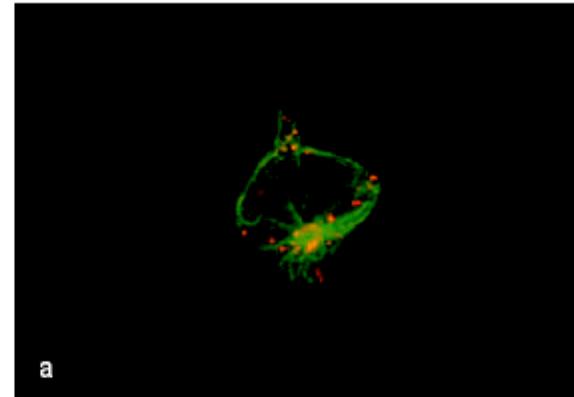
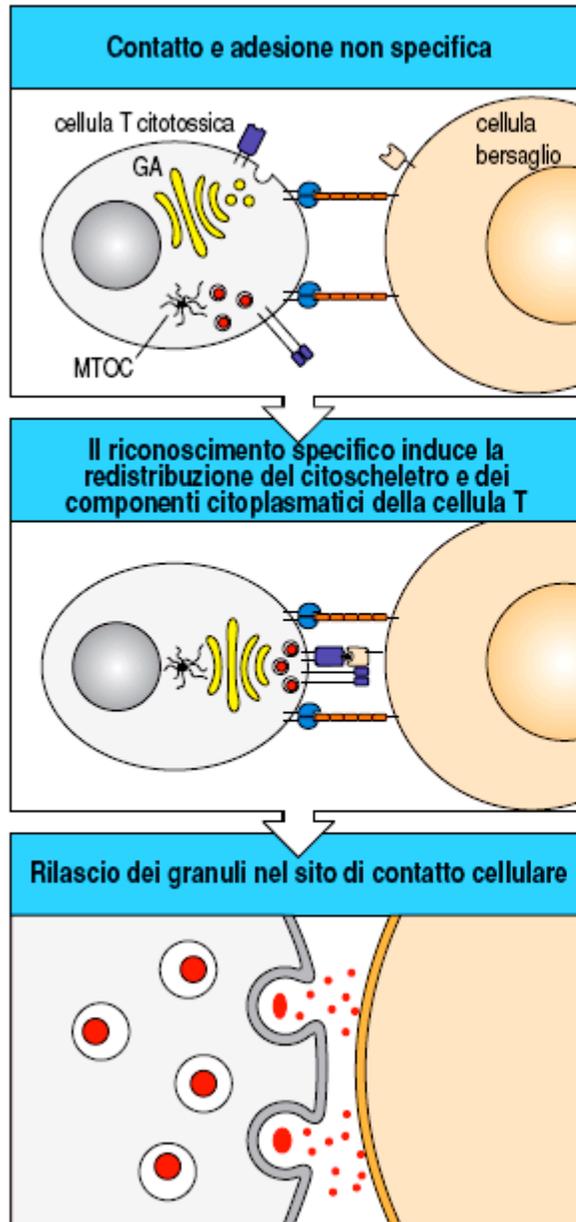
- Interazione tra il recettore Fas ed il ligando FasL





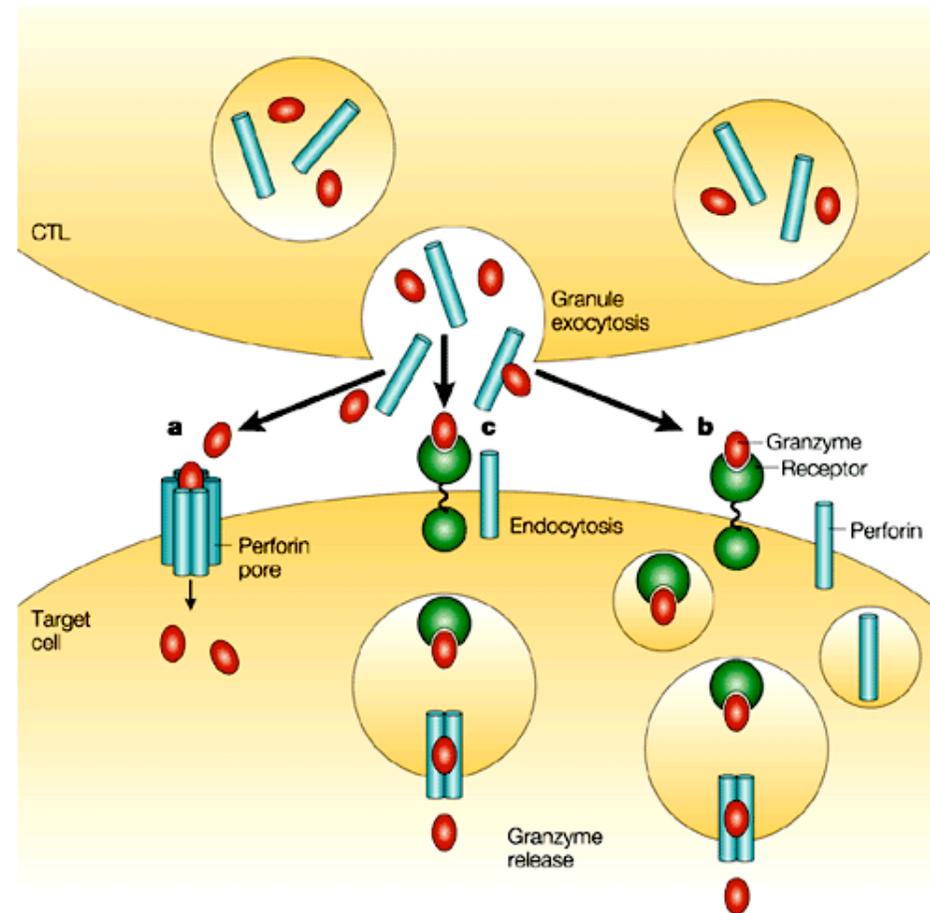
Molecole effettrici dei granuli litici

Proteine contenute nei granuli delle cellule T citotossiche	Azioni sul bersaglio
Perforina	Aiuta a rilasciare i contenuti dei granuli nel citoplasma delle cellule bersaglio
Granzime	Serina-proteasi che una volta penetrate nel citoplasma, attivano l'apoptosi
Granulolisina	Ha azioni antimicrobiche e può indurre l'apoptosi



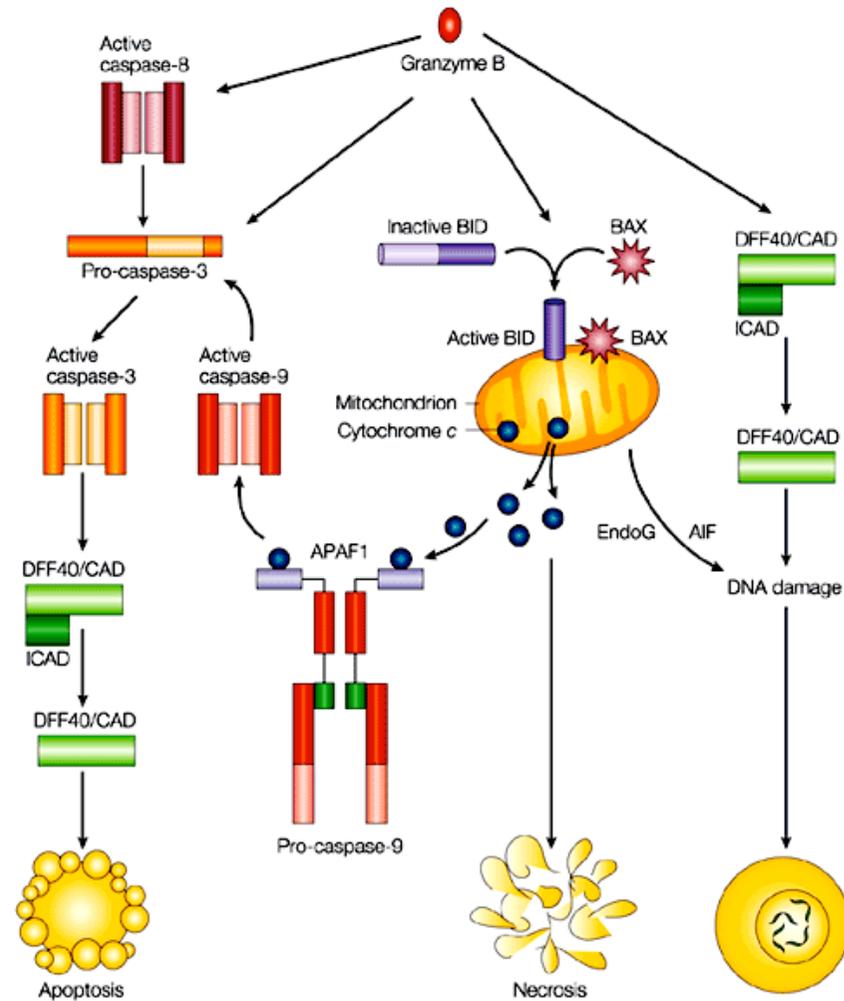
Ingresso dei Granzimi

- Canali di Perforina sulla membrana citoplasmatica
- Endocitosi mediata da recettore (mannosio-6-fosfato)

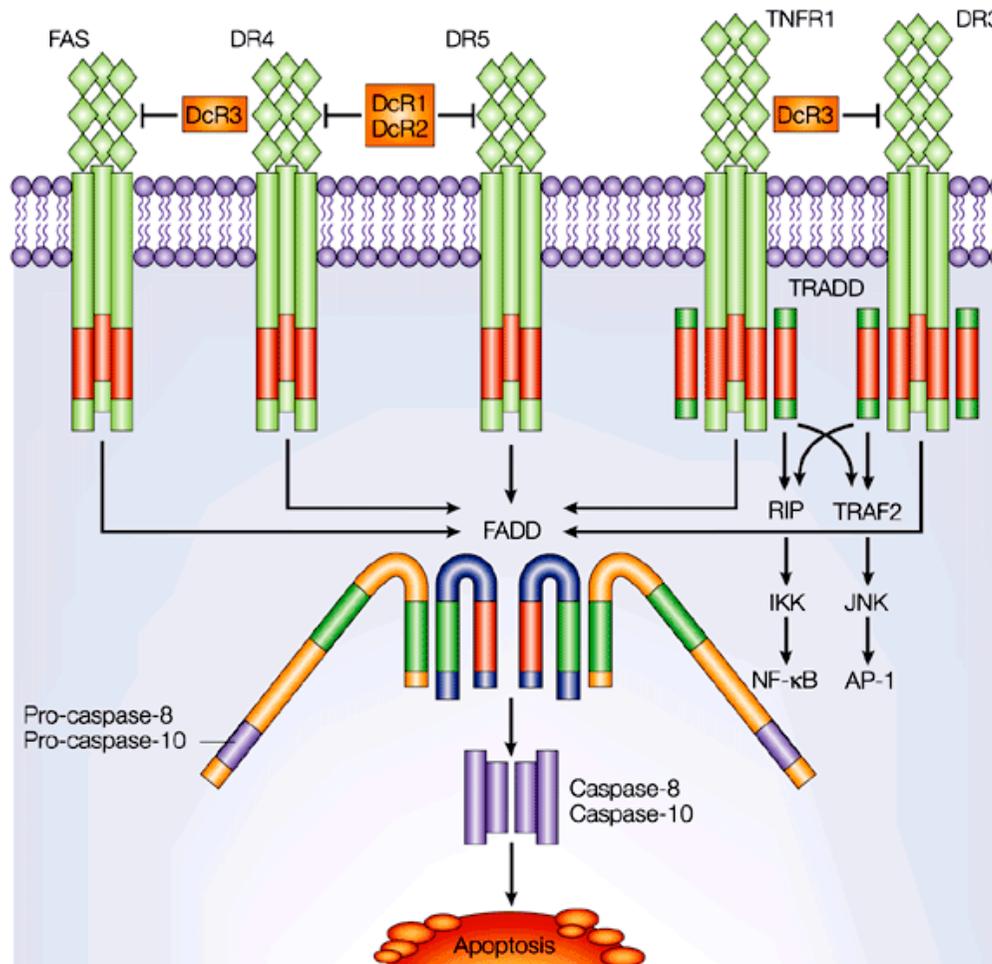


Azione dei Granzimi

- ✓ Attivazione della cascata di caspasi
- ✓ Attivazione danno mitocondriale
- ✓ Frammentazione del DNA

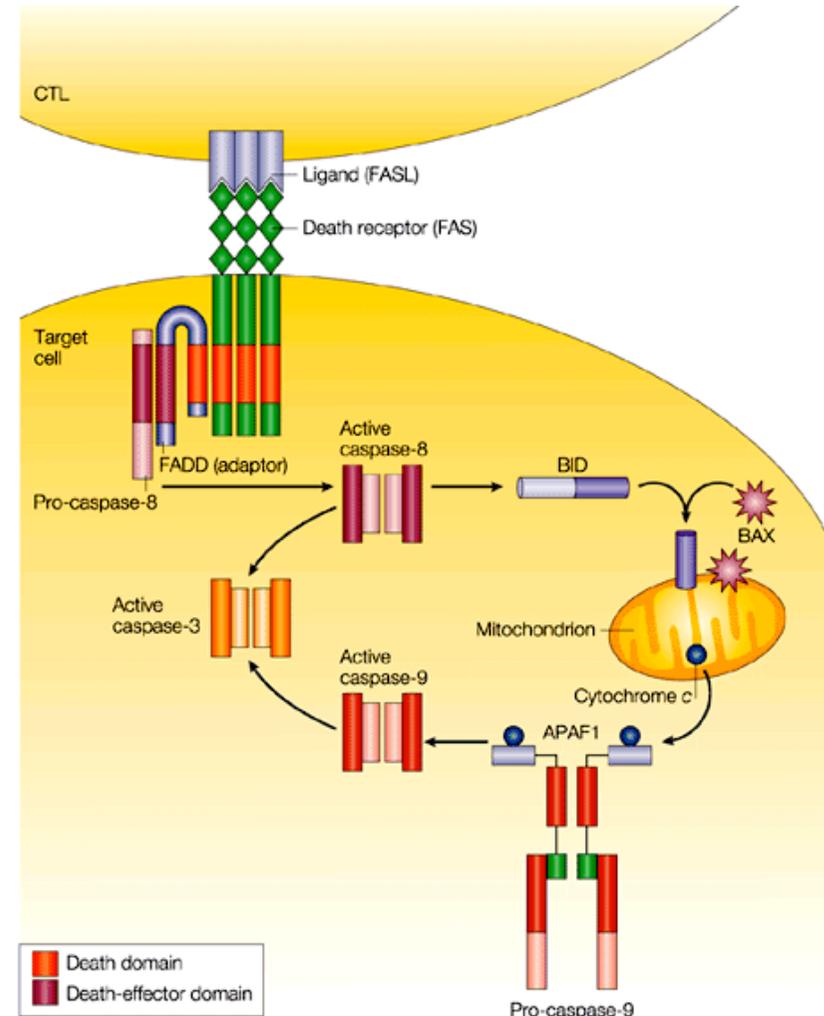


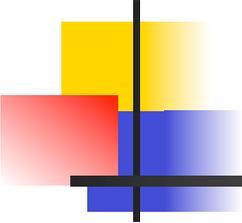
Famiglia dei Recettori di Morte



Apoptosi indotta dal legame Fas-FasL

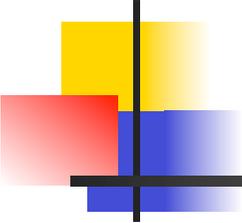
- ✓ Trimerizzazione Fas
- ✓ Attivazione Caspasi-8
- ✓ Danno mitocondriale
- ✓ Attivazione Caspasi-9
- ✓ Cascata Caspasi effettrici





Attacco e Difesa: Inibizione delle vie apoptotiche

- I virus e le cellule trasformate possono resistere all'azione dei CTL
- Il blocco dell'apoptosi permette di sfuggire al controllo del sistema immunitario
- Sopravvivenza e Proliferazione



Attacco e Difesa: Inibizione delle vie apoptotiche

- Attivazione Caspasi \Leftrightarrow Inibitori Caspasi
- Attivazione Granzimi \Leftrightarrow Inibitori Granzimi
- Danno mitocondriale \Leftrightarrow Proteine Bcl-2
- Modulazione dei meccanismi di regolazione:
 - Aumento delle proteine anti-apoptotiche
 - Riduzione delle proteine pro-apoptotiche
 - Mutazioni genetiche (p53, Bcl-2, etc.)

