

È nella fase iniziale della risposta all'antigene che viene deciso il destino funzionale di una cellula T CD4 naive. I meccanismi che controllano questa fase iniziale della differenziazione funzionale dei linfociti T non è ancora del tutto definita. Certamente svolgono un ruolo essenziale le citochine presenti nel microambiente linfatico in cui avviene il primo incontro con l'antigene. Se una cellula T CD4 incontra l'antigene in presenza di IL-12 e/o IFN- γ , essa diverrà preferenzialmente una cellula effettrice T helper di tipo 1 (Th1), mentre sarà contestualmente inibita la sua differenziazione in cellula effettrice T helper di tipo 2 (Th2). Poichè generalmente IL-12 ed IFN- γ sono prodotti da macrofagi e cellule NK attivati nelle prime fasi della risposta a patogeni intracellulari, si comprende perchè le risposte adottive verso tali patogeni siano dominate da meccanismi effettori messi in atto da cellule T CD4 di tipo Th1. Viceversa, uno stimolo antigenico che avvenga in assenza di IL-12 o di IFN- γ (o di IFN- α) consente alla cellula T naive di utilizzare la IL-4 prodotta in maniera autocrina dalle stesse cellule T naive per differenziare in un effettore Th2 produttore IL-4 ed IL-10. Queste due citochine peraltro svolgono un'azione inibitoria sulla differenziazione Th1, consentendo una polarizzazione della risposta adottiva in senso Th2. Altre possibili fonti di IL-4, indispensabile alla maturazione T in senso Th2, sono: a) le cellule T NK1.1, una piccola popolazione specializzata di cellule CD4 che riconoscono alcuni tipi di antigene presentati nel contesto di CD1 (e non del MHC) e b) cellule della linea mastocitario/basofila. Queste ultime tuttavia non sono presenti nei linfonodi e vengono solitamente attivate solo nelle risposte secondarie.

Le cellule effettrici CD4 Th1 e Th2 costituiscono due prototipi polarizzati e mutuamente esclusivi della risposta adottiva e presentano fra loro notevoli differenze funzionali (Fig. 2-13).

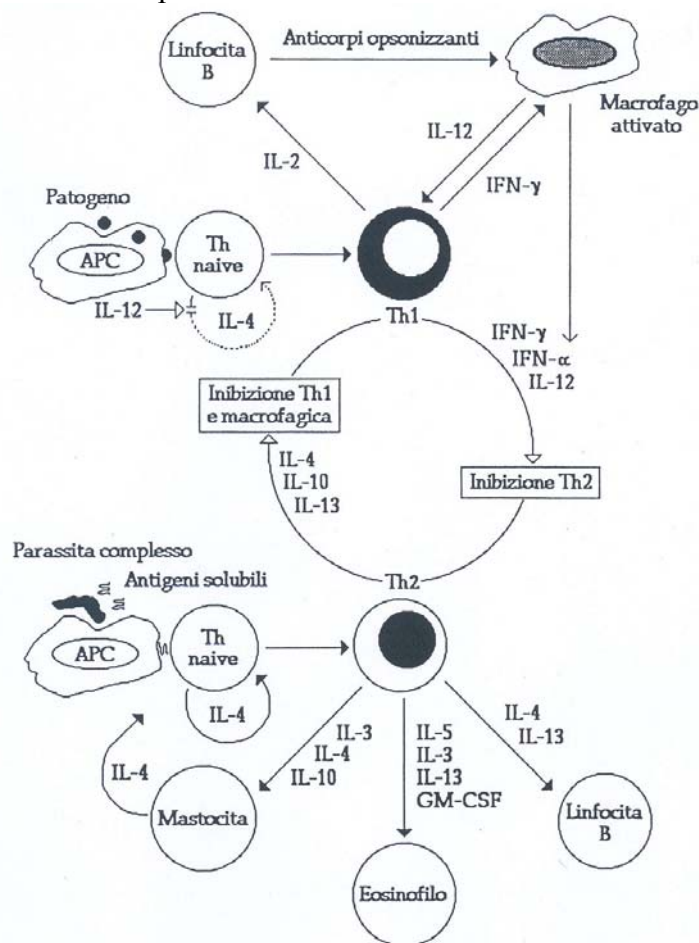


Fig. 2-13

Le cellule Th1, ma non le Th2, producono IFN- γ e TNF- α , mentre le cellule Th2, ma non le Th 1 producono IL-4 ed IL-5. Diversamente dal topo, nell'uomo la produzione di altre citochine appare meno polarizzata in senso qualitativo, pur essendovi delle differenze di tipo quantitativo fra i due prototipi. Ad esempio, la IL-2 è prodotta prevalentemente dai Th1, mentre la produzione di IL-3, IL-10 ed IL-13 è frequente ed abbondante nei Th2, ma molto meno nei Th 1.

La capacità di esprimere un diverso profilo citochinico implica l'espressione di funzioni diverse. Le cellule Th1 sono in grado di attivare in modo massimale i monociti/macrofagi coinvolgendoli nei cosiddetti "fenomeni di ipersensibilità ritardata", nonché di indurre in tali cellule l'espressione di attività pro-coagulante e produzione di fattore tissutale in grado di iniziare nel microambiente capillare la cascata coagulativa fino alla deposizione di fibrina ed alla microtrombosi (**Tab. 2-14 e 2-15**).

I linfociti Th1 inoltre inducono i linfociti B a produrre preferenzialmente anticorpi opsonizzanti e fissanti il complemento. Per contro, le cellule Th2 sono in grado di svolgere una maggiore attività di supporto alla sintesi di immunoglobuline (Ig), inducendo anche risposte di classe IgE ed IgG4; sono in grado di interagire con mastociti e granulociti eosinofili, di cui guidano la maturazione, la differenziazione, l'attivazione, supportandone peraltro una prolungata sopravvivenza. Le cellule Th2 svolgono inoltre un' azione inibitoria sull'attivazione macrofagica indotta dalle cellule Th 1 e mediante la IL-10 inibiscono la produzione di IL-12.

I prototipi Th1 e Th2 si distinguono anche per la diversa attività citotossica e per le modalità di espressione dell'attività helper per la risposta umorale. Mentre le cellule Th2, generalmente prive di attività citotossica, esprimono una incondizionata attività helper per la sintesi di tutte le classi Ig, le cellule Th1, generalmente dotate di potenziale citotossico, svolgono un'attività helper per le maggiori classi Ig, ma non per le IgE a causa della loro produzione di IFN- γ (inibitorio sullo "switch" a C ϵ) e della mancata produzione di IL-4 (essenziale per lo "switch" a C ϵ). Inoltre la co-espressione da parte dei Th 1 di attività helper e citotossica fa sì che in certe condizioni la seconda prevalga sulla prima, con riduzione della risposta umorale. Questo, che si configura come un meccanismo di autocontrollo della funzione helper per la risposta Ig, è dovuto al fatto che le cellule Th1 potenzialmente citotossiche, attivate dal riconoscimento dell'antigene presentato dai linfociti B, possono sia lisare i linfociti B mediante perforine e granzymes, sia esprimere in membrana il ligando di Fas che, interagendo con la molecola Fas espressa dai linfociti B attivati, trasferisce ad essi un segnale di morte programmata (apoptosi).

Attività helper delle cellule effettrici CD4 Th1 nei confronti dei macrofagi

Segnali molecolari	Effetti sui macrofagi
IFN- γ	- Produzione di IL-12 ed IFN- α con ulteriore polarizzazione della risposta Th1
IFN- γ + CD40L	- Attivazione dei meccanismi di lisi dei prodotti fagocitati - Produzione di fattore tissutale, avvio della cascata coagulativa, trombosi microvascolare
Fas ligando	- Apoptosi in caso di fagocitosi inefficace
TNF- α + TNF- β	- Produzione di radicali di O $_2$ e di NO, - Espressione di ligandi per molecole di adesione espresse dall'endotelio
IL-3 + GM-CSF	- Accelerata maturazione ed attivazione
Chemochine	- Estravasazione guidata da chemiotassi

Tab. 2-14

È opportuno sottolineare che la maggior parte delle risposte adottive non dà luogo a meccanismi polarizzati in senso Th1 o Th2, ma piuttosto si esprime attraverso la differenziazione T in una cellula effettrice che assomma in diversa misura le caratteristiche di entrambi i prototipi. Tali cellule T CD4 sono state definite Th0 (**Tab. 2-15**) sia perchè hanno un profilo citochino-funzionale misto dipendente dai rapporti quantitativi fra le varie citochine prodotte, sia perchè verosimilmente rappresentano uno stadio differenziativo immediato precedente quello terminale e polarizzato in senso Th1 o Th2. Dopo attivazione e conseguente secrezione di citochine, le cellule effettrici Th0 esprimono alcuni marcatori di membrana quali ad esempio CD30 (indotto da IL-4) ed il "Lymphocyte Activation Gene (LAG)-3" (indotto da IFN- γ), le cui forme troncate possono peraltro venire secrete in forma solubile. La polarizzazione in senso Th1 o Th2 condiziona anche l'espressione di tali marcatori, consentendo l'associazione di CD30 con la secrezione di citochine Th2 e di LAG-3 con quella di citochine Th1. Lo stesso avviene per quanto concerne l'espressione dei recettori per alcune chemochine (vedi "Citochine e Chemochine") e questo può contribuire all'asprata dicotomia Th1 o Th2 osservabile in alcuni distretti durante alcune risposte adottive (od immunopatologiche).

Oltre al tipo di citochine presenti al momento del primo riconoscimento dell'antigene da parte del linfocita T naive, altri fattori sembrano influenzare il destino della differenziazione T. Un certo ruolo svolto dal **tipo di APC** (cellula dendritica, cellula di Langerhans, macrofago, linfocita B) che la cellula T naive incontra in relazione alle modalità della sua successiva differenziazione in cellula T effettrice.

Caratteristiche fenotipiche e funzionali delle cellule CD4 Th1, Th2 e Th0			
Funzione	Th1	Th0	Th2
Produzione di citochine			
IFN- γ	+++	++	-
TNF- β	+++	++	-
IL-2	+++	+++	+
TNF- α	+++	++	+
TGF- β	++	++	++
GM-CSF	++	++	+++
IL-3	++	++	+++
IL-6	+	++	+++
IL-13	+	++	+++
IL-10	+/-	++	+++
IL-4	-	++	+++
IL-5	-	++	+++
Attività citotossica	+++	++	-
Attività helper per la sintesi di			
IgM, IgG, IgA	+/-	++	+++
IgE	-	+/-	+++
Interazione con i monociti per			
Attività procoagulante (PCA)	+++	++	-
Sintesi di fattore tissutale	+++	++	-
Reazioni DTH	+++	++	-
Inibizione di PCA e DTH	-	+/-	+++
Marcatori di attivazione			
LAG-3	+++	++	-
CD30	-	++	+++

IFN: Interferone; TNF: Tumor Necrosis Factor; GM-CSF: Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor; DTH: reazione di ipersensibilità di tipo ritardato; LAG: lymphocyte activation gene.

Tab. 2-15

Anche la **via di ingresso dell'antigene** può influenzare lo sviluppo preferenziale di risposte Th1 (ad es. via parenterale) o Th2 (ad es. attraverso le mucose). In alcuni modelli, un certo ruolo viene attribuito ad alcuni **segnali ormonali**. Mentre i glucorticoidi sembrano promuovere la

produzione di IL-4 e di alcune risposte Th2, altri ormoni steroidei (ad es. il deidroepiandrosterone) sembrano potenziare le risposte Th1. L'esempio più convincente è quello offerto dal progesterone, che in vitro promuove preferenzialmente risposte Th2 ed incrementa l'espressione di IL-4 e CD30. Una simile azione in vivo può rendere ragione del perché durante la gravidanza all'interfaccia materno fetale non avvenga una reazione di rigetto Th1-mediata nei confronti del feto, paragonabile ad un trapianto isto-incompatibile al 50% nei confronti del suo ospite.

Altri due fattori che possono influenzare la differenziazione T in distinte popolazioni di cellule effettrici sono **la natura e la quantità dell'antigene**. Grandi quantità di peptidi che possono venire presentati con alta densità tendono ad indurre risposte Th1, mentre la presentazione di peptidi a bassa densità tende a favorire risposte Th2. Peptidi antigenici che interagiscono molto bene con il TCR del linfocita T naive tendono a favorire risposte Th1, mentre peptidi che legano debolmente il TCR più facilmente inducono risposte Th2. La maggior parte degli antigeni proteici (che evocano la risposta dei linfociti T CD4) solitamente induce risposte miste coinvolgenti cellule Th 1, Th0 e Th2 in quanto le molteplici sequenze peptidiche risultanti dalla processazione hanno diversa affinità con le molecole MHC che le presentano e quindi raggiungono diversi livelli di densità al momento dell'interazione con il TCR. È stato dimostrato che nella stessa proteina alcuni peptidi evocano una risposta Th1, mentre altri evocano una risposta Th2. Questa diversità può essere il risultato di un fenomeno di adattamento della risposta ai diversi patogeni. Le cellule Th2 sono molto importanti nella realizzazione di un'efficace e rapida risposta umorale nei confronti di patogeni extracellulari con alto ritmo replicativo, marcata invasività ed eventuale capacità di liberare esotossine. Una volta fagocitati, tali patogeni non possono più replicare all'interno dell'APC ed i loro antigeni vengono presentati con relativa bassa densità. Al contrario le cellule Th1 sono più adatte a fronteggiare infezioni da patogeni intracellulari, in cui è essenziale l'eliminazione della cellula infettata o l'attivazione massimale delle capacità battericide del macrofago che ospita il patogeno.

Una volta trascorso un periodo di 4-5 giorni necessario all'attivazione del linfocita T naive, questo, divenuto cellula effettrice, perde l'espressione di L-selectine che lo ancorano nel linfonodo ed acquisisce delle integrine che gli permettono, una volta divenuto ricircolante, di aderire alle molecole di adesione espresse dalle cellule endoteliali del distretto tessutale periferico sede dell'infezione. La migrazione in periferia è una funzione importante per le cellule T effettrici citotossiche CD8 o CD4 Th1 in quanto esse debbono andare ad attivare i macrofagi nella sede di flogosi. La principale funzione effettrice delle cellule Th2 è invece interagire con i linfociti B nell'ambito del tessuto linfatico, inducendoli alla proliferazione, alla formazione dei centri germinativi e da ultimo alla differenziazione in plasmacellule. La quota di anticorpi prodotta dalle prime plasmacellule, oltre che fornire supporto specifico al meccanismo difensivo, serve anche ad intrappolare l'antigene nel tessuto linfatico in forma di immunocomplessi legati alla superficie delle cellule dendritiche follicolari. Questo contribuisce al fenomeno della selezione dei linfociti B, favorendo l'espansione dei cloni che per mutazione ipersomatica hanno espresso un recettore Ig ad affinità sempre maggiore. La maggior parte delle plasmacellule ha una vita media di 2-3 giorni, poi va incontro ad apoptosi. Alcuni linfociti B attivati e divenuti plasmoblasti lasciano i centri germinativi e migrano in periferia (midollo, cute, mucose) dove maturano in plasmacellule a lunga vita.

Numerose osservazioni in corso di malattie infettive umane ed in modelli sperimentali hanno consentito di definire nell'ambito della generale complessità delle risposte immuni il contributo specifico che l'attivazione preferenziale di ciascuno dei due meccanismi di risposta, rispettivamente Th1 e Th2, sembra offrire nei confronti di un'ampia serie di agenti patogeni. Una diversificazione funzionale in rapporto al profilo delle citochine prodotte è presente anche nell'ambito delle cellule T CD8⁺. In analogia con la classificazione delle cellule CD4, i linfociti T citotossici (Tc) sono stati codicati come Tc1, Tc0 o Tc2 sulla base del loro profilo citochinico.