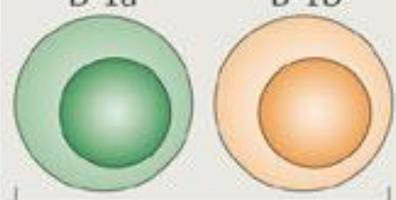
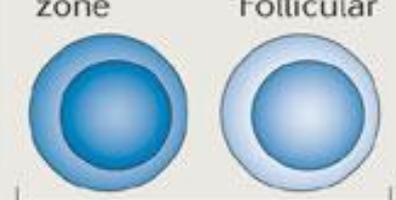


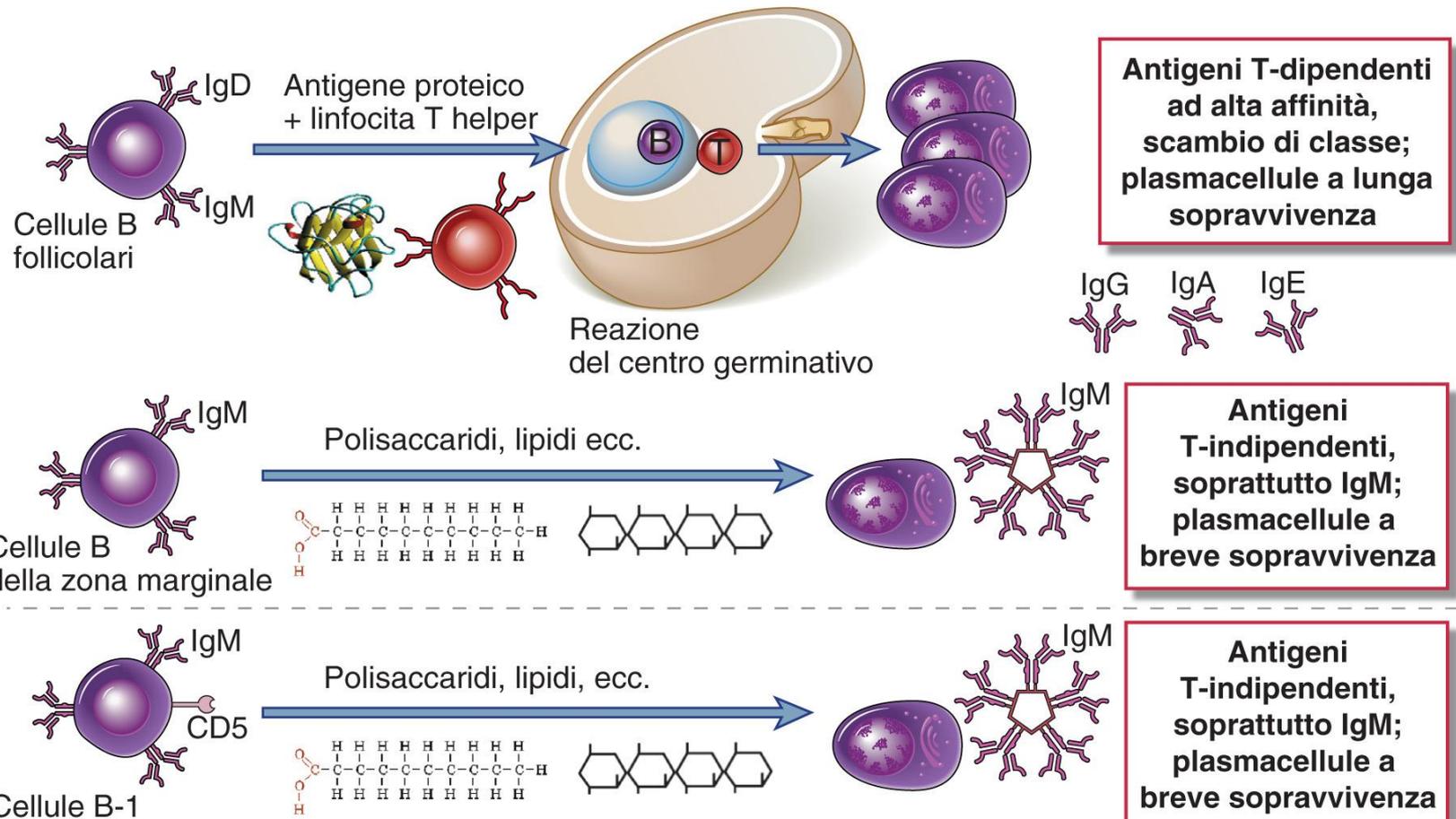
ATTIVAZIONE

LINFOCITI B

Sottopopolazioni di linfociti B

Cell surface phenotype	<p>CD5⁺ CD19^{hi} CD1d^{mid}</p> <p>CD23⁻ CD43⁺ IgM^{hi} IgD^{low}</p>	<p>CD5⁻ CD19^{hi} CD1d^{mid}</p> <p>CD23⁻ CD43⁺ IgM^{hi} IgD^{low}</p>	<p>CD5⁻ CD19^{mid} CD1d^{hi} CD21^{hi}</p> <p>CD23⁻ CD43⁻ IgM^{hi} IgD^{low}</p>	<p>CD5⁻ CD19^{mid} CD1d^{mid}</p> <p>CD23⁺ CD43⁻ IgM^{low} IgD^{hi}</p>	<p>CD5⁺ CD19^{hi} CD1d^{hi} CD21^{hi/mid}</p> <p>CD23^{+/-} CD43⁻ IgM^{hi} IgD^{low/mid}</p>
Frequency in total splenic B cell population	2%	<1%	15%	>70%	1%
	<p>B-1a B-1b</p>  <p>B-1 cells</p>	<p>Marginal zone Follicular</p>  <p>B-2 cells</p>	<p>Regulatory B cell</p>  <p>Relationship to B-1 and B-2 cells unclear</p>		

Sottopopolazioni di linfociti B



Milza,
altri organi
linfoidi

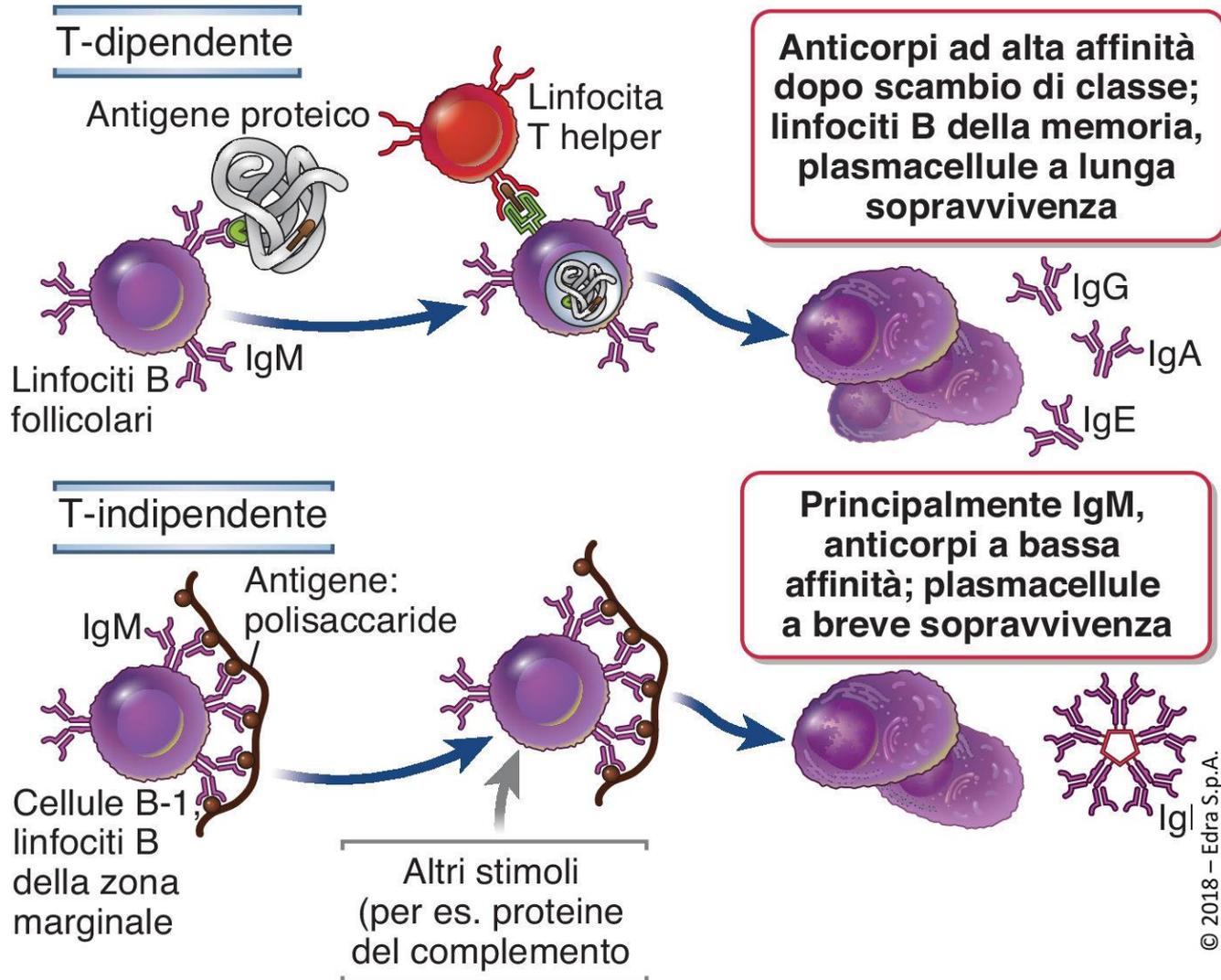
Tessuti
mucosi,
cavità
peritoneale

Antigeni T-dipendenti
ad alta affinità,
scambio di classe;
plasmacellule a lunga
sopravvivenza

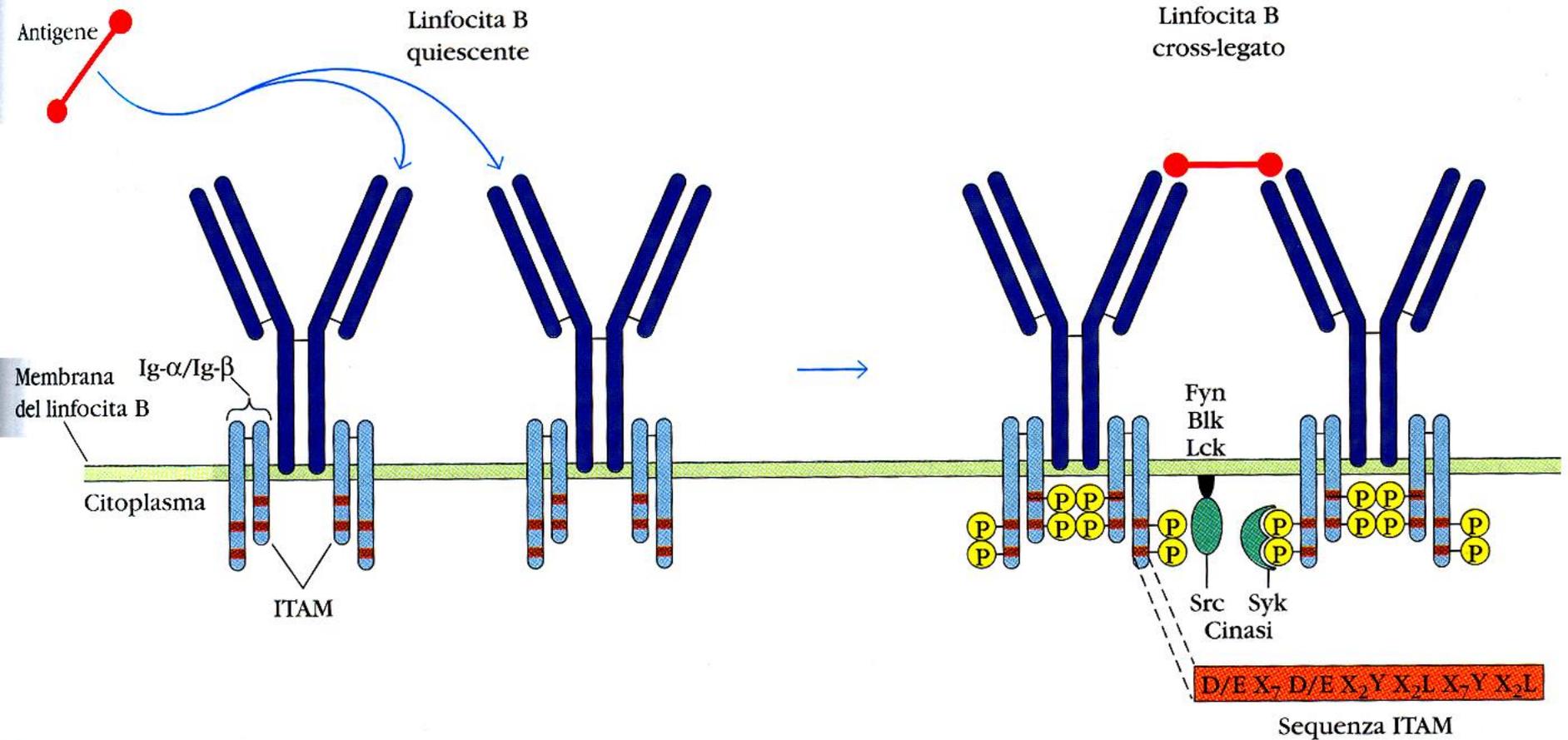
Antigeni
T-indipendenti,
soprattutto IgM;
plasmacellule a
breve sopravvivenza

Antigeni
T-indipendenti,
soprattutto IgM;
plasmacellule a
breve sopravvivenza

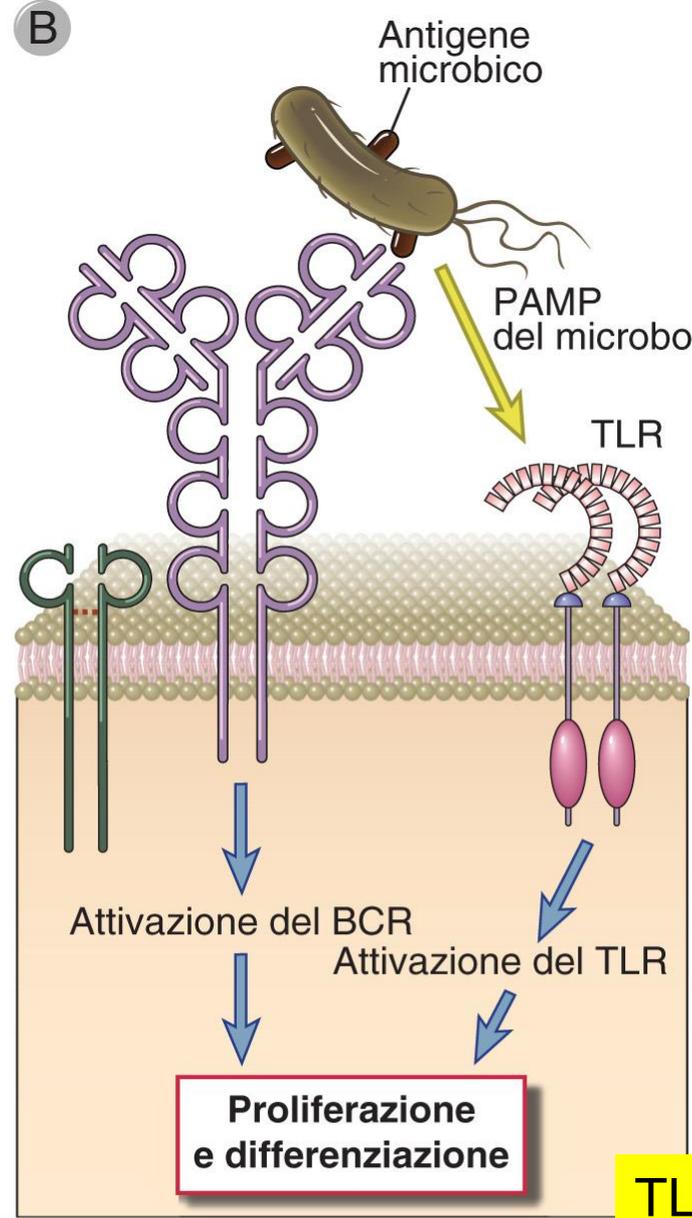
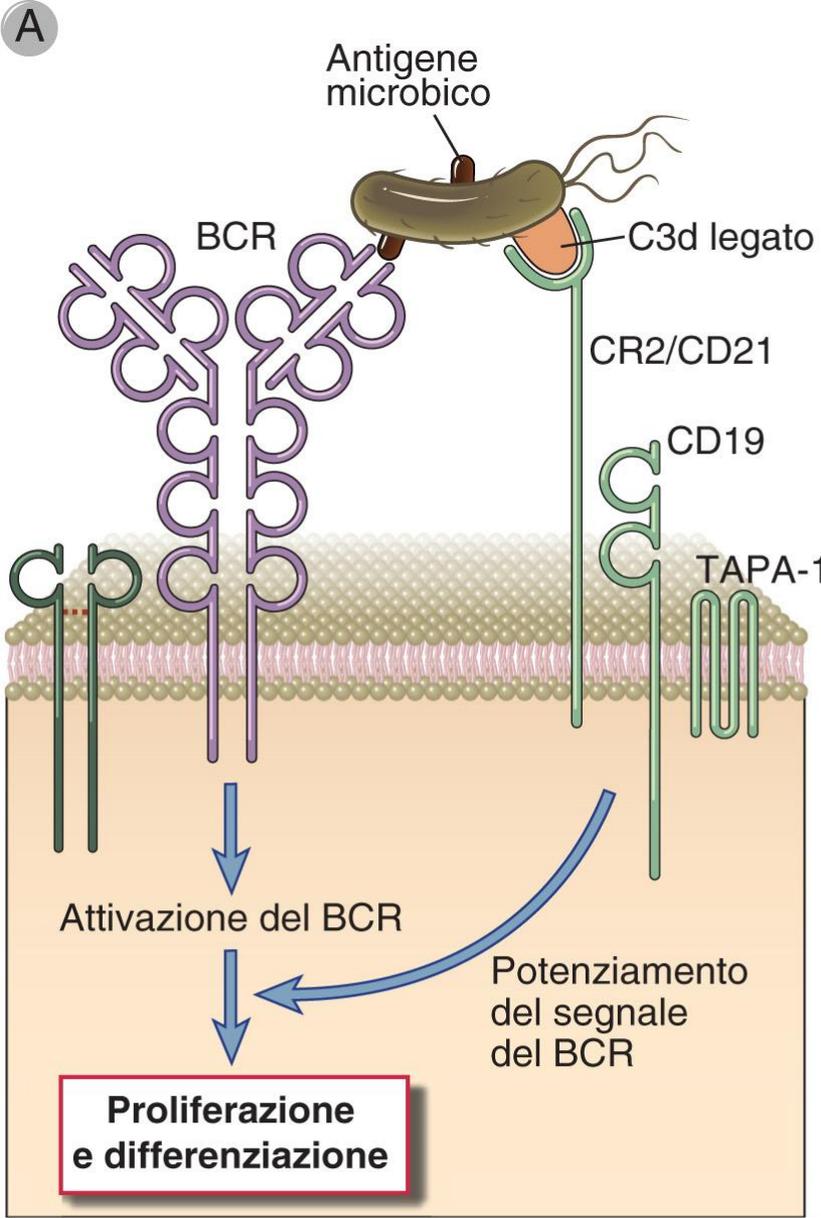
Risposte T dipendenti e T indipendenti



Cross-linking del BCR



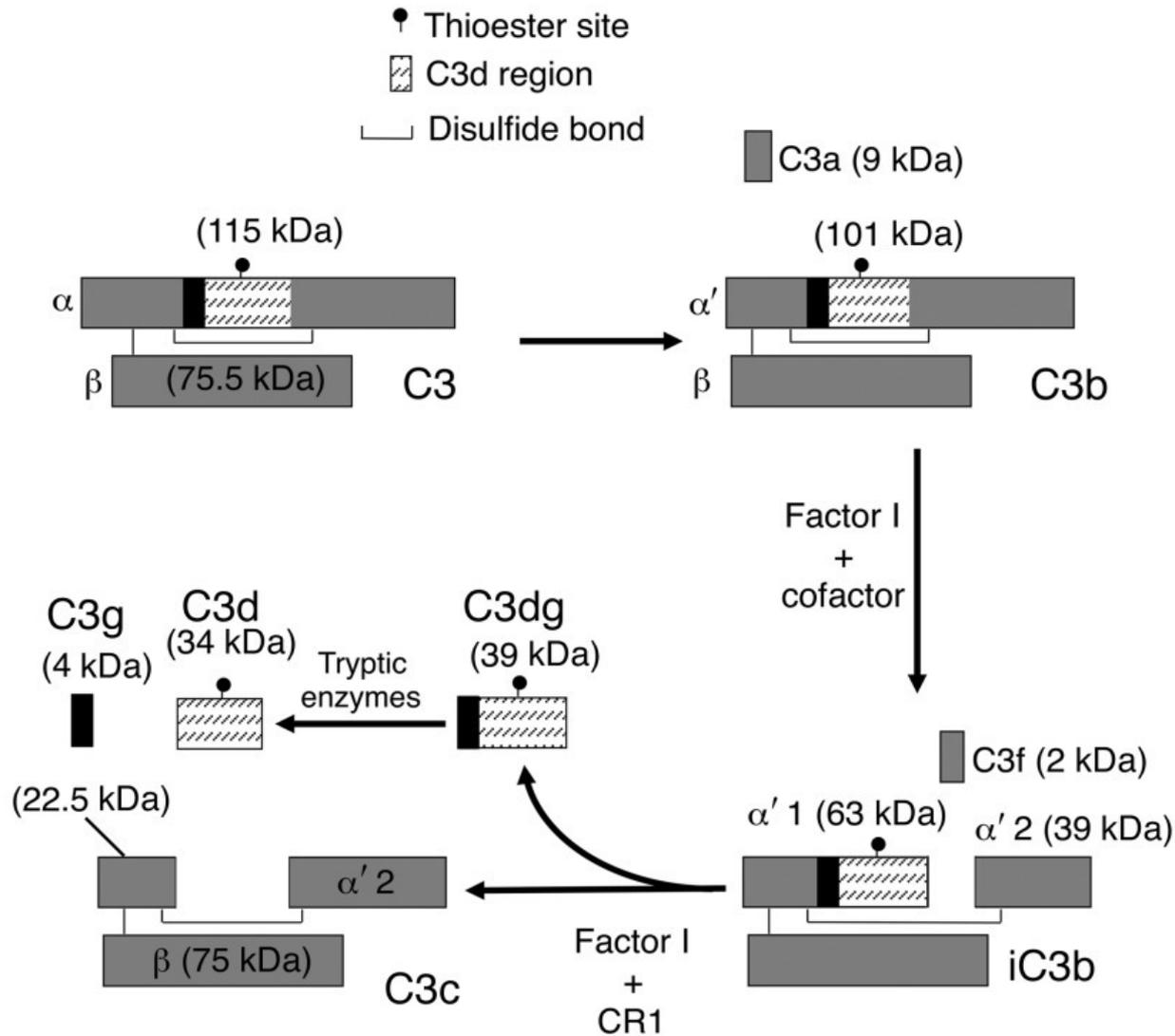
Ag multivalenti o polivalenti



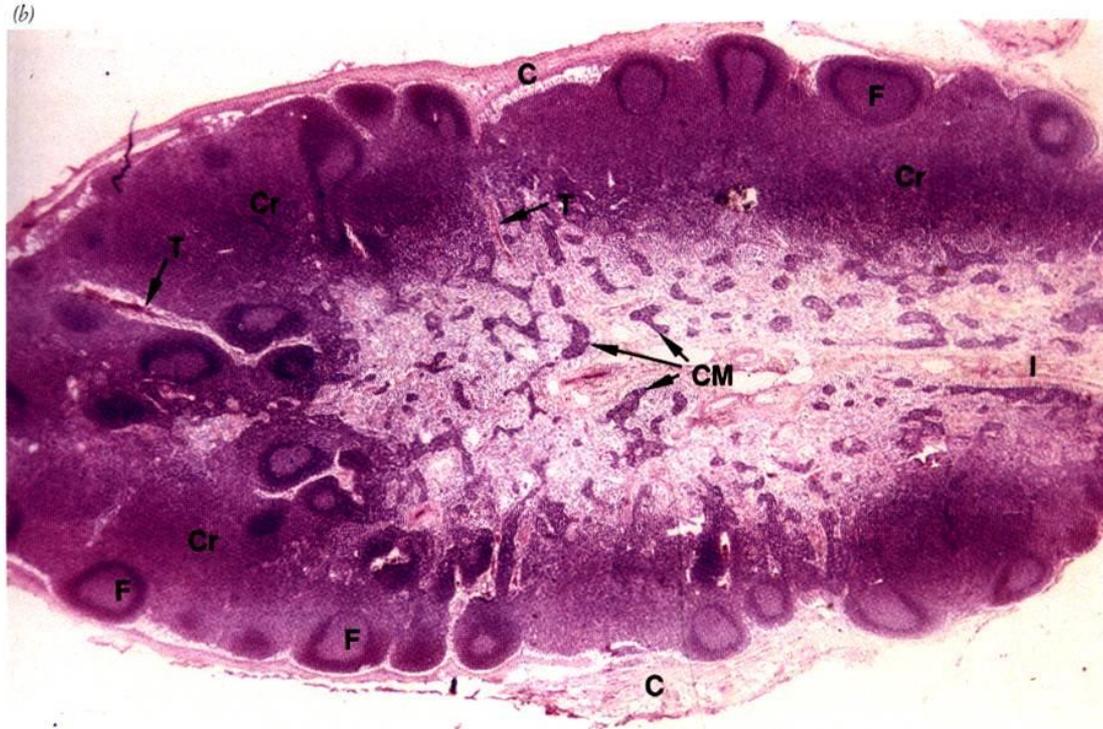
TLR5 (flagellina)

TLR7 (ssRNA)

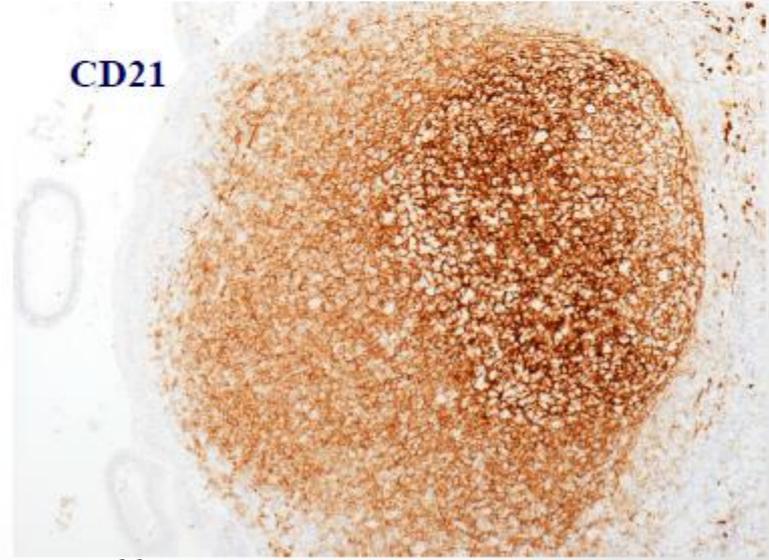
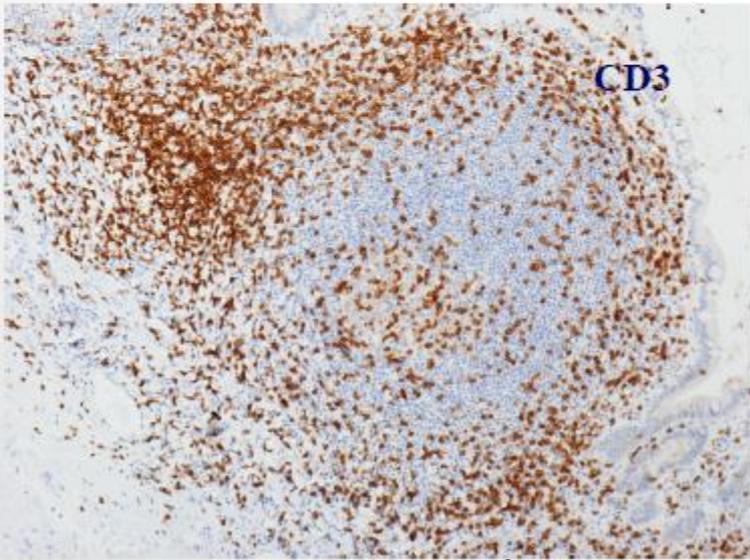
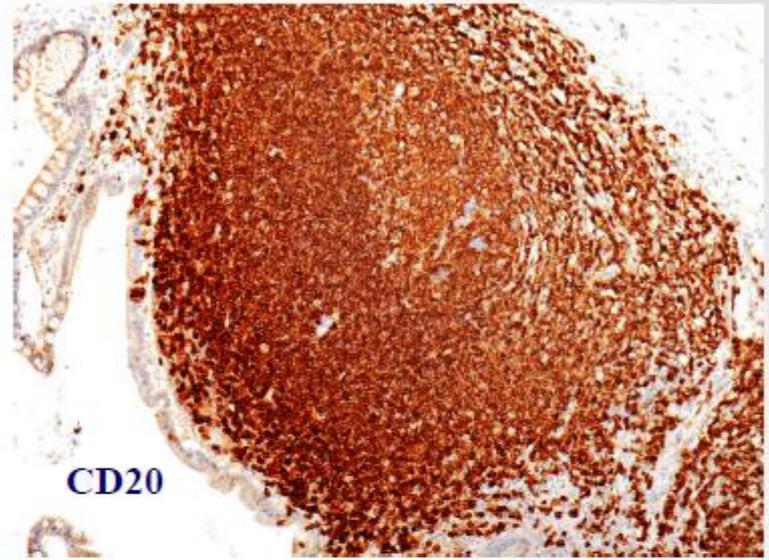
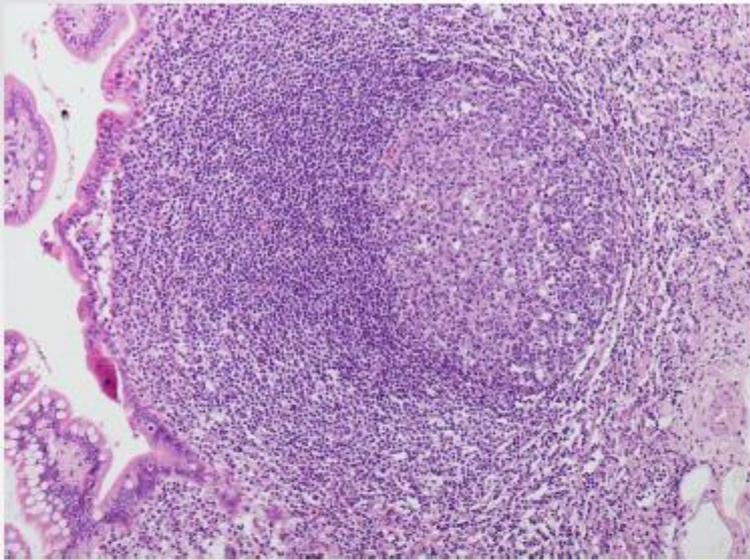
TLR9 (CpG DNA)



I B follicolari e la risposta agli antigeni T dipendenti

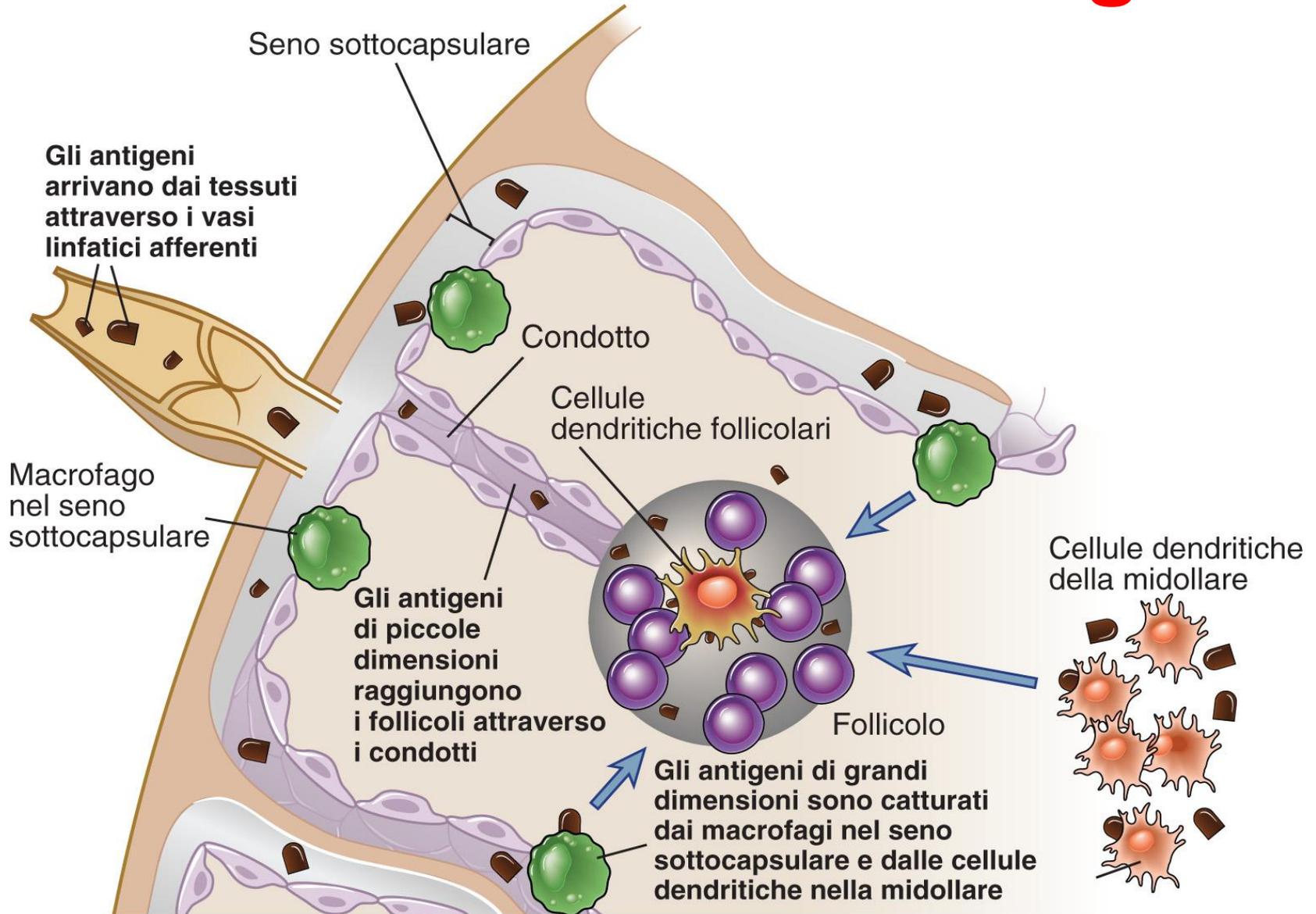


I B follicolari raggiungono il follicolo grazie al recettore CXCR5 che lega CXCL13 prodotta principalmente dalle cellule dendritiche follicolari



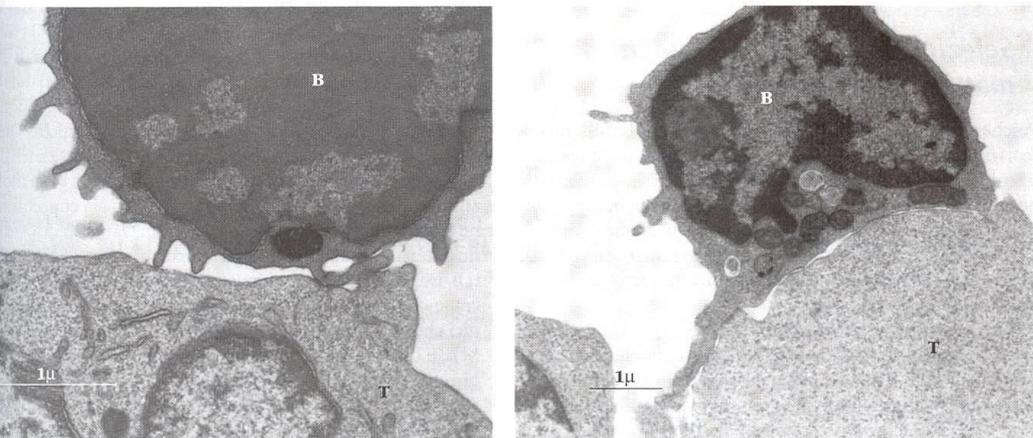
CR2 is present on all mature B-cells and follicular dendritic cells (FDCs)

Caratteristiche dell'Ag



Risposte anticorpali agli Ag proteici

Le risposte anticorpali agli **antigeni proteici** richiedono il riconoscimento e il **processamento dell'Ag** da parte dei linfociti B

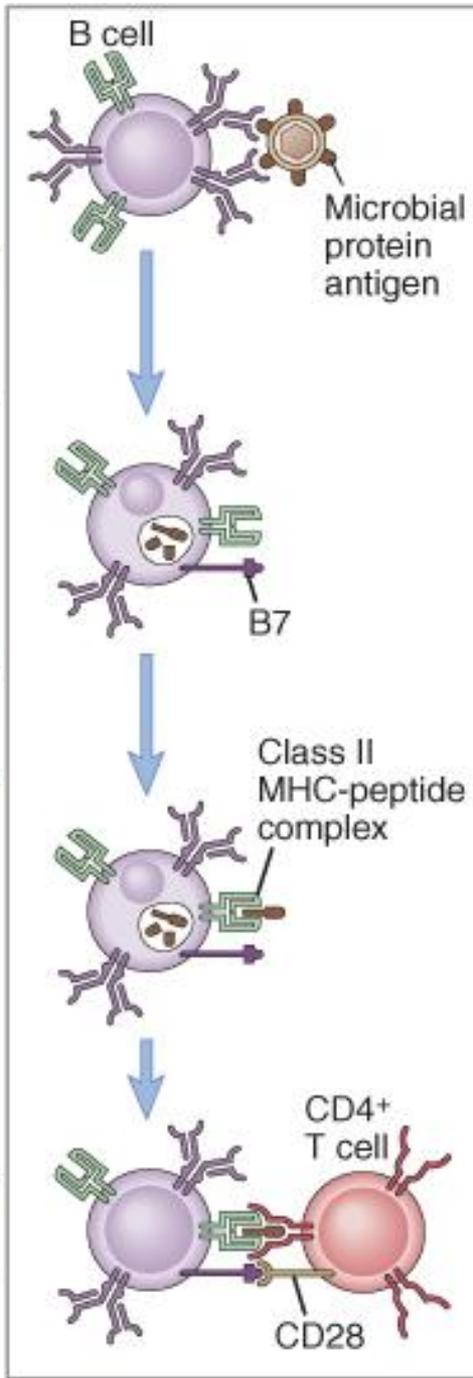


URA 11-11 Fotografia al microscopio elettronico a trasmissione del contatto iniziale tra un linfocita T e un linfocita B (sinistra) e di un coniugato T-B (destra). Notare l'estesa area di contatto tra le membrane delle due cellule dopo la formazione del coniugato. Il trattino = 1µm. [Da V. M. Sanders et al., 1986, *J. Immunol.* 137:2395.]

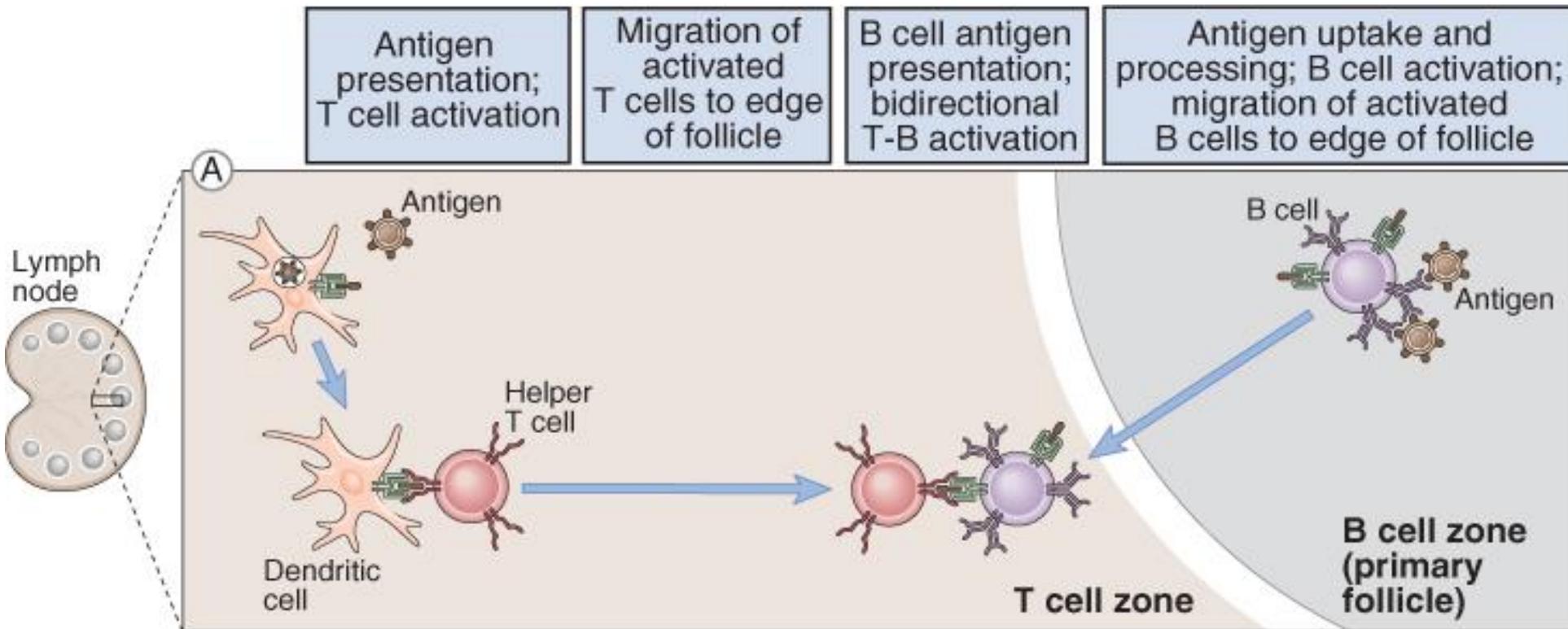
Receptor-mediated endocytosis of antigen

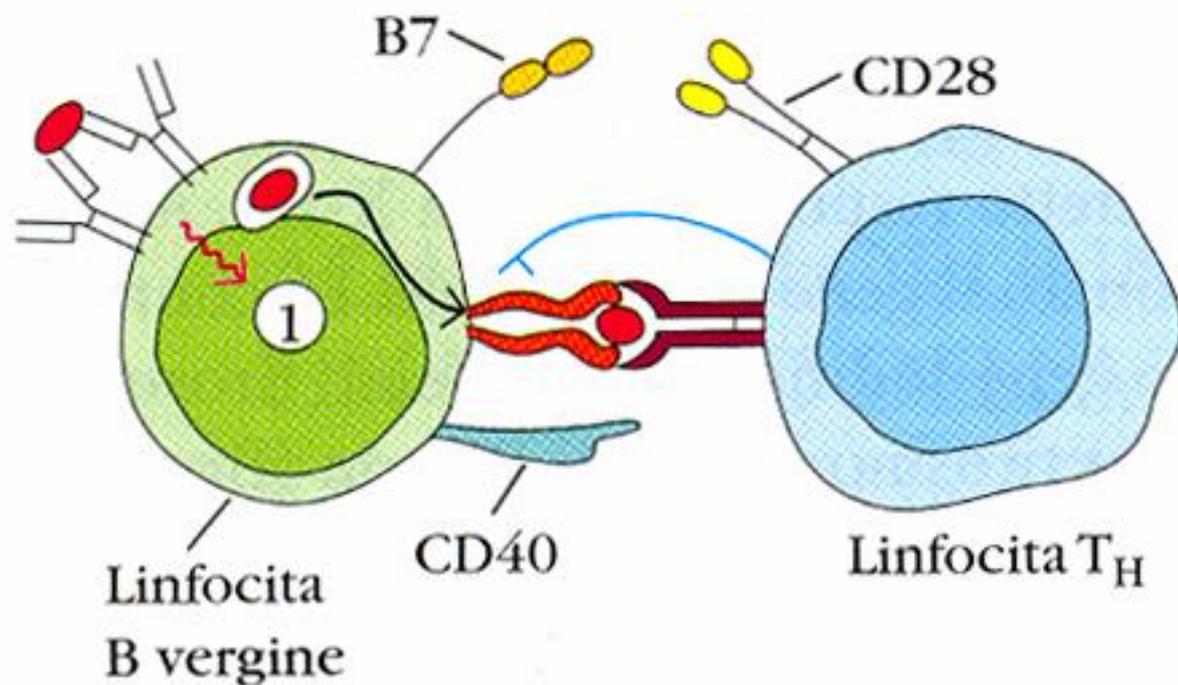
Antigen processing and presentation

T cell recognition of antigen



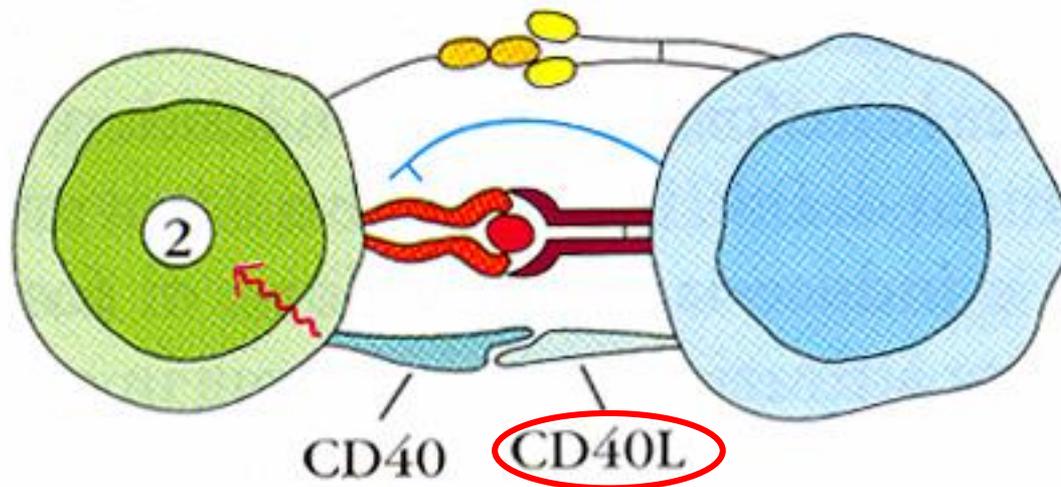
Cooperazione T-B





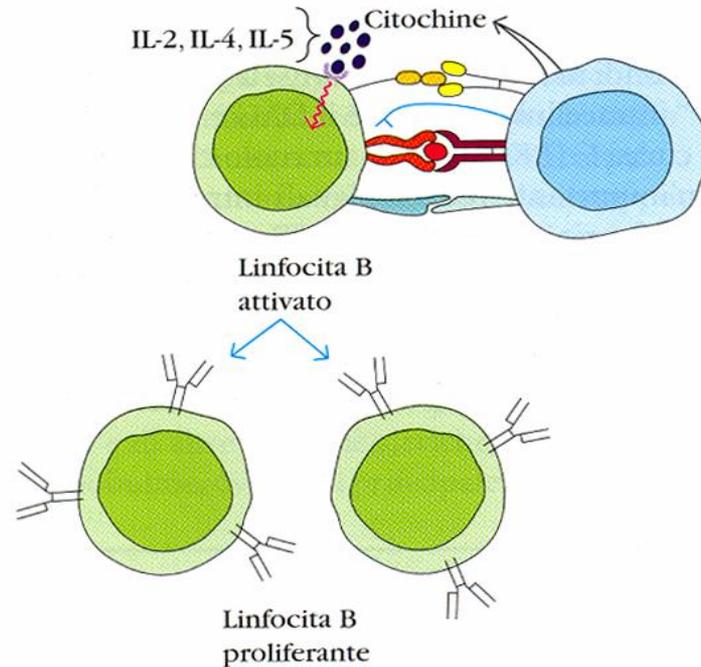
- (a) 1. Il cross-legame delle mIg da parte dell'antigene innesca il segnale ①, che induce il linfocita B ad aumentare l'espressione di MHC di classe II e della molecola costimolatoria B7.
2. Il linfocita T_H riconosce il complesso antigene-MHC di classe II sulla membrana del linfocita B. Questo ulteriore segnale costimolatorio attiva il linfocita T_H .

Co-operazione T-B: meccanismi molecolari



- (b) 1. Una volta attivato, il linfocita T_H esprime CD40L.
2. L'interazione tra CD40 e CD40L trasmette il segnale ②.
3. L'interazione B7-CD28 trasmette un segnale costimolatorio al linfocita T_H.

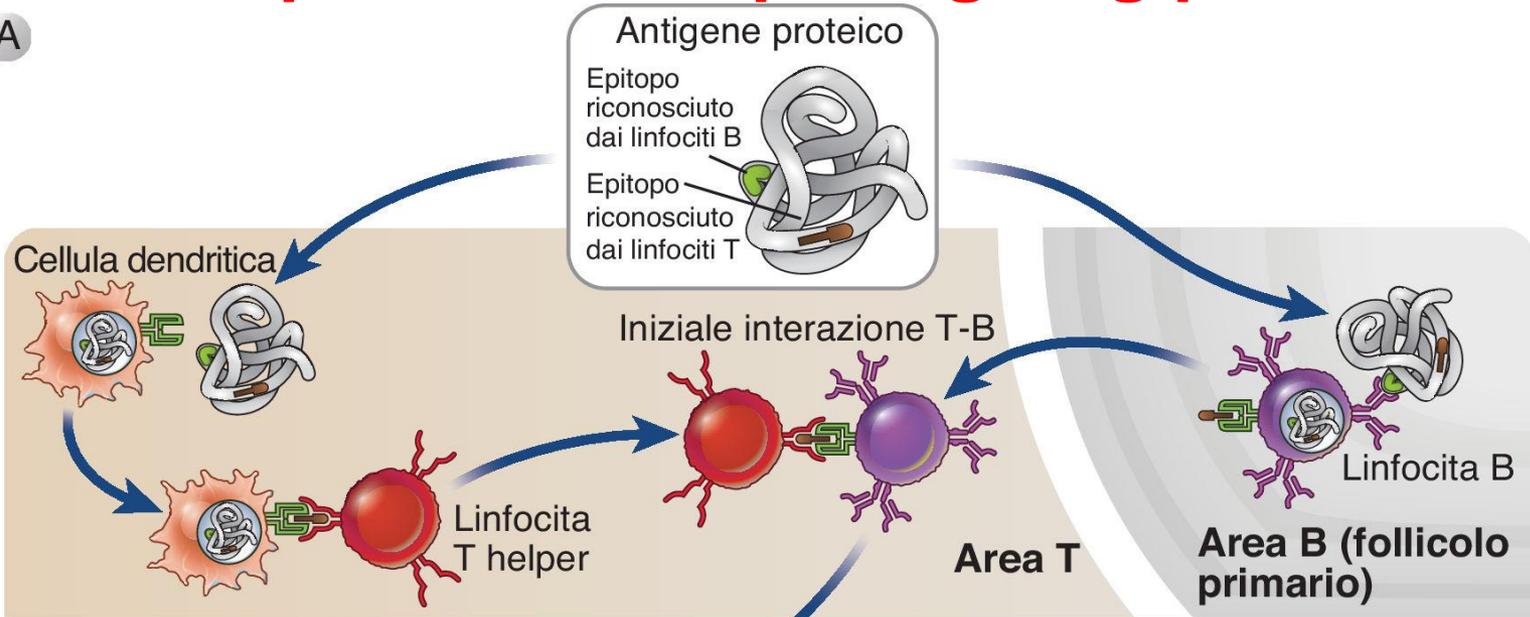
Co-operazione T-B



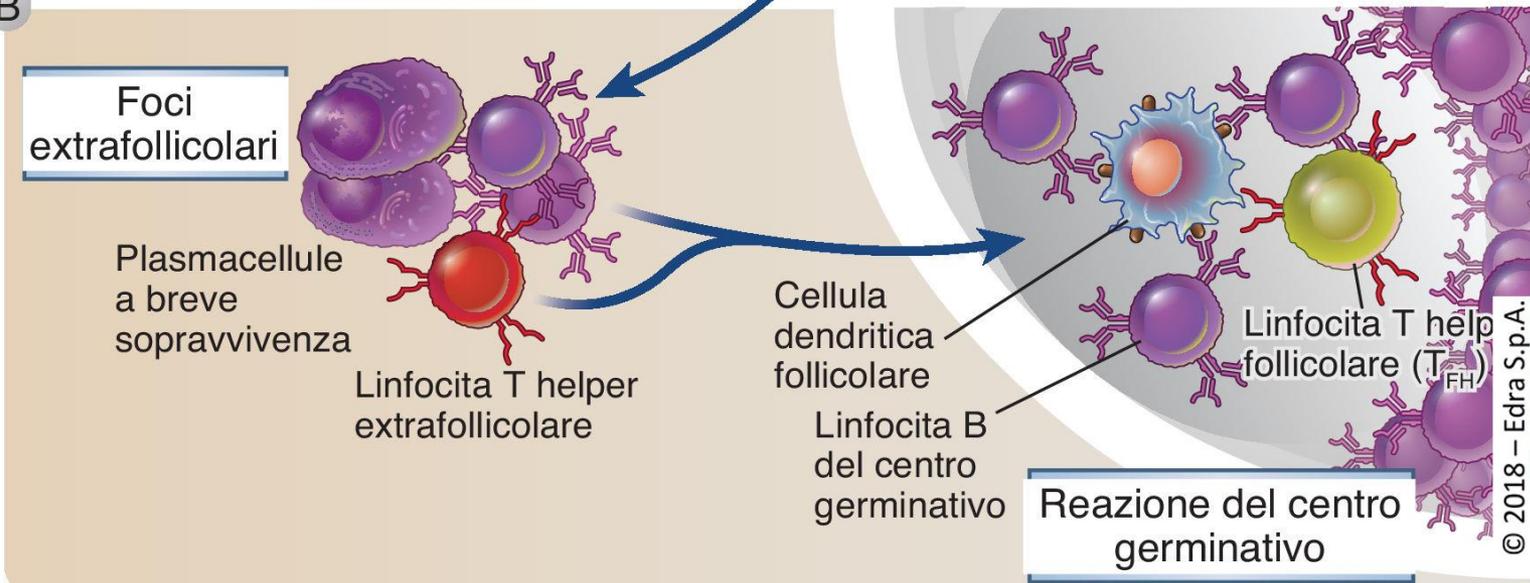
- (c) 1. Il linfocita B comincia a esprimere recettori per varie citochine.
2. Il legame delle citochine secrete in modo direzionale dal linfocita T_H trasmette segnali che sostengono la progressione del linfocita B verso la sintesi di DNA.

Risposte anticorpali agli Ag proteici

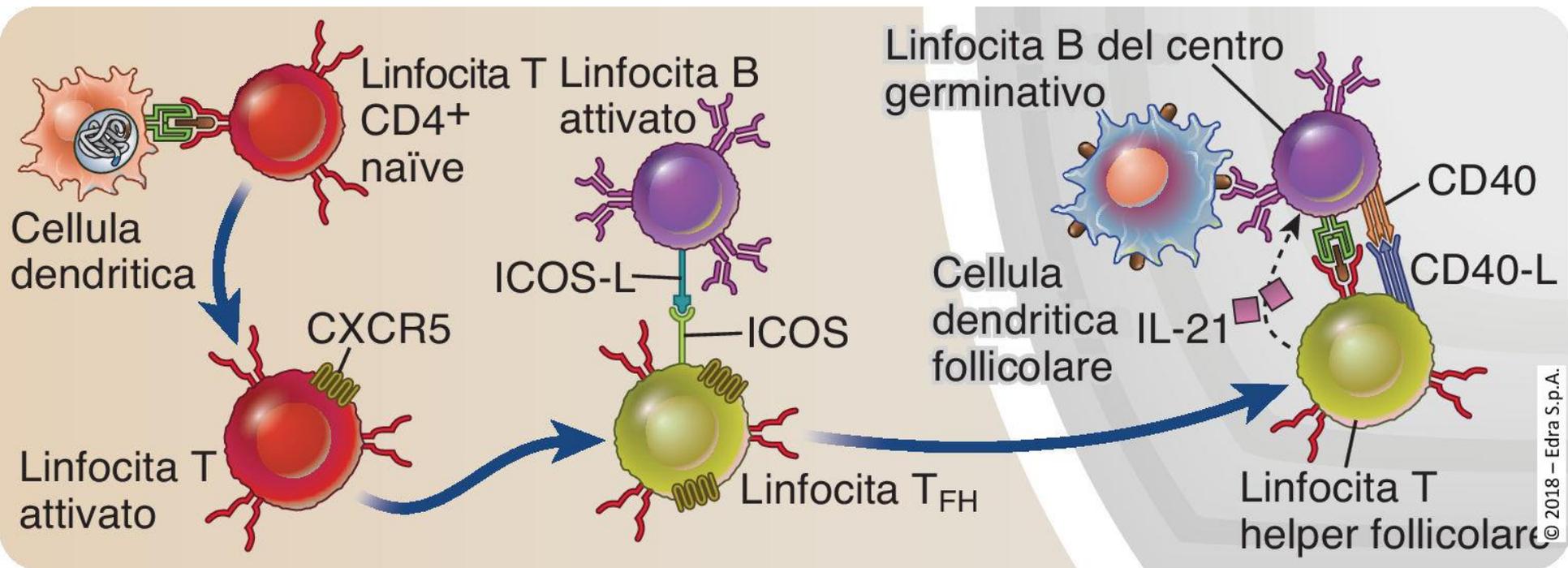
A



B

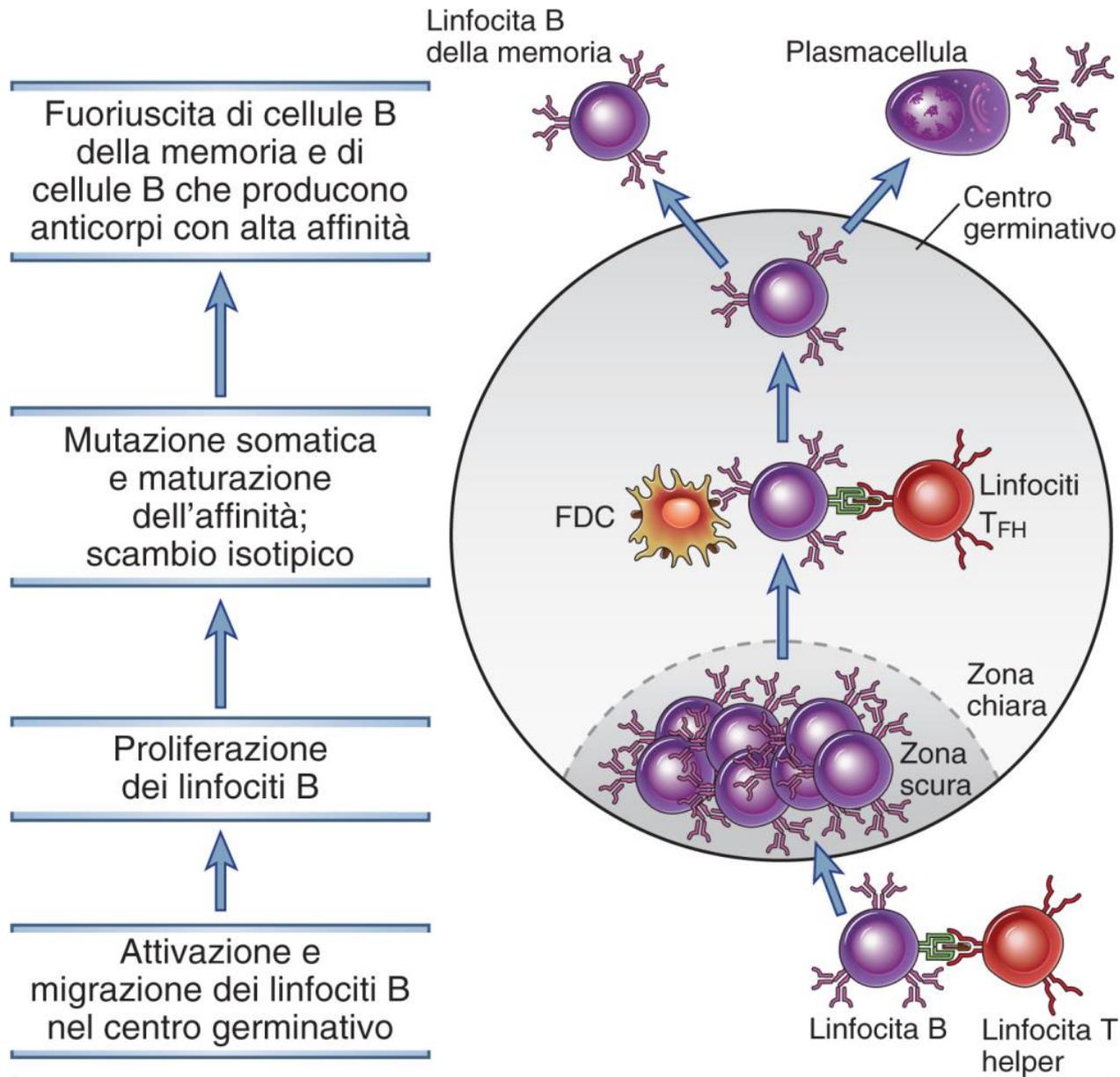


Differenziazione dei T_{FH}



I T_{FH} sono caratterizzati da

- ICOS-ICOS-L promuove la maturazione dei T_{FH}
- IL-21 necessaria allo sviluppo del centro germinativo
- IFN- γ , IL-4 importanti per lo scambio isotipico

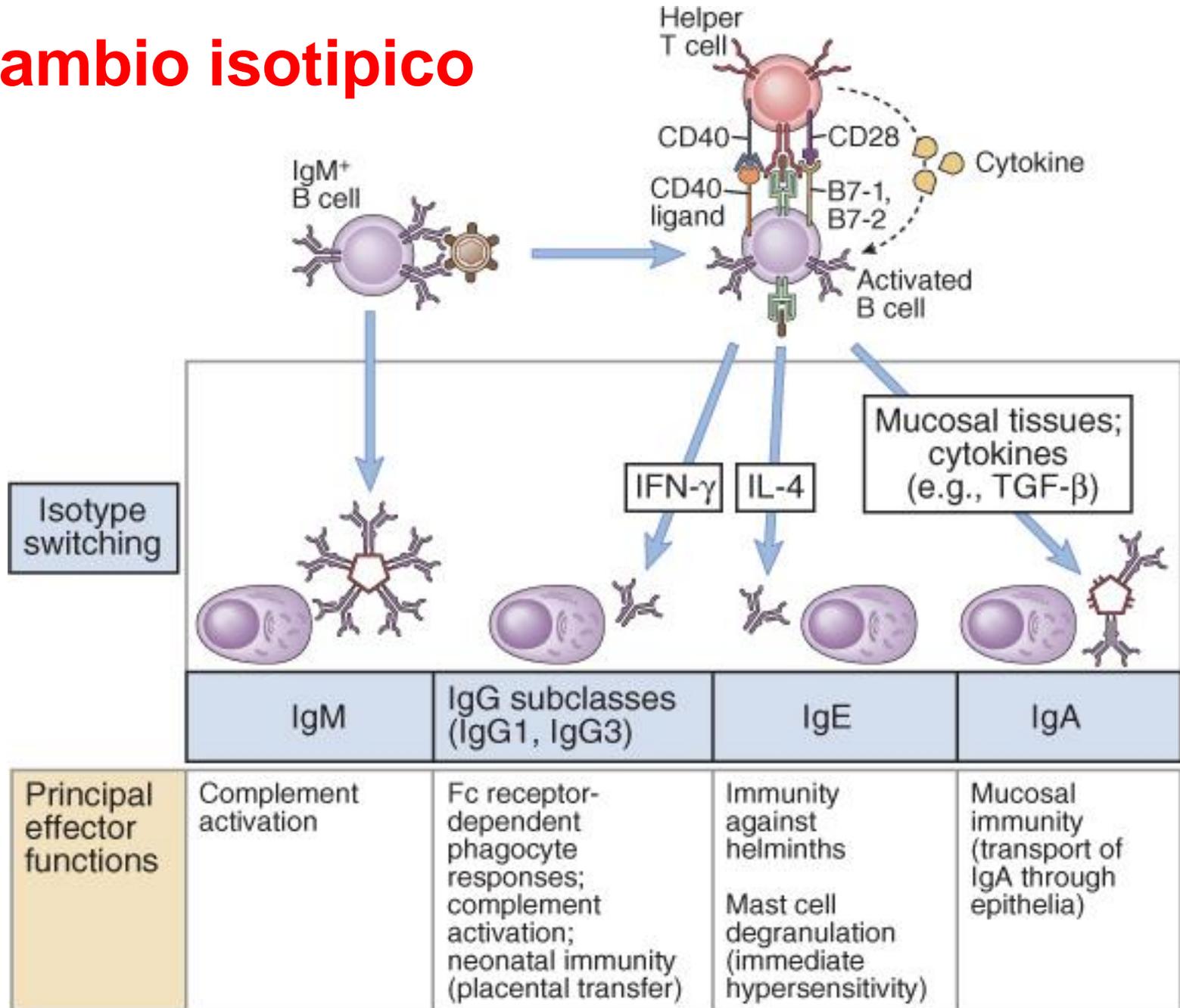


g12.pg

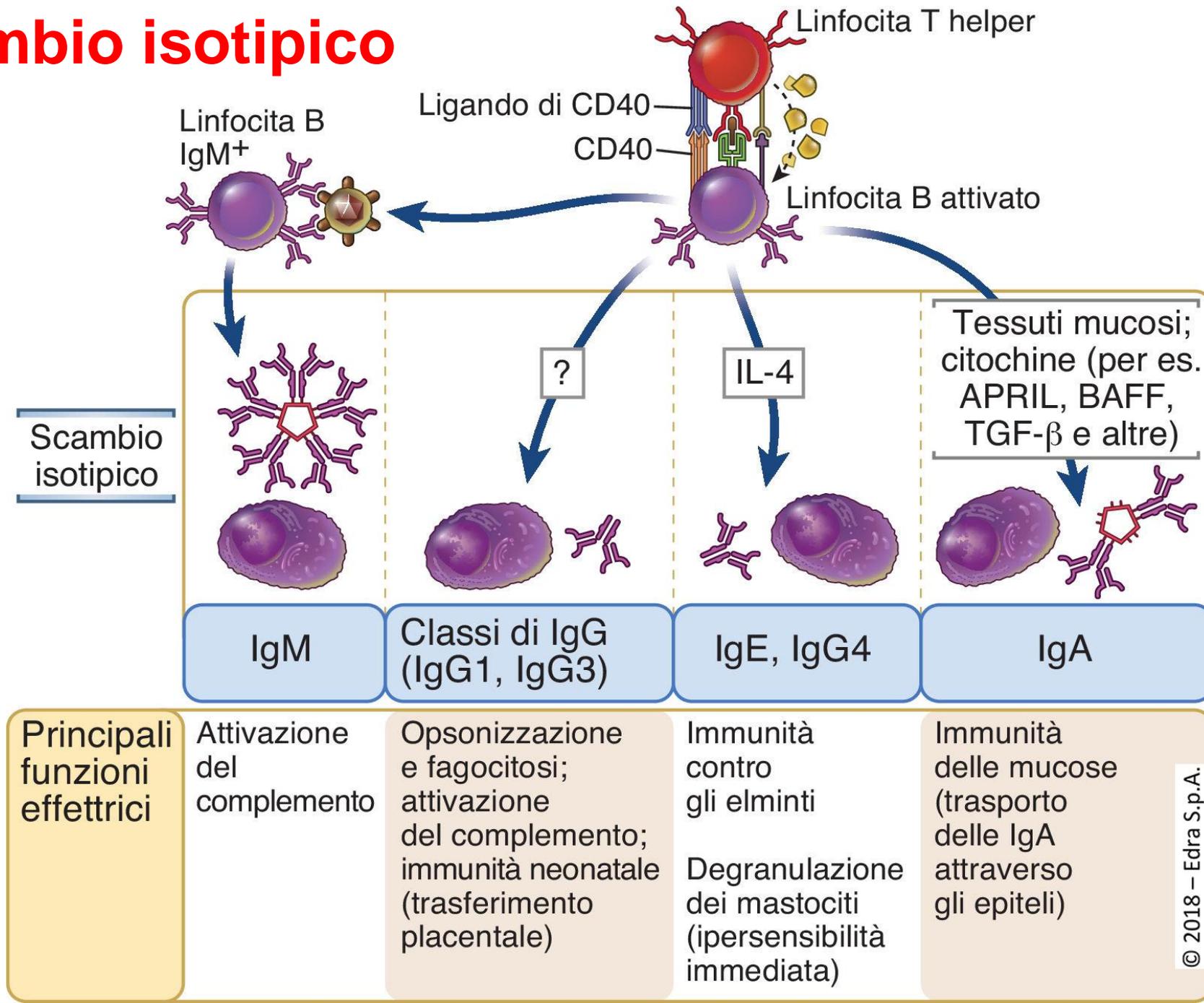
Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

Reazione del centro germinativo in un linfonodo. I linfociti B attivati dai linfociti T helper alla periferia del follicolo primario migrano all'interno del follicolo dove, proliferando attivamente, formano la zona scura. I linfociti B del centro germinativo vanno incontro a un intenso scambio di classe. In queste stesse cellule si verificano le mutazioni somatiche a carico dei geni V. In seguito, i linfociti B migrano nella zona chiara, dove incontrano le cellule dendritiche follicolari (FDC) che presentano l'antigene e i linfociti T_{FH} (T_{FH} cuboide) che presentano il co-recettore. I linfociti B dotati di recettori con maggiore affinità sopravviveranno selettivamente e si differenzieranno in linfociti B secernenti anticorpi o in linfociti B della memoria. Le cellule che producono anticorpi si localizzano nel midollo osseo sotto forma di plasmacellule a lunga sopravvivenza, le cellule della memoria invece vanno incontro a ricambio.

Scambio isotipico



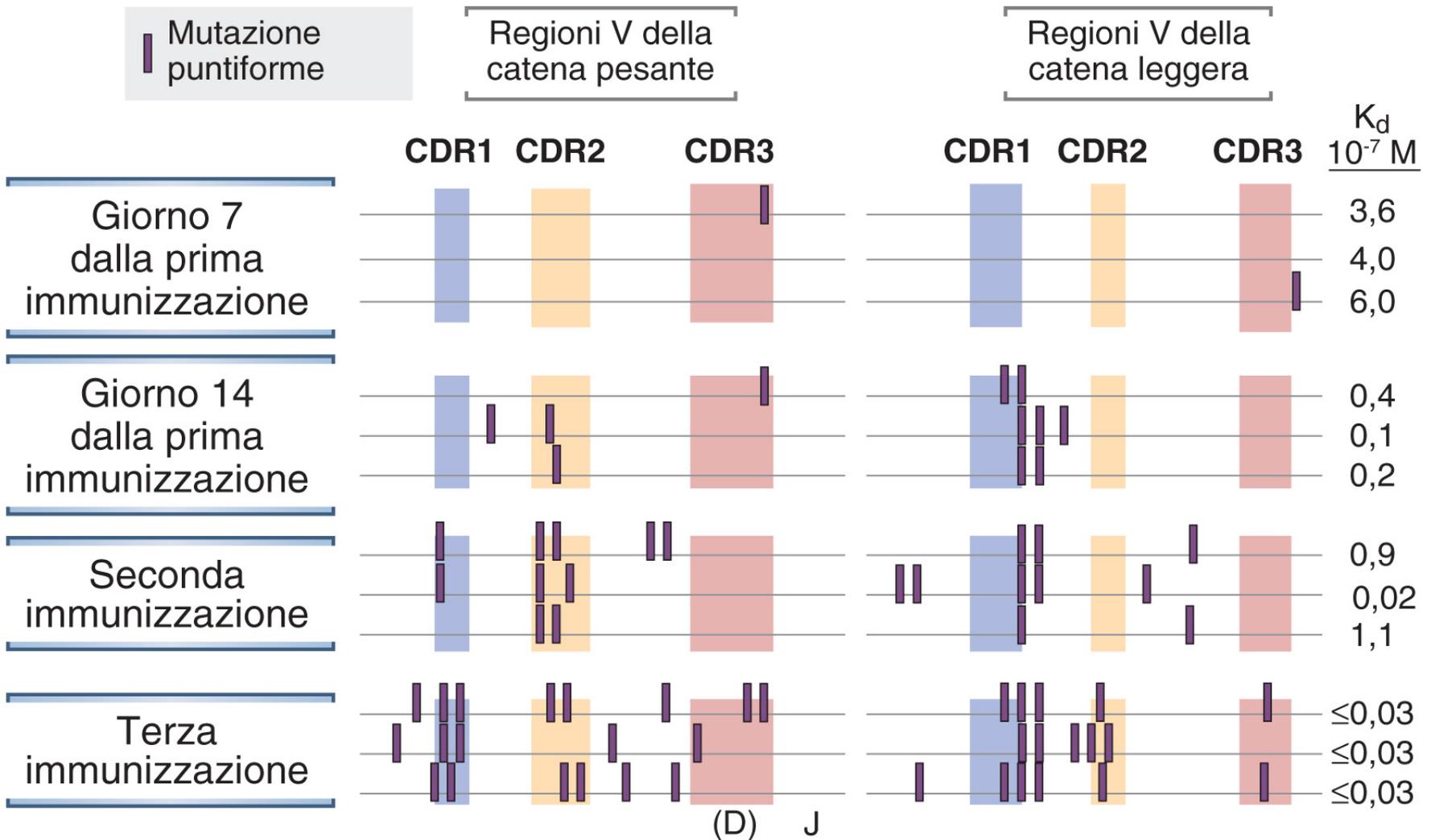
Scambio isotipico



Maturazione per affinità

Ipermutazioni somatiche della porzione di DNA che codifica per i domini variabili della Ig (CDR) portano come risultato il cambiamento del sito di legame con l'antigene

Maturazione dell'affinità

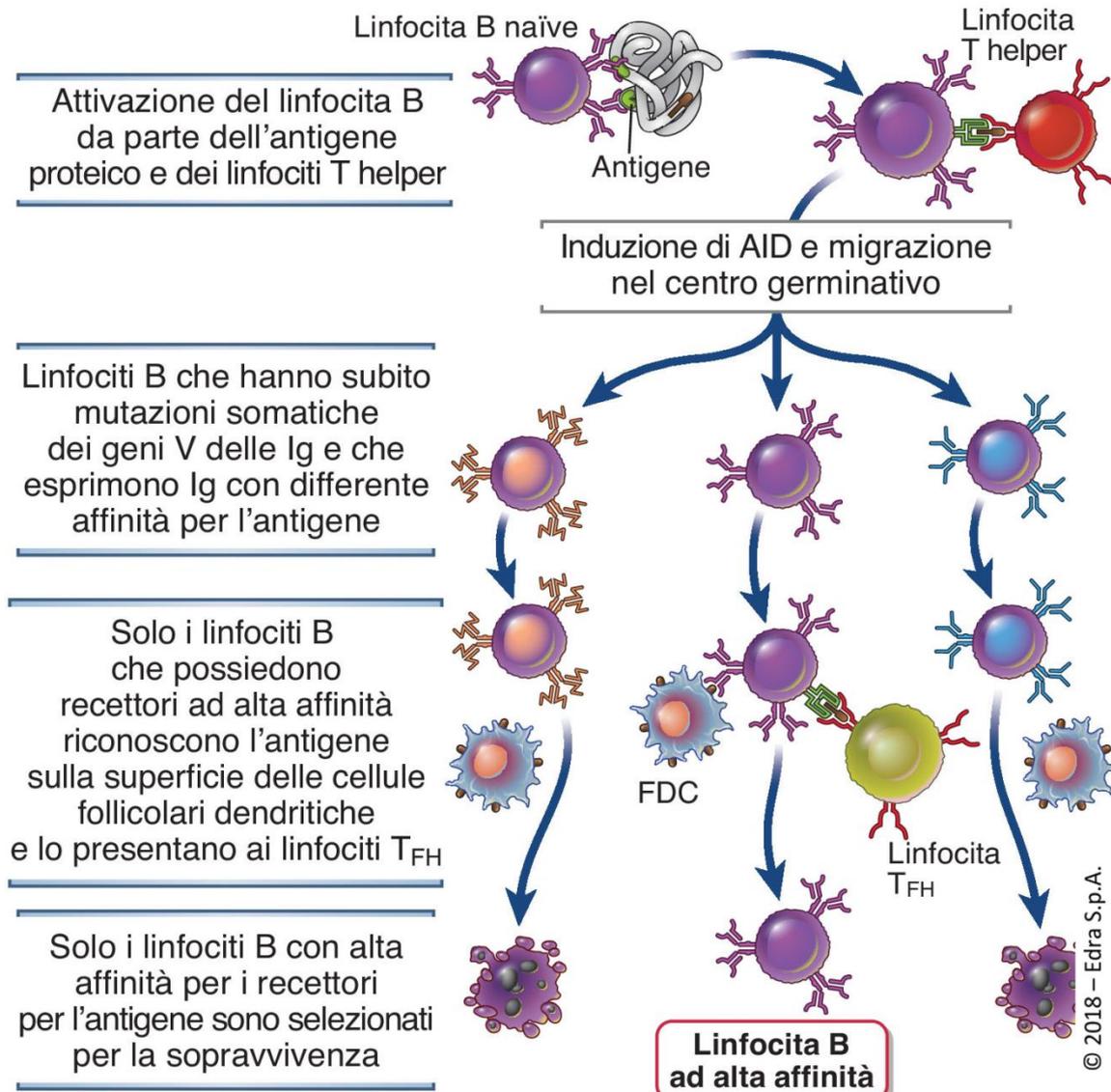


gr18.jpg

Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

Mutazioni somatiche a carico dei geni V delle Ig. In questo esperimento sono stati prodotti ibridomi a partire da cellule spleniche di topi immunizzati 7 o 14 giorni prima con un aptene (oxazolone) coniugato a una proteina. Gli ibridomi erano prodotti anche a partire da cellule spleniche ottenute dopo una seconda o terza immunizzazione con lo stesso antigene. Gli ibridomi in grado di produrre anticorpi monoclonali specifici anti-oxazolone sono stati isolati da ciascuna di queste condizioni sperimentali e si è proceduto al sequenziamento dei geni V codificanti per le catene pesanti e leggere delle Ig. Le mutazioni a carico di tali geni si concentrano nelle regioni che determinano la complementarità (Complementarity-Determining Regions, CDR) e aumentano con il tempo in seguito all'immunizzazione e per effetto di immunizzazioni ripetute. La localizzazione della regione CDR3 nelle catene pesanti è approssimativa. Anche l'affinità degli anticorpi prodotti tende ad aumentare con l'aumentare del numero di mutazioni, come indicato dalla costante di dissociazione (K_d) del legame dell'anticorpo all'aptene sempre più bassa. (Adattata da Berek C e C Milstein, Mutation drift and repertoire shift in the maturation of the immune response. Immunological Reviews 96:23-41, 1987, Blackwell Publishing.)

Reazione del centro germinativo: Maturazione dell'affinità



AID

(Activation induced deaminase)

- Enzima chiave del processo di scambio isotipico e maturazione per affinità.
- La sua espressione è regolata dal CD40
- Deficit di AID inducono patologia caratterizzata da mancanza di scambio isotipico e maturazione per affinità

Sindrome da Iper-IgM

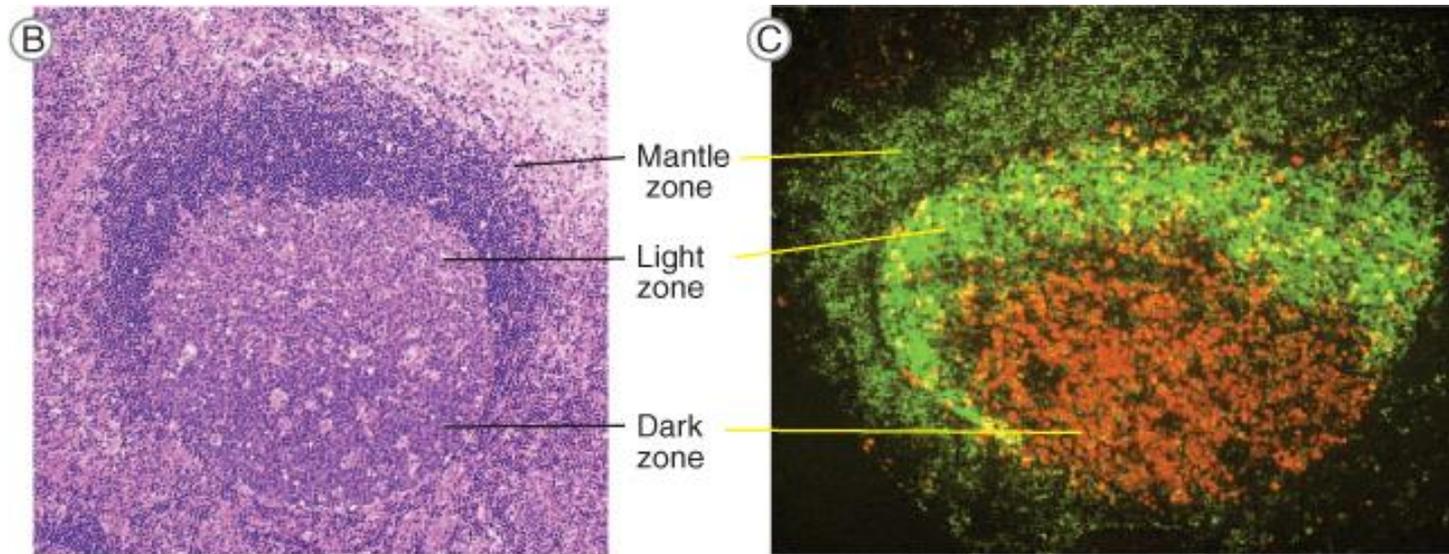
Si possono selezionare i cloni
più affini



Affamare i linfociti

(importante per vaccinazioni)

Struttura del follicolo linfatico



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

Nel mantello sono presenti i linfociti B vergini

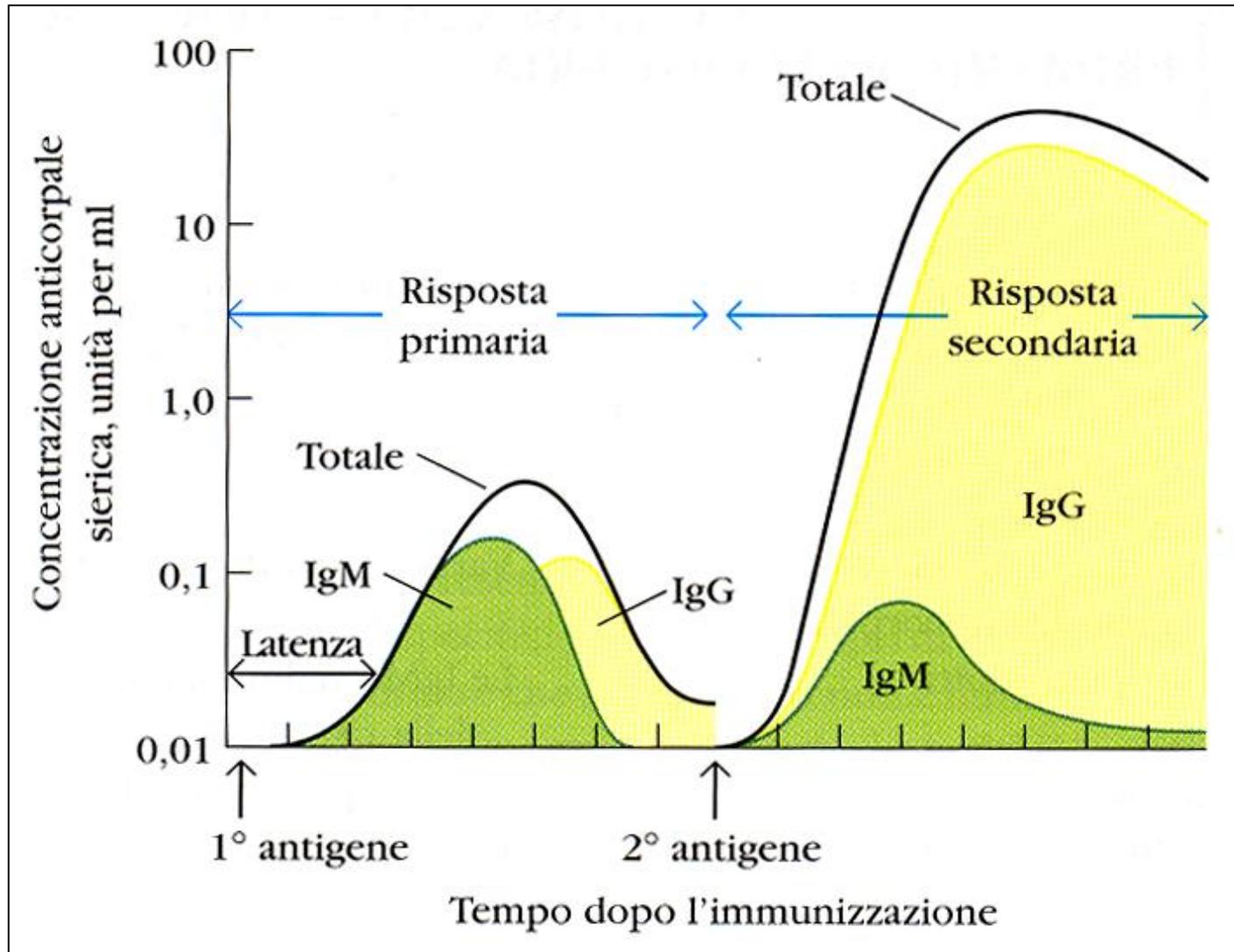
I B cominciano a proliferare dopo 4-7gg dall'esposizione all'Ag B formando il centro germinativo

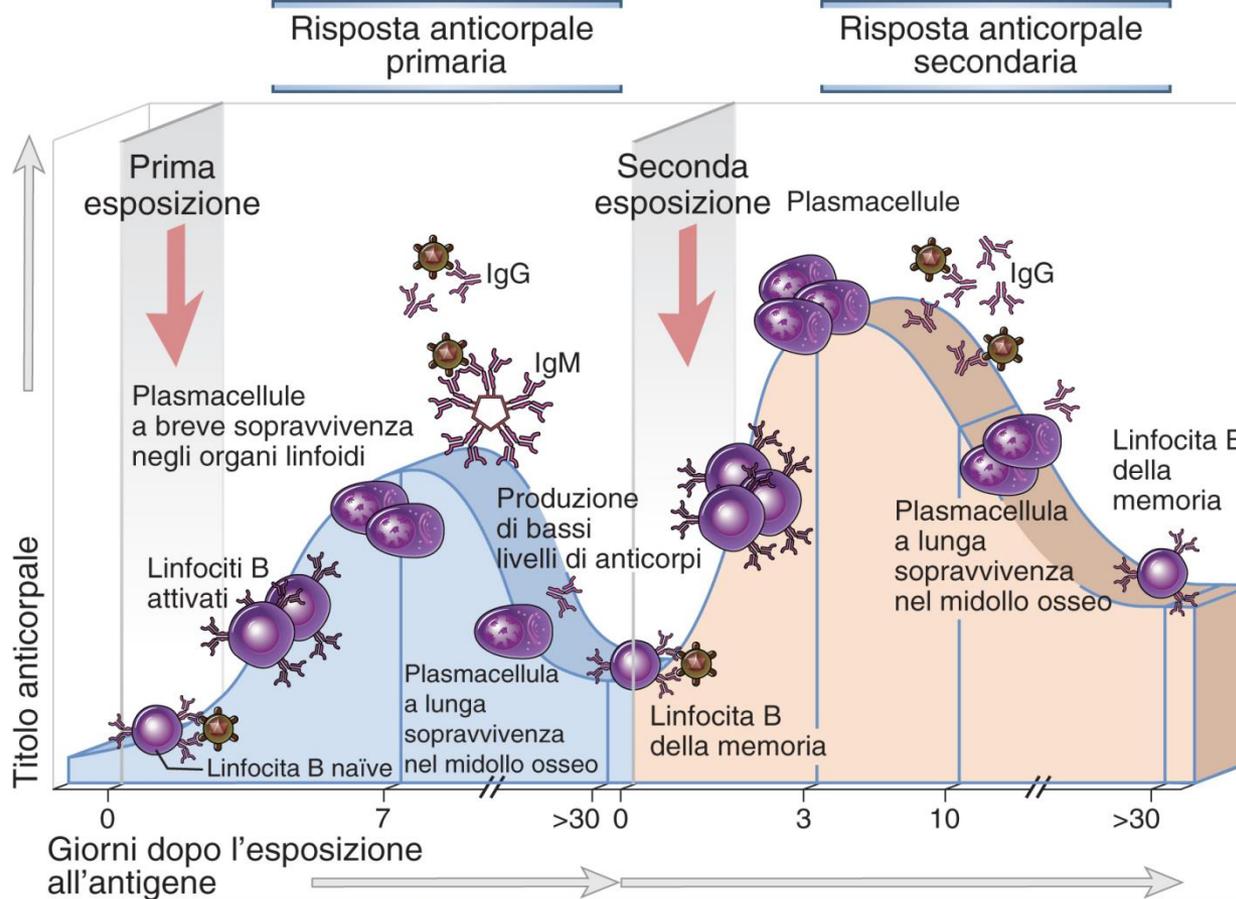
La zona scura corrisponde ai linfociti B in rapida proliferazione (definiti anche centroblasti). 1 linfocita B può dare origine ad un clone di 5000 cellule in meno di 5gg

Risposta umorale

primaria e secondaria

Cinetiche della risposta anticorpale





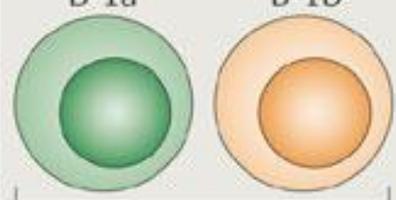
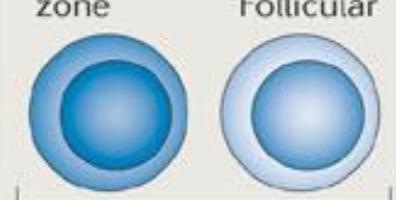
Caratteristica	Risposta primaria	Risposta secondaria
Picco della risposta	Minore	Maggiore
Isotipo anticorpale	Abitualmente IgM > IgG	Aumento relativo delle IgG e, in determinate situazioni, delle IgA o delle IgE
Affinità anticorpale	In genere affinità minore, maggiore variabilità	In genere affinità maggiore (maturazione dell'affinità)
Indotta da	Tutti gli immunogeni	Solo antigeni proteici

g2.ppt

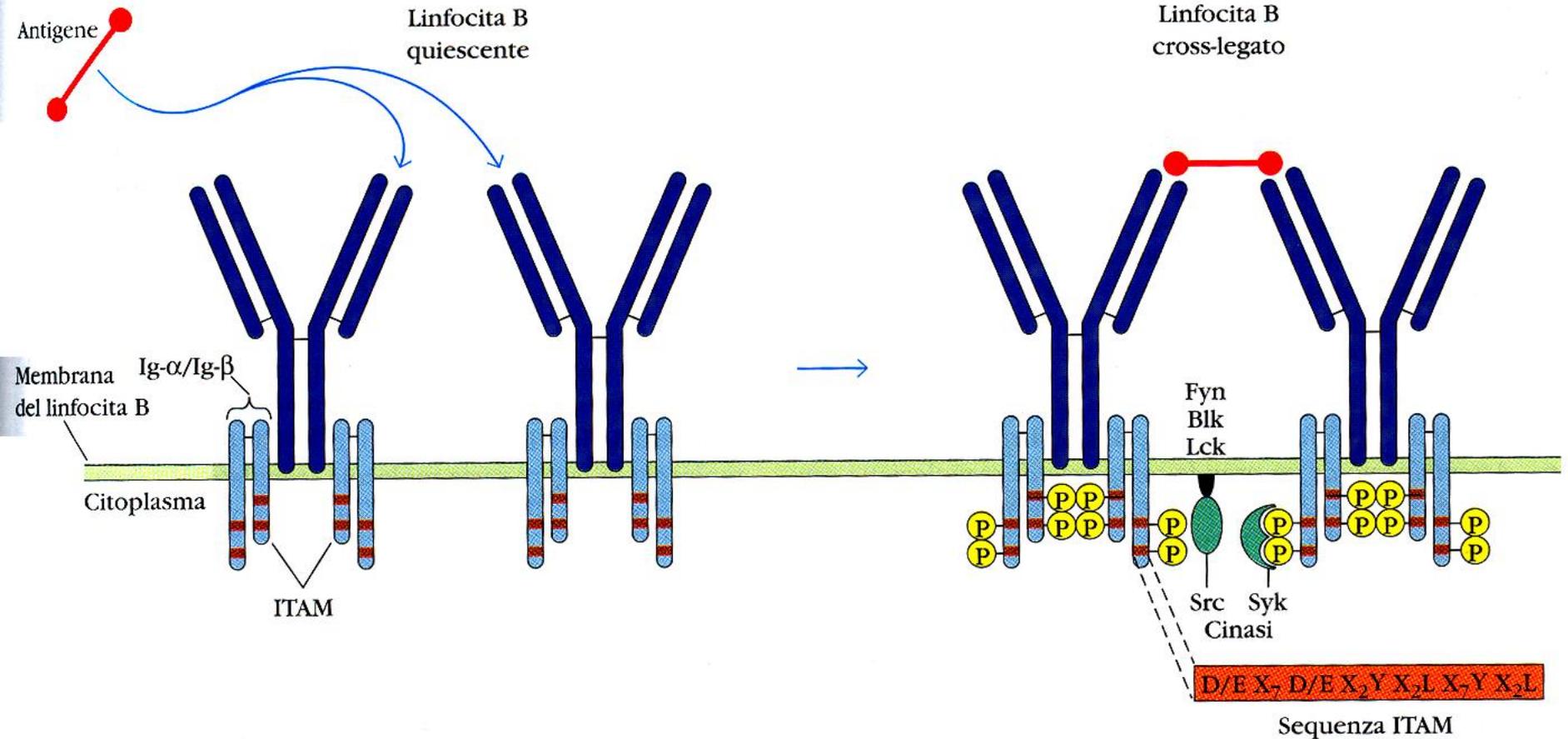
Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

Risposte immunitarie primarie e secondarie. Nella risposta primaria i linfociti B naïve si attivano e si differenziano in plasmacellule che producono anticorpi specifici per l'antigene che ha innescato la risposta. Alcune di queste plasmacellule migrano e sopravvivono nel midollo osseo dove continuano a produrre anticorpi per lunghi periodi. Nel corso della risposta primaria vengono anche generati linfociti B della memoria a lunga sopravvivenza. La risposta immunitaria secondaria si avvia quando i linfociti B della memoria vengono nuovamente stimolati dallo stesso antigene. Ciò determina la proliferazione e la differenziazione dei linfociti B in modo più rapido e la produzione di quantità maggiori di anticorpi specifici rispetto a quelle prodotte nel corso della risposta primaria. Le principali caratteristiche delle risposte anticorpali primarie e secondarie sono riassunte nella tabella. Tali caratteristiche sono tipiche delle risposte anticorpali agli antigeni proteici dipendenti da linfociti T.

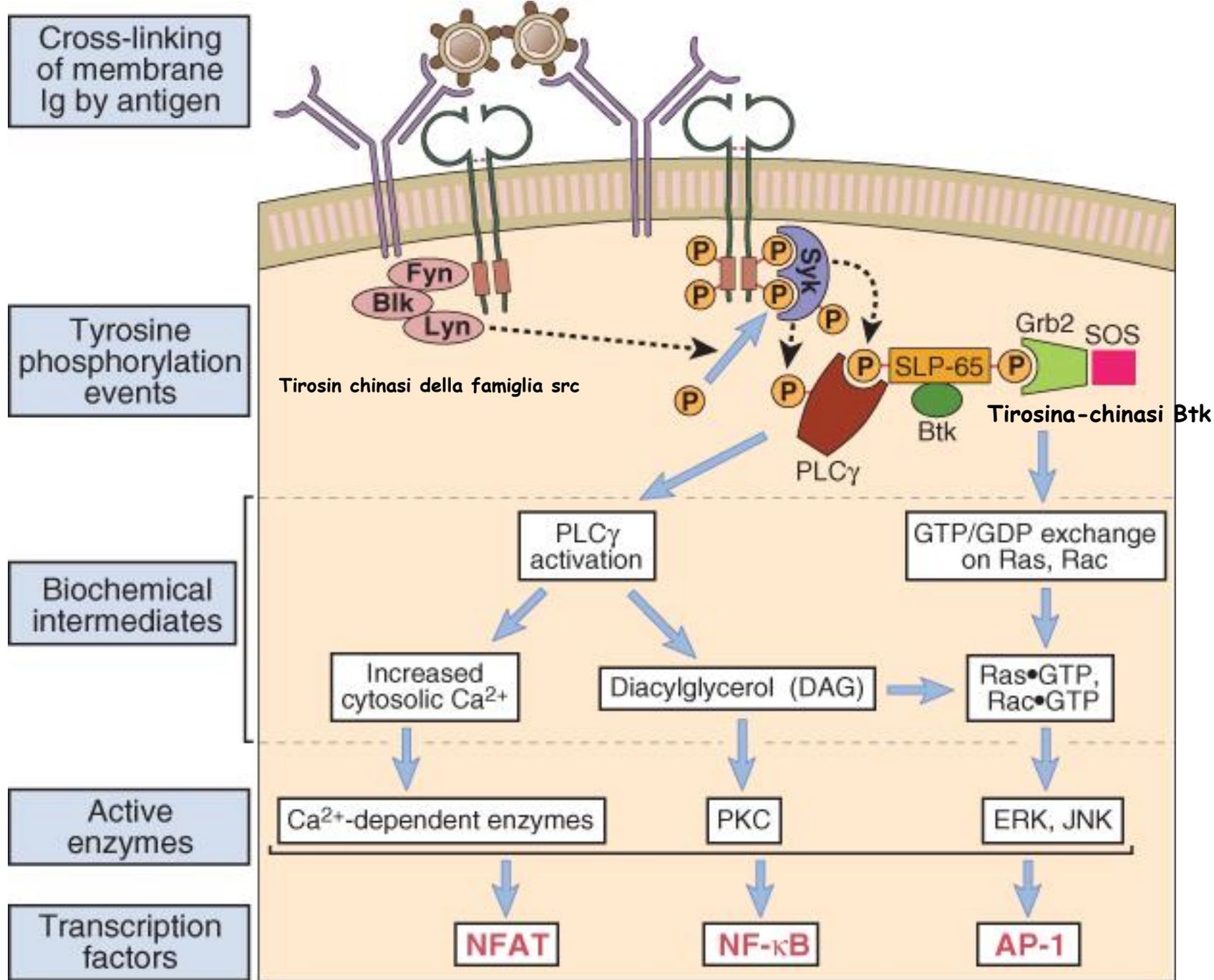
Sottopopolazioni di linfociti B

Cell surface phenotype	<p>CD5⁺ CD19^{hi} CD1d^{mid}</p> <p>CD23⁻ CD43⁺ IgM^{hi} IgD^{low}</p>	<p>CD5⁻ CD19^{hi} CD1d^{mid}</p> <p>CD23⁻ CD43⁺ IgM^{hi} IgD^{low}</p>	<p>CD5⁻ CD19^{mid} CD1d^{hi} CD21^{hi}</p> <p>CD23⁻ CD43⁻ IgM^{hi} IgD^{low}</p>	<p>CD5⁻ CD19^{mid} CD1d^{mid}</p> <p>CD23⁺ CD43⁻ IgM^{low} IgD^{hi}</p>	<p>CD5⁺ CD19^{hi} CD1d^{hi} CD21^{hi/mid}</p> <p>CD23^{+/-} CD43⁻ IgM^{hi} IgD^{low/mid}</p>
Frequency in total splenic B cell population	2%	<1%	15%	>70%	1%
	<p>B-1a B-1b</p>  <p>B-1 cells</p>	<p>Marginal zone Follicular</p>  <p>B-2 cells</p>	<p>Regulatory B cell</p>  <p>Relationship to B-1 and B-2 cells unclear</p>		

Vie di trasduzione del segnale



1. Aggregazione e attivazione delle tirosin-chinasi della fam Src
2. Fosforilazione dei residui di tirosina delle sequenze ITAM
3. Reclutamento di Syc

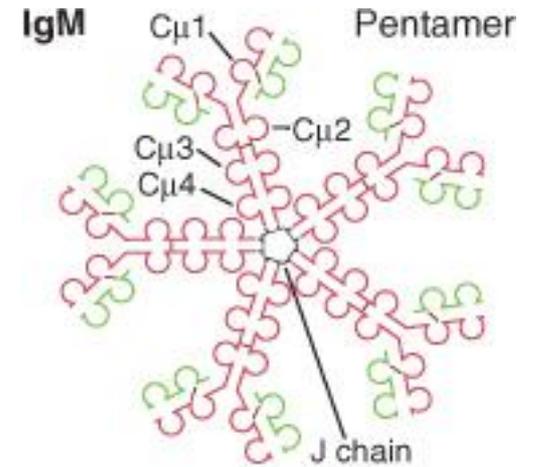
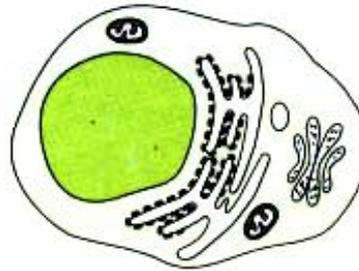
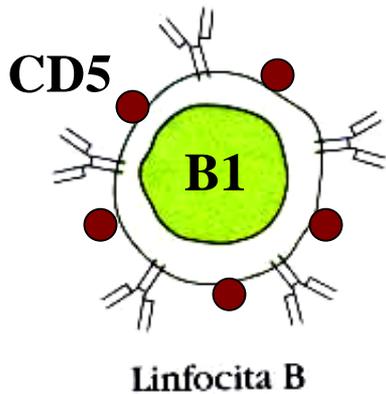


Agammaglobulinemia legata al cromosoma X

- Difetti nel gene che codifica per la tirosinasi di Bruton Btk
- Mancano B maturi
- Numerose infezioni batteriche (soprattutto *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*) con frequenti polmoniti, sinusiti, meningiti batteriche e setticemie.
- Descritta da OC Bruton nel 1952
- Anni '90 identificato il gene responsabile

CD5 è analogo allo scavenger receptor dei macrofagi

Linfociti B1



- BCR presenta diversificazione limitata
- sono presenti nel peritoneo, pleura e milza (pochi)
- Sono in grado di replicarsi al di fuori del midollo osseo

Linfociti B1

- Producono anticorpi IgM a basso titolo specifici per antigeni polisaccaridici e lipidici come la fosforilcolina e LPS espressi da diversi batteri
- Gli anticorpi naturali fungono da meccanismo di difesa preconstituito contro i microrganismi che riescono a penetrare le barriere epiteliali.

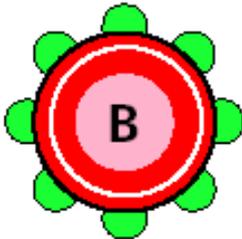
Anticorpi naturali anti ABO

- Sono IgM
- Sono presenti a basso titolo (1/32-1/64)
- Vengono prodotti dopo i 3 mesi di vita senza un'evidente immunizzazione sebbene sia possibile stimolarne la produzione a seguito del contatto con epitopi identici espressi abitualmente su un'ampia varietà di microrganismi
- Non possono attraversare la placenta

1-SISTEMA ABO

Sono antigeni complessi composti da glucidi presenti su tutte le cellule

Gli zuccheri conferiscono l'antigenicità e sono montati da transferasi presenti sul cromosoma 9

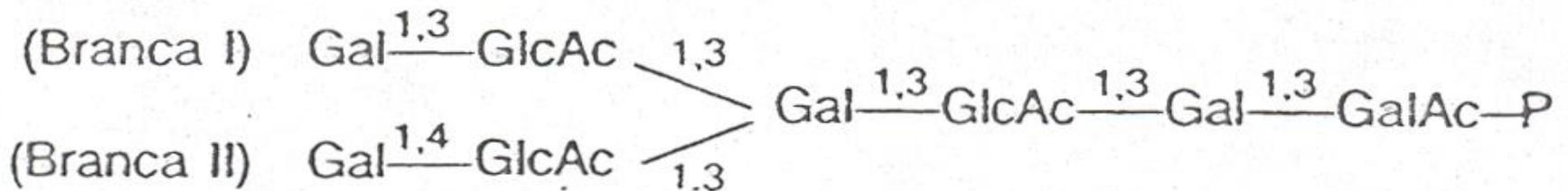
Eritrociti da individui di gruppo sanguigno			
			
Esprimono le strutture carboidrate			
$\begin{array}{c} \text{R-GlcNAc-Gal} \\ \\ \text{Fuc} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{R-GlcNAc-Gal-GalNAc} \\ \\ \text{Fuc} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{R-GlcNAc-Gal-Gal} \\ \\ \text{Fuc} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{R-GlcNAc-Gal-GalNAc} \\ \\ \text{Fuc} \\ + \\ \text{R-GlcNAc-Gal-Gal} \\ \\ \text{Fuc} \end{array}$

Gli antigeni dei gruppi sanguigni ABO

Gli epitopi sono localizzati sulle unità carboidriche delle glicoproteine e dei glicolipidi *di numerose cellule*

GalAc=Nacetilgalattosamina
 GlcAc=Nacetilglucosamina
 Fuc= fucosio
 Gal= galattosio

Sostanza fondamentale



**P = porzione
lipidica o proteica**

GRUPPO O

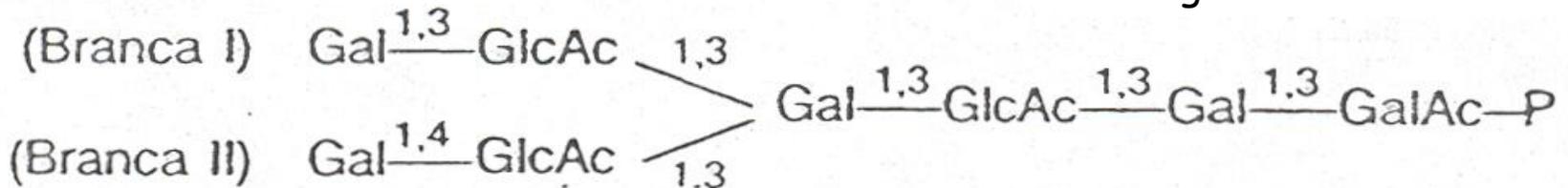
GalAc=Nacetilgalattosamina

GlcAc=Nacetilglucosamina

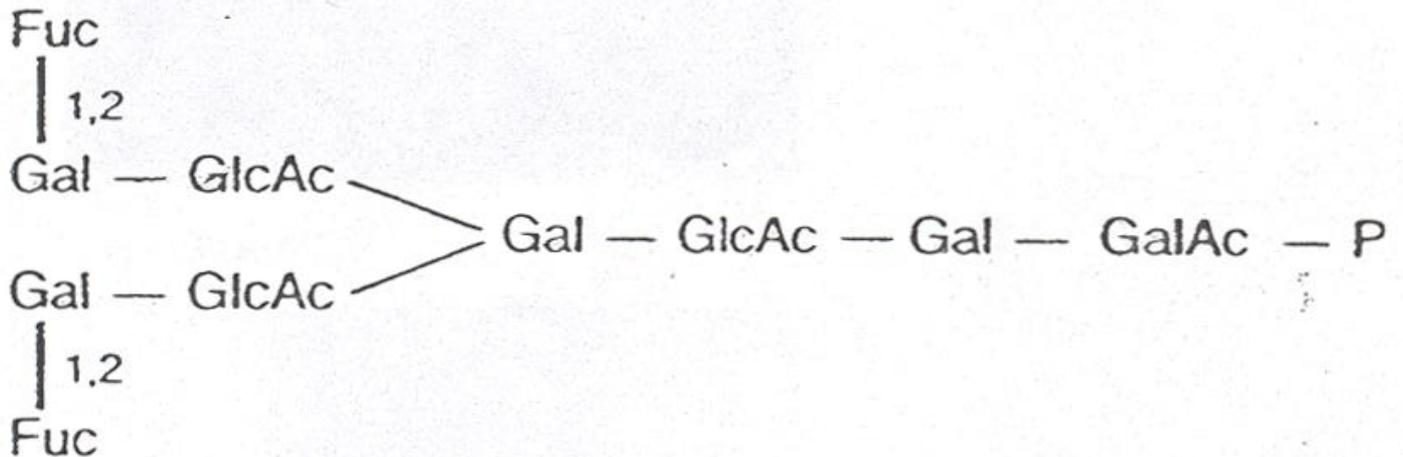
Fuc= fucosio

Gal= galattosio

Sostanza fondamentale



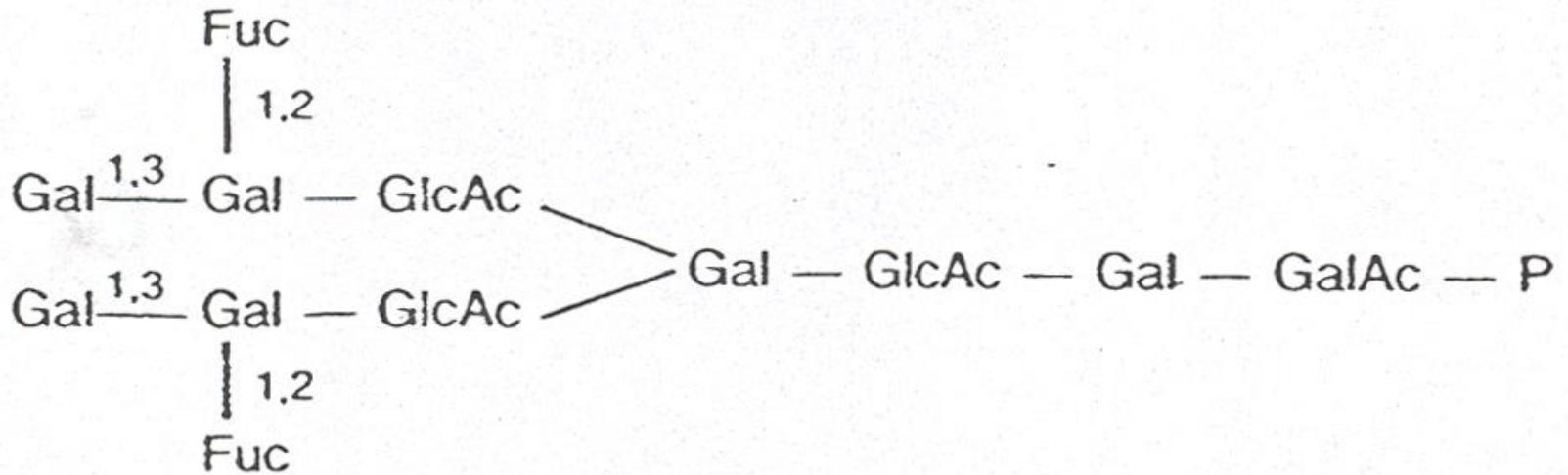
Effetto del gene *H* (H)



GRUPPO BOMBAY

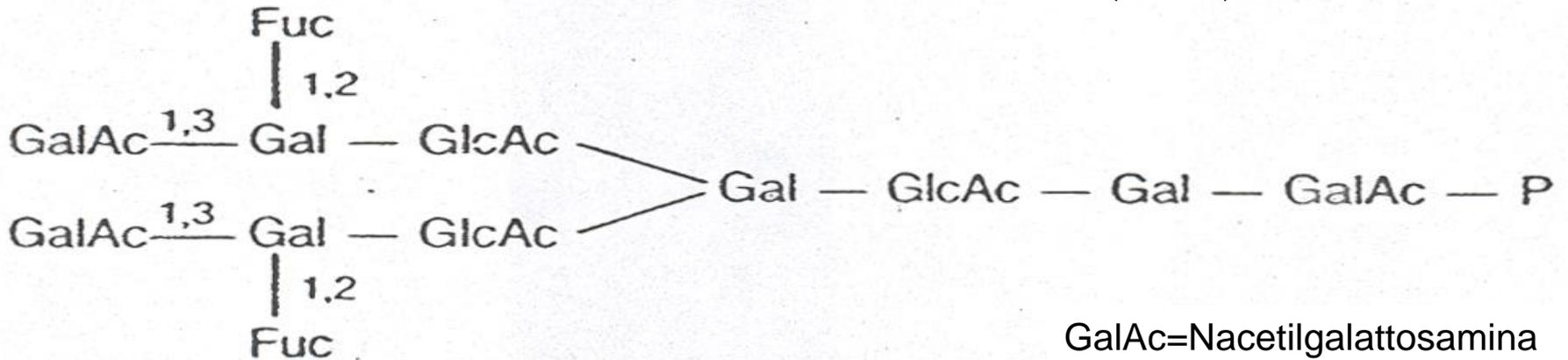
GRUPPO B

Effetto del gene *H* e *B* (H,B)



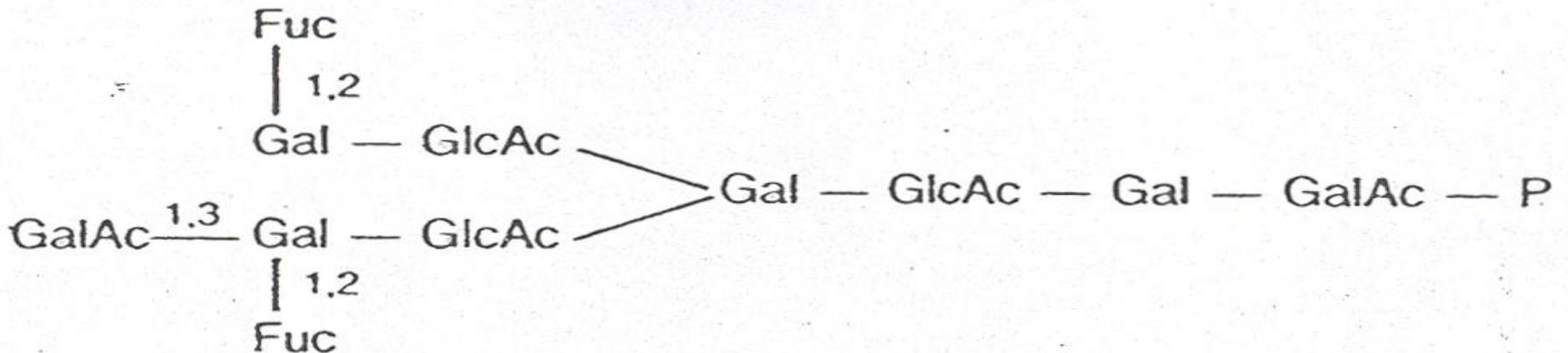
GRUPPO A

Effetto del gene H e A_1 (H, A_1) (80%)



GalAc=Nacetilgalattosamina
GlcAc=Nacetilglucosamina
Fuc= fucosio
Gal= galattosio

Effetto del gene H e A_2 (H, A_2)



Nel sistema ABO esistono 4 fenotipi e questi danno origine a 4 possibili gruppi sanguigni

O	40%
A	36%
B	17%
AB	7%

Frequenza nella popolazione italiana

Tabella 16-1. Distribuzione dei gruppi ABO nella popolazione americana.

Gruppo sanguigno	Antigeni eritrocitari	Anticorpi sierici	Frequenza (%) nella popolazione americana			
			Bianchi	Neri	Indiani	Asiatici
O	H	Anti-A, Anti-B	45	49	79	40
A	A	Anti-B	40	27	16	28
B	B	Anti-A	11	20	4	27
AB	A e B	-	4	4	<1	5

FENOTIPO	GENOTIPO
A_1	$A_1/A_1, A_1/A_2, A_1/0$
A_2	$A_2/A_2, A_2/0$
B	$B/B, B/0$
0	$0/0$
A_1B	A_1/B
A_2B	A_2/B

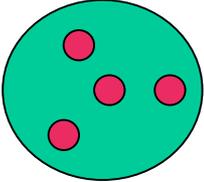
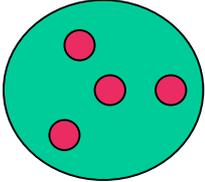
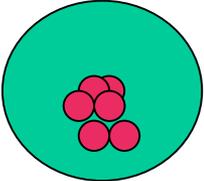
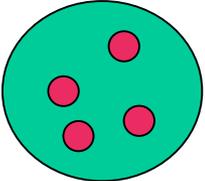
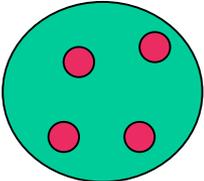
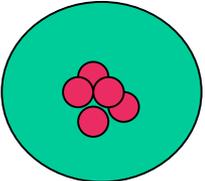
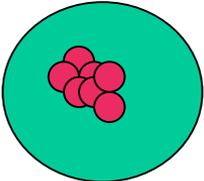
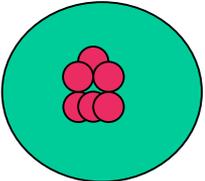
Effetto del gene secretore

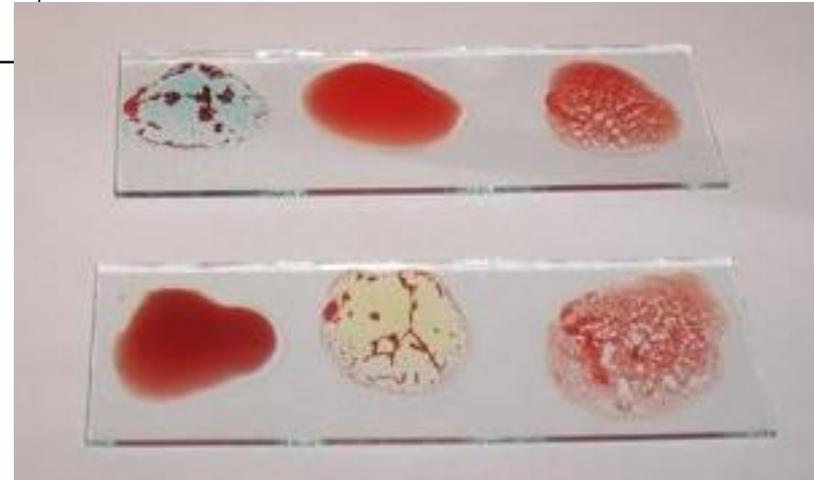
Genotipo	Saliva	Siero
Se Se	+	-
Se se	+	-
se se	-	-

Anticorpi naturali anti ABO

Gruppo	Antigene	Anticorpo
O	H	A, B
A	α	B
B	β	A
AB	$\alpha\beta$	-

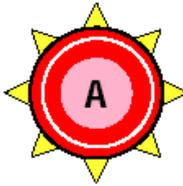
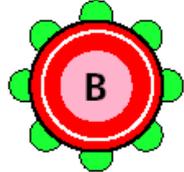
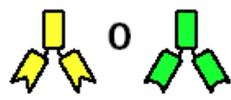
Reazione di agglutinazione

anticorpi		Gruppo sanguigno
Anti-A	Anti-B	
		O
		A
		B
		AB



TIPIZZAZIONE DEL SANGUE

TEST DIRETTO E INDIRETTO

		Eritrociti da individui di gruppo sanguigno			
					
		Esprimono le strutture carboidrate			
Siero da individui con gruppo sanguigno		R-GlcNAc - Gal Fuc	R-GlcNAc - Gal - GalNAc Fuc	R-GlcNAc - Gal - Gal Fuc	R-GlcNAc - Gal - GalNAc Fuc + R-GlcNAc - Gal - Gal Fuc
 Anticorpi anti-A e anti-B	nessuna agglutinazione	agglutinazione	agglutinazione	agglutinazione	
 Anticorpi anti-B	nessuna agglutinazione	nessuna agglutinazione	agglutinazione	agglutinazione	
 Anticorpi anti-A	nessuna agglutinazione	agglutinazione	nessuna agglutinazione	agglutinazione	
AB Non hanno anticorpi contro A o B	nessuna agglutinazione	nessuna agglutinazione	nessuna agglutinazione	nessuna agglutinazione	