

MeB – Pagine Elettroniche

Volume IV

Aprile 2001

numero 4

IL PUNTO SU

L'asma

Giorgio Bartolozzi

Una recente messa a punto sull'asma, pubblicata sul New England Journal of Medicine (Busse WW, Lamanske RF, 2001, 344:350-62) permette di ripercorrere la catena patogenetica della malattia, alla luce delle più recenti scoperte. Questa occasione offre anche l'opportunità di riprendere in esame l'“ipotesi igienistica” per l'identificazione dei fattori favorevoli il fenotipo Th1 versus Th2.

La trattazione riguarda anche le numerosissime chemochine e citochine che partecipano a vari livelli alla funzionalità delle vie aeree.

Vengono riportate due tabelle con l'elenco completo delle citochine e delle chemochine.

L'asma è una sindrome complessa, caratterizzata da vari gradi di:

- ostruzione delle vie aeree
- iperreattività bronchiale
- infiammazione delle vie aeree

In molti casi la malattia inizia nell'infanzia, legata a fattori genetici (atopia) e ambientali (virus, allergeni, fattori legati all'occupazione).

IMMUNO-ISTOPATOLOGIA DELL'ASMA

Le prove che l'infiammazione è una componente fondamentale dell'asma, scaturiscono, fin dai primi studi, dai reperti autopsici in ammalati di asma. I clinici, pediatri compresi, hanno tuttavia tardato a considerare l'importanza delle reazioni infiammatorie locali nella genesi dell'asma, finché una decina di anni fa sono comparse pubblicazioni che ne hanno definitivamente sottolineato l'interesse, soprattutto per il versante terapeutico.

Le vie aeree sono infiltrate di neutrofili e di eosinofili, di mast cellule degranulate, di ispessimento della membrana basale e

di occlusione del lume bronchiale da parte del muco. A carico dei muscoli lisci dei bronchi si nota iperplasia e ipertrofia, insieme a ipertrofia delle cellule caliciformi. Questi reperti sono caratteristici anche delle forme lievi di asma, pur variando a seconda della gravità della malattia. La maggior parte delle cellule delle vie aeree sono attivate e rilasciano mediatori chimici preformati o di recente sintesi, sostanze che hanno tutte un diretto ruolo nell'asma.

Vi è infatti abbondanza di citochine che mediano l'infiammazione e di chemochine chemiotattiche nel liquido di lavaggio bronco-alveolare e nelle secrezioni bronchiali.

Citochine = termine generico con il quale si indicano proteine non anticorpali, rilasciate da una popolazione cellulare (soprattutto linfociti T, ma anche macrofagi) quando questi vengano in contatto con l'antigene; esse agiscono come mediatori intercellulari e come generatori di una risposta immune.

Chemochine = un gruppo di citochine a basso peso molecolare, come l'interleuchina-8, identificate sulla base della loro capacità d'indurre chemiotassi e chemocinesi nei leucociti (o in particolari popolazioni di leucociti) nell'infiammazione; il gruppo viene suddiviso in 4 sottogruppi sulla base di criteri genetici, strutturali e funzionali. Esse agiscono come regolatrici del sistema immune e giocano un ruolo nel sistema circolatorio e nel sistema nervoso centrale.

Poiché chemochine e citochine sono elaborate da cellule infiammatorie delle vie aeree e nello stesso tempo hanno molti effetti su queste stesse cellule, si viene a creare una rete autocrina, paracrina ed endocrina, responsabile dell'asma.

I fattori di trascrizione interessati nell'infiammazione asmatica comprendono:

- il fattore nucleare kB
- la proteina-1 attivatrice
- il fattore nucleare delle cellule T attivate
- la proteina che si lega all'elemento di risposta dell'AMP ciclico
- vari membri della famiglia dei fattori di trascrizione attivati dal sistema di trasduzione

Citochine	Cellule produttrici	Cellule bersaglio	Funzione
Fattore di crescita dei fibroblasti basali	Cellule endoteliali	Fibroblasti, matrice	- Produzione di fibroblasti, formazione della matrice
Fattore stimolante le colonie di granulociti	Monociti, fibroblasti, cellule epiteliali	Precursori dei neutrofili	- Maturazione e differenziazione delle cellule bersaglio
Fattore stimolante le colonie di granulociti-macrofagi	Macrofagi attivati e cellule T	Eosinofili, neutrofili, macrofagi	- Proliferazione, differenziazione, attivazione, e prolungata sopravvivenza delle cellule bersaglio, aumentata produzione di citochine, degranulazione degli eosinofili
Interferon-a	Monociti, macrofagi	Cellule infettate dal virus	- Inibizione della moltiplicazione virale

Interferon- β	Monociti, macrofagi	Cellule infettate dal virus	- Inibizione della moltiplicazione virale
Interferon- γ	Th1 cellule CDE4+, linfociti, Cellule NK, Alcune cellule T CD8+	Macrofagi Cellule T CD4+ Cellule T CD8+ Cellule natural killer	- Differenziazione e attivazione dei macrofagi, con espressione dei recettori Fc γ , molecole MHC classe I e classe II, ossido nitrico sintasi, interleuchina-1, tumor necrosis factor - Variazione nel profilo delle citochine da tipo Th2 a tipo Th1; aumentata espressione dei recettori dell'interleuchina-2 - Aumentata citotossicità delle cellule T CD8+ - Attivazione delle cellule natural killer
Interleuchina-1	Monociti, macrofagi	Cellule Th2 CD4+ Cellule T CD8+ Cellule B	- Produzione di citochine - Cito-tossicità cellulare; produzione di citochine - Differenziazione e proliferazione delle cellule B, produzione di immunoglobuline
Interleuchina-2	Cellule T CD4+	Cellule T	- Espansione clonale delle cellule antigene-specifiche; differenziazione ed espressione di citochine; maturazione delle cellule T CD8+
Interleuchina 3	Cellule T	Cellule staminali ematopoietiche	- Proliferazione e differenziazione delle cellule bersaglio
Interleuchina 4	CD4+, cellule Th2	Cellule B Cellule Th1 Cellule Th2 Cellule NK	- Crescita e attivazione delle cellule B; produzione di molecole MHC classe II, interleuchina-6, tumor necrosis factor, CD23; passaggio alla classe IgE; aumento delle IgE, delle IgG1 e IgG4 e inibizione della produzione di IgM, IgG2 e IgG3 - Inibizione della differenziazione delle cellule Th1 e della produzione di interferon γ - Differenziazione delle cellule Th2 - Inibizione della proliferazione
Interleuchina 5	Cellule CD4+, cellule CD8+	Eosinofili	- Proliferazione, chemioattrazione, adesione, attivazione, aumento della sopravvivenza e degranulazione degli eosinofili
Interleuchina 6	Monociti, macrofagi	Cellule B Monociti, macrofagi	- Maturazione delle cellule B in plasmacellule; passaggio dalla classe IgG1 a IgA - Inibizione del lipopolisaccaride; produzione di interleuchina-1 e di tumor necrosis factor α
Interleuchina 7	Cellule stromali del midollo osseo	Cellule pre-B Cellule T	- Proliferazione dei progenitori - Proliferazione delle cellule T attivate
Interleuchina 8	Macrofagi	Neutrofili	Migrazione diretta dei neutrofili verso l'endotelio, ma inibizione dell'adesione di queste cellule
Interleuchina 9	Cellule CD4+ (specialmente Th2)	Cellule B	Aumenta le risposte all'interleuchina 4
Interleuchina 10	CD4+, cellule Th0, cellule Th1, cellule Th2, cellule CD8+	Monociti Macrofagi	- Differenziazione a macrofagi - Inibizione della espressione delle molecole della MHC classe II e della maggioranza delle molecole di adesione; inibizione della produzione dell'interferon γ e del tumor necrosis factor, risultante nel passaggio della differenziazione cellulare da Th1 a Th2; inibizione dell'interleuchina 4 e dell'interferon γ da parte delle cellule Th2
Interleuchina 11	Cellule stromali del midollo osseo	Cellule B e plasmacellule	- Simile a quella dell'interleuchina 6

Interleuchina 12	Monociti e macrofagi	Cellule NK Cellule Th0 Cellule Th1 Cellule Th21	- Attivazione delle cellule natural killer - Produzione e proliferazione dell'interleuchina 2 - Produzione di interferon γ e di fattore necrosi tumorale alfa - Inibizione della produzione di interleuchina 4, 5 e 10
Interleuchina 13	CD4+, cellule Th2	Cellule B Monociti	- Simile a quella dell'interleuchina 4 - Aumento della produzione di molecole della classe MHC II e delle integrine; inibizione della produzione d'interleuchina 1 e di tumor necrosis factor
Interleuchina 14	Cellule T attivate	Cellule B attivate	- Espansione dei cloni di cellule B e soppressione della secrezione di immunoglobuline
Interleuchina 15	Monociti, macrofagi	Cellule T, cellule NK	- Proliferazione e aumentata citotossicità delle cellule bersaglio; espressione delle molecole 3 di adesione intercellulare
Interleuchina 16	Cellule CD8+	Cellule CD4+	- Chemioattrazione, fattore di crescita
Interleuchina 17	Celle CD4+ della memoria	Cellule CD4+	- Proliferazione e attivazione dei fattori autocrini
Interleuchina 18	Macrofagi	Cellule B attivate	- Simile a quella dell'interleuchina 12; inibizione della produzione di IgE da parte dell'interferon γ
Fattore stimolante le colonie di macrofagi	Monociti, fibroblasti, cellule epiteliali	Precursori ematopoietici multipotenziali	- Differenziazione dei monociti
Fattore di crescita derivato dalle piastrine	Alfa granuli delle piastrine, monociti, macrofagi	Fibroblasti e cellule muscolari lisce	- Proliferazione delle cellule bersaglio: chemioattrazione dei fibroblasti, attivazione della guarigione delle ferite, aterogenesi e rimodellamento delle vie aeree
Fattore delle cellule staminali (c-kit ligand)	Stroma del midollo osseo, fibroblasti	Mast cellule	- Chemioattrazione; con interleuchina 3, stimolazione della crescita; induzione della liberazione d'istamina

Questi fattori di trascrizione agiscono sui geni che codificano le citochine infiammatorie, le chemochine, le molecole di adesione e altre proteine che inducono e perpetuano l'infiammazione. I corticosteroidi modulano le risposte infiammatorie, inibendo questi fattori di trascrizione.

La capacità delle citochine d'indurre l'espressione delle molecole di adesione, come la molecola-1 di adesione intracellulare, la molecola-1 di adesione alla parete vascolare e le molecole di adesione dei leucociti all'endotelio, forniscono un meccanismo per l'adesione delle cellule infiammatorie all'endotelio e per la loro migrazione dalla circolazione nella lamina propria, nell'epitelio e in molti casi nel lume stesso delle vie aeree.

L'INFIAMMAZIONE ALLERGICA

Osservazioni sia epidemiologiche che cliniche hanno collegato gli anticorpi IgE con la gravità dell'asma e le risposte, iniziali e successive, delle vie aeree agli allergeni. Per iniziare la sintesi di IgE, gli allergeni inalati debbono incontrare le cellule dendritiche (che fanno parte delle "cellule presentanti l'antigene"), che si trovano nelle vie aeree. Le cellule dendritiche migrano nei linfonodi regionali, dove presentano l'antigene modificato alle cellule T e B.

L'interazione delle cellule dendritiche con le cellule T e B porta a risposte, che sono influenzate dalle citochine e dalla presenza o assenza di molecole co-stimolatrici. Per esempio il passaggio dalle cellule B alla produzione di un particolare isotipo di immunoglobuline richiede due segnali. Per passare alla sintesi di IgE:

il primo segnale è legato all'interleuchina-4 o all'interleuchina-13, che si legano ai recettori sulle cellule B; i recettori sono rappresentati da una catena a comune e usano una stessa via di trasmissione del segnale (STAT-6).

Il secondo segnale deriva dal legame del CD40 della cellula B con il suo ligando sulla cellula T.

Accanto a questi due segnali principali vi possono essere altri segnali fra altre coppie di ligandi e recettori.

Dopo essere state sintetizzate e liberate dalle cellule B, gli anticorpi IgE circolano nel sangue prima di legarsi ai recettori ad alta affinità (Fc ϵ RI) sulla superficie delle mast cellule nei tessuti o sui basofili del sangue. Essi si legano anche ai recettori delle IgE a bassa affinità (Fc ϵ RII o CD23), presenti sulla superficie dei linfociti, degli eosinofili, delle piastrine e dei macrofagi. Non è chiaro se il legame delle IgE ai recettori a bassa attività attivi le cellule e contribuisca all'infiammazione. Comunque sia, i recettori solubili Fc ϵ RII sono importanti

per la regolazione della sintesi di IgE.

Anche il legame molecolare dei recettori FcεRI, che avviene quando l'allergene interagisce con le molecole IgE legate al recettore, causa attivazione della cellula e liberazione di mediatori, in precedenza accumulati o di nuova sintesi.

E' interessante notare che i basofili e le mast cellule possono secernere interleuchina 4 e interleuchina 13 ed esprimere ligandi CD40; tuttavia, poiché la liberazione di citochine dipende dal legame dell'IgE con l'allergene, queste cellule è più facile che amplifichino piuttosto che inducano la sintesi di IgE.

LE MAST CELLULE

Le mast cellule originano dal midollo osseo, entrano in circolo come cellule mononucleate CD34+, positive inoltre per il fattore delle cellule staminali e FcεRI, viaggiano verso le sedi della mucosa e della sottomucosa nelle vie aeree e sottostanno alla maturazione specifica di tessuto. Il legame delle IgE sulle mast cellule con l'allergene induce l'attivazione delle vie membranosa e citosolica, che causano rilascio dei mediatori preformati, come l'istamina, e iniziano la sintesi dei metaboliti dell'acido arachidonico (leucotrieni).

Esistono due popolazioni di mast cellule:

- quelle con triptasi e
- quelle con triptasi e chimasi

Non è ancora chiaro il ruolo dell'uno e degli altri enzimi, comunque gli inibitori delle triptasi modulano la risposta delle vie aeree agli allergeni.

Le mast cellule contengono anche protidoglicani con diverse funzioni e proprietà biologiche. Esse producono inoltre molte citochine, come IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, il fattore stimolante le colonie di granulociti e macrofagi, l'interferon γ, e il tumor necrosis factor α. La potenzialità di queste citochine rende possibile che le mast cellule contribuiscano all'infiammazione allergica, sia acuta che cronica.

Nei pazienti con asma l'allergene inalato induce l'ostruzione acuta delle vie aeree, iniziando la liberazione da parte della mast cellule di istamina e leucotrieni, che causano la costrizione della muscolatura liscia. Questa reazione precoce si risolve in un'ora. 4-6 ore più tardi, si sviluppa una reazione tardiva, prolungata con ostruzione delle vie aeree, come conseguenza delle citochine e delle chemochine, prodotte dalle cellule infiammatorie locali, cioè dalle stesse mast cellule, dai macrofagi e dalle cellule epiteliali, e dalle cellule infiammatorie accorse in situ (linfociti ed eosinofili).

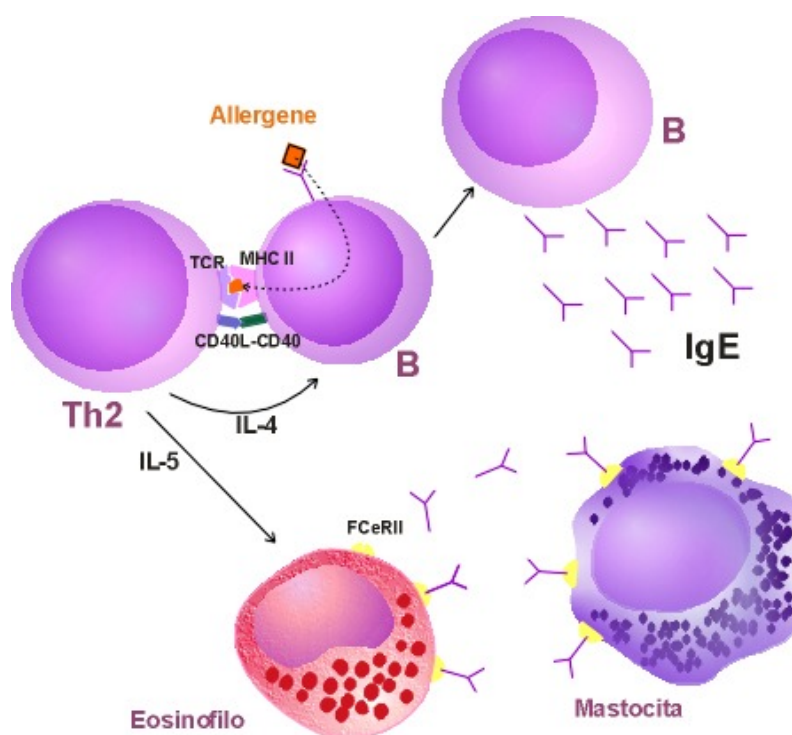


Figura 1. Interazione fra cellule T CD4+ e cellule B, importanti per la sintesi di IgE.

L'interleuchina-4 e l'interleuchina-13 forniscono il primo segnale alle cellule B, che passano alla produzione di IgE. Il secondo segnale è offerto dalle coppie accessorie delle molecole, come le integrine αLβ2 e la molecola 1 di adesione intercellulare, e CD40 e sua ligandina. L'assunzione dell'allergene da parte del complesso, recettore della cellula T e CD3 sull'MHC di classe II del complesso maggiore di istocompatibilità delle cellule B, porta alla rapida espressione

della ligandina CD40. Quando formato, l'anticorpo IgE circola nel sangue, eventualmente legato sia ai recettori ad alta affinità (FcεRI) che a quelli a bassa affinità (FcεRII o CD23). Dopo aver incontrato l'antigene, il legame ai recettori ad alta affinità produce la liberazione di mediatori già formati o prodotti ex novo. Una volta presenti nei vari tessuti, i mediatori producono vari effetti fisiologici, a seconda dell'organo bersaglio.

GLI EOSINOFILI

La formazione degli eosinofili inizia nel midollo osseo ed è regolata dall'interleuchina-2, IL-5 e dal fattore stimolante le colonie di granulociti e macrofagi. L'interleuchina 5 porta alla differenziazione finale degli eosinofili immaturi. L'eosinofilo maturo ha nel citoplasma granuli densi, dai quali derivano le proteine infiammatorie, inclusa la proteina basica maggiore, la neurotossina derivata dagli eosinofili e la proteina cationica. La proteina basica maggiore in particolare può danneggiare direttamente le vie aeree, aumentando la reattività bronchiale e causando la degranulazione dei basofili e delle mast cellule. Questi effetti aumentano la gravità dell'asma. Gli eosinofili inoltre sono una fonte importante di leucotrieni, particolarmente del cysteinyl-leucotriene C4, che fa contrarre la muscolatura liscia delle vie aeree, aumenta la permeabilità vascolare e può portare la maggioranza degli eosinofili nelle vie aeree.

Numerose citochine regolano la funzione degli eosinofili e delle altre cellule nell'asma. L'IL-5 stimola la liberazione de-

gli eosinofili in circolo e prolunga la loro sopravvivenza. Il carico di allergeni nelle vie aeree aumenta la concentrazione locale di IL-5, che si correla immediatamente con un aumento di eosinofili nelle vie aeree.

Per partecipare alle risposte infiammatorie allergiche l'eosinofilo deve migrare dal torrente circolatorio alle vie aeree. Il primo passo è rappresentato dal "rotolamento" cellulare, mediato dalla P-selectina sulla superficie degli eosinofili. Il rotolamento attiva eosinofili e richiede la partecipazione delle classi b1 e b2 delle integrine sulla superficie degli eosinofili. L'interazione fra le integrine b2 sugli eosinofili e la molecola 1 di adesione intracellulare del tessuto vascolare sembra essere importante per la migrazione transendoteliale degli eosinofili. E' vero che le b1 e b2 integrine si ritrovano di norma sulla superficie degli eosinofili, ma la loro attività è regolata da diverse citochine e chemochine.

La chemochina RANTES, una proteina infiammatoria la dei macrofagi, e le eotassine giocano un ruolo centrale nell'afflusso di eosinofili alle vie aeree.

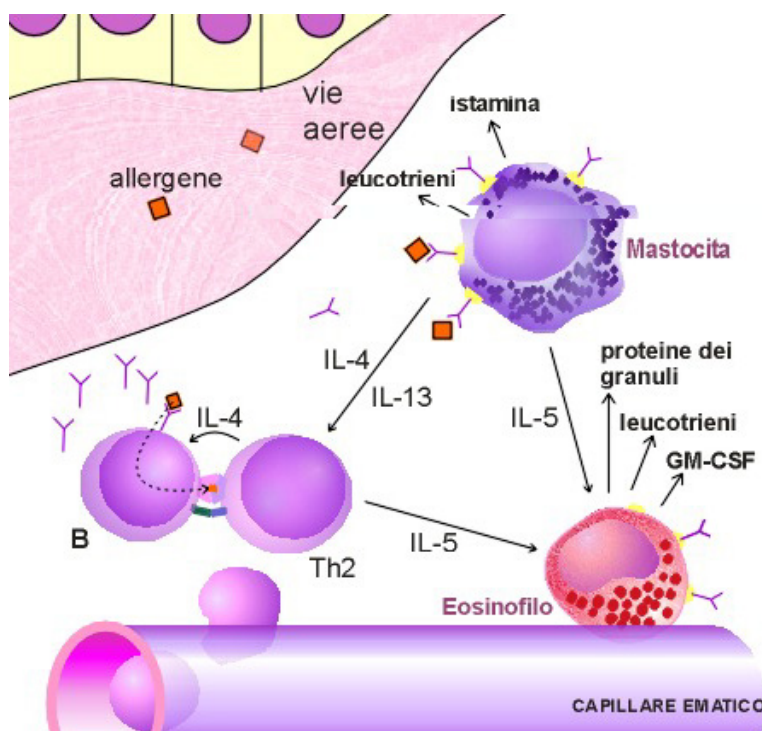


Figura 2. Il ruolo degli eosinofili nell'infiammazione allergica.

L'antigene inalato attiva le mast cellule e i linfociti Th2 nelle vie aeree. Esso inoltre induce la produzione dei mediatori dell'infiammazione (istamina e leucotrieni) e di citochine, inclusa l'IL-4 e IL-5. L'interleuchina-5 raggiunge il midollo osseo e determina la differenziazione finale degli eosinofili. Gli eosinofili circolanti entrano nell'area dell'infiammazione allergica e iniziano a migrare verso il polmone rotolando, attraverso l'interazione delle selectine ed eventualmente aderendo all'endotelio con il legame delle integrine con i membri della superfamiglia delle proteine di adesione: la molecola 1 di adesione delle cellule vascolari (VCAM-1) e la molecola 1 di adesione intercellulare (ICAM-1). Quando gli eosinofili entrano nella matrice delle vie aeree, grazie all'azione di di-

verse citochine e chemochine, la loro sopravvivenza è prolungata dalla IL-5 e dal fattore stimolante le colonie di granulociti e macrofagi (GM-CSF). Quando attivato l'eosinofilo libera mediatori dell'infiammazione, come i leucotrieni e le proteine dei granuli che ledono i tessuti delle vie aeree. Inoltre gli eosinofili possono produrre GM-CSF per prolungare e potenziare la loro sopravvivenza e contribuire alla persistenza dell'infiammazione delle vie aeree. Con la sigla MCP-1 viene indicata la proteina chemiotattica dei monociti e con la sigla MIP-1a la proteina infiammatoria dei macrofagi.