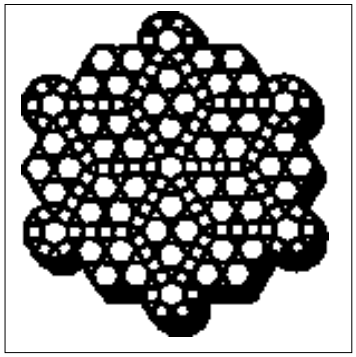
Caleidoscopio



Gianfranco Santini
Paolo De Paoli
Giorgio Mucignat
Giancarlo Basaglia
Daniele Gennari

Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti

Servizio di Microbiologia-Immunologia
Ospedale Civile
Pordenone

59

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

MEDICAL
SYSTEMS S.P.A.

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. (010) 83. 401
Stampato a Genova 1991.

Editoriale

Lo studio delle molecole cellulari di superficie che sono coinvolte nelle interazioni tra il sistema immune e le cellule non ematopoietiche nei vari microambienti è attualmente un'area di grande interesse.

Questa monografia mette a fuoco la tematica delle molecole che sono coinvolte nel processo di adesività delle cellule immunitarie ed in particolare dei linfociti.

Per capire l'importanza di questo tema è sufficiente considerare che la migrazione linfocitaria sia verso gli organi linfoidi secondari che verso le lesioni infiammatorie è una fase critica della funzione del sistema immune (poiché aumenta l'efficienza della risposta immune regionale e permette la distribuzione di cellule effetrici indotte localmente su sedi di infiammazione distanti).

La fase cruciale nel processo di migrazione è la capacità dei linfociti di aderire alle cellule endoteliali vascolari (EC) che rivestono le venule post-capillari (HEV) e questo processo di riconoscimento ed adesione è mediato proprio da sistemi recettore/ligando che consiste da una parte dalle molecole di superficie linfocitarie e dall'altra da recettori vascolari espressi dalle cellule endoteliali specializzate, durante la risposta immune.

Benché non sia noto il meccanismo di induzione di questi ligandi endoteliali, si ritiene che siano coinvolte le citochine.

E' proprio l'espressione differenziale dei recettori di superficie linfocitari che spiegano i patterns di migrazione preferenziale di distinte sottopopolazioni linfocitarie.

L'identificazione e l'isolamento di questi sistemi recettore/ligando porterà nuova luce sulla specializzazione regionale della risposta del sistema immune e sulla fisiopatologia dei processi infiammatori nei diversi organi e tessuti.

Gli Autori di questa monografia rappresentano un affiatato e motivato gruppo di ricerca coordinato dal dinamico Professor Gianfranco Santini Primario del Servizio di Microbiologia-Immunologia dell'Ospedale Civile di Pordenone, ormai giunto ad oltre trecento pubblicazioni scientifiche e si sono occupati come protagonisti di queste problematiche portando avanti delle ricerche del tutto originali, pubblicando dei risultati interessanti sulla espressione di LFA 1a nelle leucemie linfatiche croniche B e partecipando attivamente a numerosi convegni sull'argomento.

L'aggiornata stesura e la tempestività della pubblicazione penso possa fornire un utile aiuto a tutti i nostri lettori.

Sergio Rassu

Ringraziamenti

Si ringrazia vivamente la sig.na Miot Ornella per la preziosa collaborazione nella stesura del manoscritto.

Generalità

L'Adesione Cellulare è un fenomeno estremamente complesso reso possibile dalle molecole dell'adesione. L'adesione, che può essere omotipica: tra cellule omologhe (linfocita-linfocita) ed eterotipica: tra cellule eterologhe (linfocita-endotelio), ha segnato una importante tappa evolutiva filogenetica permettendo l'organizzazione da organismi unicellulari a organismi pluricellulari.

Tale adesione, omofilica (tra due molecole uguali) ed eterofilica (tra due molecole diverse), è mediata da particolari molecole, genericamente denominabili Adesine, che hanno una fondamentale importanza e nella vita embrionale e nella vita postembrionale, creandone e mantenendone l'architettura e permettendone le fisiologiche interazioni cellulari, tra cui quelle immunologiche (39).

L'adesione può essere distinta in intercellulare (cell-cell) ed extracellulare (cell-matrix) con il coinvolgimento di numerose molecole (Tab. 1a).

Adesine interagenti nell'adesione omotipica ed eterotipica linfocitaria

Recettori	LFA-1	LFA-2	T3-TCR	T4	T8	VLA-4	LAM-1
Controrecettori:	ICAM1-2	LFA-3	Ag-MHC	MHC-II	MHC-I	VCAM-1	?

Adesine interagenti con le proteine della matrice extracellulare:

VLA-1 VLA-2 VLA-3 VLA-5

Tabella 1a. Adesine coinvolte nei rapporti cell-cell e cell-matrix. LFA=Lymphocyte Function-associated Antigen. TCR= T-cell Receptor, ICAM=inter-cell-adhesion-molecule.

Le molecole che intervengono nella adesività immunologica appartengono:

1) alla Famiglia delle Integrine;
2) alla Superfamiglia delle Immunoglobuline;
3) alla Famiglia delle Molecole dell'adesione cellulare ad azione lectino-simile o Selectine e
4) alla famiglia delle Caderine (NHogg) (19, 21, 28, 29, 31, 33, 34, 35, 39, 40, 47,48).

Tale universo molecolare verrà necessariamente ridotto, limitandolo fondamentalmente alle cellule linfocitarie. In questa monografia focalizzeremo la nostra attenzione prevalentemente su alcune molecole appartenenti alla Superfamiglia delle Integrine (Tab. 1b e 1c), su quelle appartenenti alla Superfamiglia delle Immunoglobuline (Tab. 2), e su alcune molecole appartenenti alla Famiglia delle molecole dell'adesione cellulare ad azione lectino-simile (o Selectine) (Tab. 3).

Tale analisi metterà in evidenza il ruolo delle Integrine nelle interazioni cooperanti cellulari immunocompetenti (20, 21, 39, 40) e nelle interazioni con i ligandi delle matrici

extracellulari (20, 39, 40, 46), ed il ruolo delle molecole dell'adesione cellulare ad azione lectino-simile nella migrazione selettiva linfocitaria (10, 15, 18, 21, 31, 48).

La Superfamiglia delle Integrine (Integrin Family) è composta da glicoproteine transmembrana eterodimeriche, formate cioè da due catene, rispettivamente α e β, non legate covalentemente. In rapporto al tipo di catena β possono essere distinte in sei subfamiglie, i cui membri si distinguono per l'individualità della loro catena α (16, 20, 39, 40, 46) (Fig. 1).

Le catene α, infatti, in numero di dodici, distinguibili tra loro, presentano una identità media del 40%-50%, nelle loro sequenze aminoacidiche (con variazioni tra un minimo di 20% ed un massimo di 65%). Tali catene vengono designate come α1, α2(C)(CD49b), α3, α4(CD49d), α5, α6(E)(CD49f), αL(CD11a), αM (CD11b), αX(CD11c), αIIb(CD41), αV(CD51), αR. Le catene β, invece, sono distinguibili, pur presentando anch'esse una omologia media del 40%-50%, con una identità, nelle loro sequenze aminoacidiche, variante tra un minimo di 37% ed un massimo di 47%, in numero di sei: tali catene vengono designate β1(CD29), β2(CD18), β3(CD61), β4, β5(X), β6(P). Il gruppo delle catene α, designate come α1, α2, α3, α4, α5, α6, si associano in maniera specifica e

	Nomi	Classificazione	Subunità
Subfamiglia β1:	VLA-1	CD-29	α1/β1
	VLA-2 (GPIA/IIA, ECMRII)	CD49B-CD29	α2/β1 (αc/β1)
	VLA-3 (ECMRI)	CD-CD29	α3/β1
	VLA-4 (LPAM-1)	CD49D-CD29	α4/β1
	VLA-5 (GPICA/IIA, ECMRVI-FNR)	CD-CD29	α5/β1 (αF/β1)
	VLA-6 (GPIC/IIA)	CD49F-CD29	α6/β1
		CD51-CD29	αV/β1
Subfamiglia β2:	LFA-1	CD11A/CD18	αL/β2
	CR-3 (MAC-1)	CD11B/CD18	αM/β2
	CR-4 p150, 95	CD11C/CD18	αX/β2
Subfamiglia β3:	GPIIB/IIIA	CD41/CD61	αIIB/β3
		CD51/CD61	αV/β3
	VNR		αR/β3
	LIR		
Subfamiglia β4:	α Eβ4	CD49T/CD	α6/β4
Subfamiglia β5:	α vβs (avβx)	CD51/CD-	αV/β5
Subfamiglia β6:	LPAM-2	CD49D/CD	α4/βP

Tabella 1b. Famiglia delle integrine.

Tipo di tumore	Sesso	Tassi/100.000 persone 0-14 anni per: 1955-58	1959-62	1963-66	1967-70	1971-74	1975-78	Variazioni dei tassi: 1975-78 Assoluta	1955-78 Percentuale
Tutte le leucemie	M	4.53	4.94	4.51	4.38	3.82	3.60	-0.93	-20.5
	F	3.67	3.86	3.89	3.61	3.15	2.54	-1.13	-30.8
Linfoma di Hodgkin	M	0.65	0.69	0.61	0.43	0.31	0.27	-0.38	-58.5
	F	0.24	0.29	0.23	0.15	0.12	0.12	-0.12	-50.0
					0.86	0.83			
Tutti gli altri linfomi	M	0.80	0.94	0.94	0.38	0.43	0.66	-o.14	-17.5
	F	0.48	0.45	0.57			0.28	-0.20	-41.7
					0.47	0.40			
Rene, principalmente tumore di Wilms	M	0.42	0.47	0.43	0.34	0.44	0.32	-0.10	-23.8
	F	0.42	0.43	0.46			0.31	-0.11	-26.2
					0.10	0.06			
Occhi, principalmente retinoblastoma	M	0.12	0.12	0.11	0.12	0.06	0.08	-0.04	-33.3
	F	0.12	0.12	0.18			0.04	-0.08	-66.7
					0.54	0.38			
Ossa	M	0.46[a]	0.40	0.45	0.40	0.41	0.33	-0.13	-28.3
	F	0.40[a]	0.32	0.36			0.26	-0.14	-35.0
					3.94	3.78			
Altri tumori specificati e non specificati, benigni e maligni	M	3.52	3.94	3.79	3.30	3.23	3.45	-0.07	-2.0
	F	3.02	3.35	3.36			2.86	-0.16	-5.3
					10.72	9.58			
Totale (tutti i tumori, tutti i tipi istologici)	M	10.50	11.50	10.84	8.30	7.84	8.71	-1.79	-17.0
	F	8.35	8.82	9.05			6.41	-1.94	-23.2

Tabella 1. Tassi standardizzati per età di certificazione di morte/100.000 persone sotto i 15 anni per diversi tumori o gruppi di tumori. Italia, 1955-'78. [a)] 1956-58.

Nomi	Classificazione	Distribuzione prevalente	Interazione
T11 (LFA-2)	CD2	T, Ty, LGL	LFA-3
LFA-3	CD58	vasta	LFA-2
ICAM-1	CD54		LFA-1
ICAM-2			LFA-1
T4	CD4	T, Ty, M, MO	MHC-II
T8	CD8	T, Ty, LGL	MH-I
MHC-I		vasta	T8
MHC-II		ristretta	T4
T3 (TCR)	CD3	T	AG/MHC-R
VCAM		E	VLA-4

Tabella 2. Membri della superfamiglia delle immunoglobuline, impegnati anche quali adesine.

costante con le catene β1, con l'eccezione per la catena α6 che si associa, in maniera promiscua quindi, anche con la catena β4 (24), e per la catena α4 che si associa alla β6(BP); il gruppo delle catene α, designate come αL, αM, αX si associa, in maniera specifica e costante, con la catena β2, il gruppo invece delle catene αIIb, αV e αR si associa con la catena β3 e con la catena β5(BX), limitatamente per la αV (che può associarsi anche con la β1). Questa specificità di associazione non solo consente la classificazione delle Integrine nelle sei sottofamiglie, ma anche conferisce la base della loro configurazione specifica e quindi della loro specifica funzionalità. L'associazione infatti di diverse catene α, pur con una stessa comune catena β, crea recettori a specificità diversa; specificità quindi che dipende dalla configurazione che entrambe le catene vengono ad assumere (32, 33, 40). Nascono così le individuali molecole eterodimeriche recettoriali con i loro siti di legame e di non legame, di attivazione e di non attivazione, i cui epitopi possono essere evidenziati mediante opportuni anticorpi monoclonali (6, 12, 14, 26, 38, 44). In tali strutture molecolari recettoriali si possono distinguere tre porzioni e cioé una extracellulare, una transmembrana ed una intracellulare; a sua volta, la porzione extracellulare può essere suddivisa in ulteriori porzioni definibili come domini (20, 21,

Nomi	Classificazione	Distribuzione
MEL-14 (LAM-1)		Linfociti, neutrofili
ELAM-1		Cell. endoteliali attivate
GMP-140 (PADGEM)	CD62	Cell. endoteliali attivate-piastrine
HERMES (PGP-1)*	CD44	T, pre-B, G
* Non appartiene alla famiglia delle selectine		

Tabella 3. Membri della famiglia delle selectine, impegnati quali adesine.

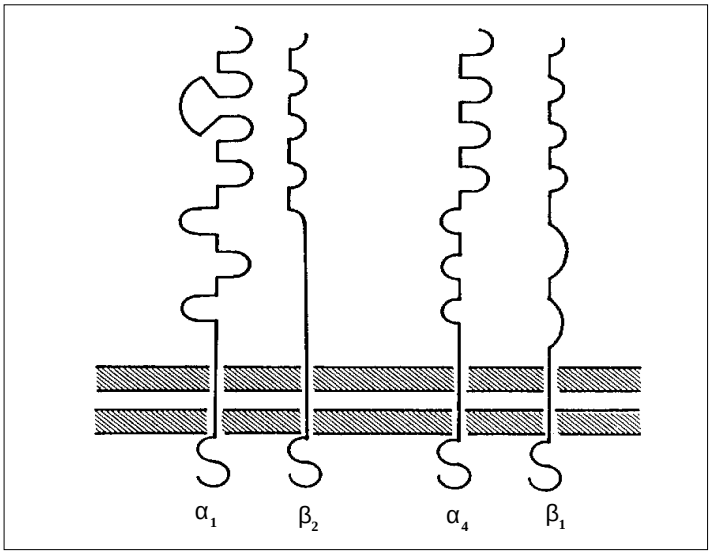


Figura 1. Due rappresentanti molecolari della Famiglia delle Integrine nelle loro due subunità costitutive: LFA-1 e VLA-4 (vedi testo).

24, 33, 40). Tali domini nelle catene α, di circa 35-60AA, si presentano in forma ripetitiva, da un minimo di tre ad un massimo di sette, tra cui si possono evidenziare quelli con il caratteristico motivo deponente per la capacità legante cationi (quali Ca^{++}, Mg^{++}, Mn^{++}).

A questo riguardo le catene αL, αM, αX contengono sette di queste sequenze (I-VII) di cui tre (V-VII) a capacità legante i cationi non solo a funzione stabilizzante l'eterodimero, ma anche a funzione interagente con il suo naturale ligando (ICAM-1 per LFA-1) in cui Mg^{++} e Ca^{++} sarebbero necessari, anche se l'intervento del Ca^{++} potrebbe essere discutibile. Le catene αL, αM, αX, a cui si associa la catena α2, contengono un dominio di circa 200AA, soprannumerario, indicato con la lettera I (per Inserte o Interactive), collocato tra i domain ripetitivi II e III ed è caratterizzato dalla presenza di sequenze omologhe a quelle delle proteine a capacità legante il collageno (VLA-2) e ai Fattori del Complemento (C2,B) e può servire quale ulteriore sequenza a funzione ricognitiva per il ligando specifico (21, 40). La porzione citoplasmatica α è più corta ed è senz'altro di indubbia importanza funzionale come lasciano ipotizzare i suoi siti di fosforilazione (12, 17, 20, 40). Tali domini, invece, nelle catene β, pur presentandosi in forme ripetitive, si caratterizzano per le loro ricchezze in residui di cisteina, pari ad un 20% sino anche ad un equivalente di 56 residui cisteinici (20).

A questo riguardo la β2 presenta 3-4 di tali sequenze, costituite da circa 40 aminoacidi ed in ognuna di tali sequenze sono presenti 8 cisteine (a questa regione ne segue una ulteriore, composta da quattro segmenti, altamente conservata). La porzione transmembrana delle catene β è altamente conservata, e questo potrebbe deporre, per i suoi rapporti con i gangliosidi di membrana, per una sua attività modulante. La porzione citoplasmatica β, corta (di 28-41 aminoacidi) è essa pure conservata e sarebbe caratterizzata da siti di fosforilazione tirosinici, analoghi a quelli dell'EGF e del Recettore per

l'insulina, tali siti di analogia sarebbero assenti nella β2, che pur presentano siti di possibile fosforilazione per la presenza di 4 serine, 3 treonine e 1 tirosina (probabilmente importanti per la trasmissione segnaletica bidirezionale). Queste catene β possono avere rapporti con la talina del citoscheletro e da ciò una loro indubbia importanza segnaletica (in-side out signaling) che si va ad aggiungere a quella già nota di trasporto in superficie delle catene α e della stabilizzazione di queste ultime nella costruzione del recettore specifico di adesività (13, 20, 33).

I Recettori dell'Adesività Integrinici devono questa loro funzione alla capacità di legarsi, per la grande maggioranza, alle sequenze aminoacidiche di Arginina, Glicina, Acido Aspartico (RCD) con un certo grado di libertà per eventuali residui, quali Serina o Valina (RGD-X) a livello del ligando (16, 32, 33, 35, 40). Quindi la sequenza RGD-X viene a rappresentare il segnale di adesione, che pur essendo comune a vari recettori, non interferisce con la loro specificità nel discriminare i vari specifici ligandi, per cui è intuibile che la loro specificità si estende oltre alla sequenza RGD-X. E' possibile quindi ipotizzare che la sequenza RGD-X rappresenta un comunitario sito di legame, mentre un secondo sito di legame sarebbe responsabile della specificità, oppure le sequenze aminoacidiche circoscriventi la sequenza RGD-X, che possiede tutte le informazioni per l'adesione, ne creerebbero la sua conformazione specifica per l'opportuno e idoneo recettore. Rimane comunque certo che le sequenze aminoacidiche viciniori a RGD-X ricoprono un ruolo importante e che non sempre la sequenza RGD-X è il cardine della reazione di adesione, come rimane certo anche che la sequenza RGD-X può presentarsi in una configurazione definibile attiva o inattiva e che sequenze di particolari aminoacidi, differenti da RGD-X, possono mimare tale RGD-X sequenza. Tale sequenza RGD, quale appunto sito di riconoscimento, è presente in numerose proteine, in forma singola o in forma multipla, e della Matrice Extracellulare e delle Piastrine; ed un suo ruolo è ravvisabile nelle molecole del Collagene di tipo 1, ma anche non di tipo 1, della Fibronectina, della Vitronectina, dell'Osteopontina, della Laminina, della Trombospondina, del Fattore di von Willebrand e dell'iC3b.

La sua presenza, comunque, non deve essere considerata un segnale di riconoscimento adesivo obbligatorio, come anche la sua assenza. A questo proposito ricordiamo che l'ICAM-1, che appartiene alla famiglia molecolare delle immunoglobuline, il naturale ligando del LFA-1, non contiene la sequenza RGD, bensì la sequenza di Arginina, Valina, Glucina (RVE) tra il primo ed il secondo dominio e la sequenza di Arginina, Glicina, Glucina, Lisina, Glucina (RGEKE) nel secondo dominio (1, 9, 10, 11, 12, 34, 35, 39, 40, 41). Per inciso, in questo contesto richiamo che il dominio immunoglobulinico, cardine della loro funzionalità molecolare, è un doppio piano β, antiparallelo, costituito da catene β, legato covalentemente da un doppio ponte disolfurico cisteinico (47). In linea con l'importante ruolo svolto dalle molecole appartenenti alla Superfamiglia delle Immunoglobuline nella risposta immune, anche l'ICAM-1 ricopre, quale ligando per l'LFA-1, un ruolo centrale nelle interazioni cellulari immunocompetenti, a cui cooperpartecipano, a livello linfocitario, il TCR-T3 complex, il T4 ed il T8, il T11 associatamente alle molecole di classe prima e seconda del Complesso Maggiore di Istocompatibilità che sono appunto tutte membri della Superfamiglia delle Immunoglobuline: questo insieme molecolare deve raggiungere un alto grado di cooperazione specializzata affinché l'interazione tra le cellule immunocompetenti sia efficace ed equilibrata (2, 5, 7, 11, 30, 34, 35, 39, 40, 41, 42, 43) (Fig. 2).

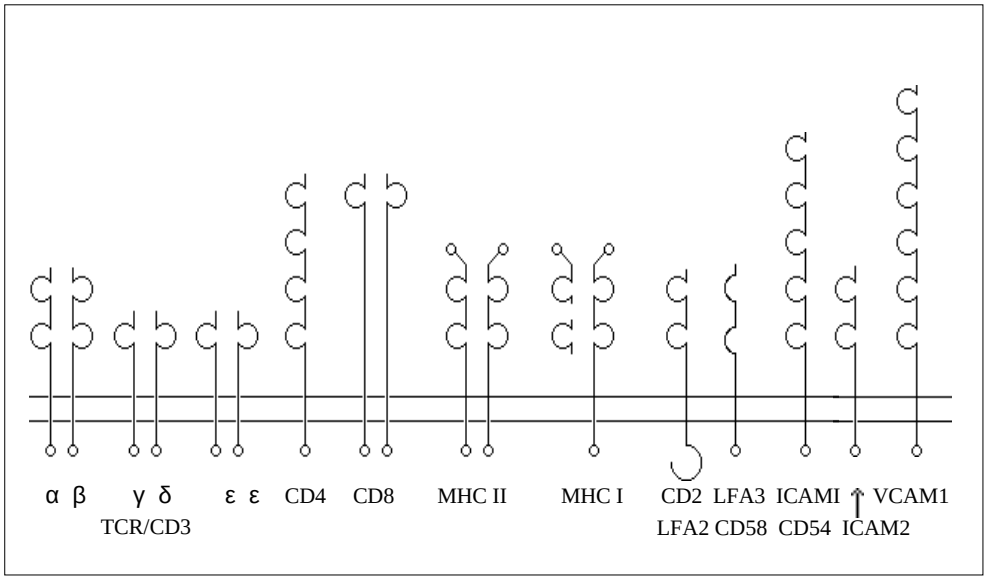


Figura 2. Membri molecolari appartenenti alla Superfamiglia delle Immunoglobuline con il loro caratteristico dominio immunoglobulinico (vedi testo).

Integrine nelle interazioni cellulari immuno-competenti

Nell'ambito quindi delle Interazioni Cellulari Immunocompetenti, l'LFA-1, appunto quale molecola dell'adesività, viene ad occupare nell'Immuno-Risposta un proteiforme ruolo centrale, che si traduce in una aumentata efficienza sia in Sistemi Antigene Indipendenti, sia in Sistemi Antigene Dipendenti (39). L'Adesione LFA-1 mediata-Ag-Indipendente è una adesione omotipica o eterotipica ed eterofilica, media quindi le interazioni di contatto tra cellule T-T, T-B, T-M, osservabile anche nei B linfoblastoidi e nei Macrofagi INFγ attivati, per cui non è ristretta a particolari subsets cellulari, come non è ristretta dal Complesso Maggiore di Istocompatibilità.

E' considerata una capacità nativa dell' LFA-1 e/o una capacità acquisita nell'attivazione (da Periodato, da Lectina, da LPS, da Esteri Forbolici, da MAb e da AMLR) (12, 30, 39, 40, 42). LFA-1 parteciperebbe, nel fenomeno adesivo, non associatamente, e quindi in maniera primaria, ad altre strutture di adesione e/o coopparteciperebbe associatamente, e quindi in maniera secondaria, ad altre strutture di adesione (42). Questo fenomeno di adesione ha come conseguenza immediata la formazione di coniugati cellulari e può essere schematicamente articolato in una prima fase di adesione riconoscitiva, in una seconda fase di attivazione, con modificazione dell'LFA-1 con sua attivazione, ed in una terza fase di adesione aggregante, con formazione di clusters; come conseguenza tardiva questo fenomeno porta alla Trasformazione Blastica.

Per inciso, in questo contesto ricordo come la molecola LFA-1 può presentare una funzione comitogenica (Stimolazione Associata a TCR-CD3). Fondamentalmente l'Adesione Ag-Indipendente e la conseguente formazione dei coniugati cellulari sarebbe LFA-1-ICAM-1 mediata senza o con compartecipazione del sistema molecolare adesivo LFA-2-LFA-3. Tali coniugati cellulari Ag-Indipendenti si formerebbero rapidamente, frequentemente e fortemente come i coniugati Ag mediati. Le cellule T nella grande maggioranza utilizzerebbero entrambe le due vie nella formazione di questi coniugati cellulari, come è desumibile dalla loro inibizione parziale ottenibile con i singoli MAb vs LFA-1, LFA-2, LFA-3 e dal loro blocco completo ottenibile con i MAb vs LFA-2 e LFA-1 o vs LFA-3 e LFA-1. Per quanto concerne la via LFA-1-ICAM-1: l'LFA-1 è critico per la cellula effettrice e l'ICAM-1 per la cellula target; invece per la via LFA-2-LFA-3: l'LFA-2 è critico per la cellula effettrice, l'LFA-3 è critico per la cellula target.

Gli AIC quindi impiegano i sistemi molecolari LFA-1-ICAM-1//LFA-2-LFA-3 e sono stati evidenziati non solo tra CTL e Target, ma anche tra T e B, tra T e APC, sia in cellule T resting, sia in cellule T stimolate in maniera primaria ed in maniera secondaria. L'interazione degli AIC può perdurare anche per 18', ma non comporterebbe a livello del citoplasma quelle modificazioni che si verificano nell'Adesione Antigene Dipendente, sempre LFA-1 mediata.

Queste osservazioni sostanzierebbero l'ipotesi che l'Adesione Ag-Indipendente rappresenterebbe uno stadio critico nel fenomeno riconoscitivo da parte delle cellule T. AIC potrebbe essere effettivamente una fase critica in quanto le cellule interagenti potrebbero formare dei ponti intermolecolari in grado di vincere le mutualmente repulsive forze di superficie cellulari, permettendo l'attivazione, da parte delle basse concentrazioni, dei complessi molecolari Ag-MHC; potrebbe anche essere una fase critica in quanto avrebbe una estensione nello spazio e nel tempo adeguata per la specifica stimolazione antigenica. In assenza infatti di questa fase di adesione Ag-indipendente, l'area ed il tempo di contatto sarebbero insufficienti al verificarsi della stimolazione e quindi della attivazione: la brevità dell'incontro cellulare non permetterebbe la formazione del complesso TCR-T3-Ag-MHC, per la bassa probabilità della sua formazione alle normali basse concentrazioni dell'Ag nella risposta immune; le molecole dell'adesione, invece, prolungherebbero il tempo e lo spazio dell'adesione cosicché le probabilità dell'incontro del TCR-T3 e dell'Ag-MHC aumenta e con essa la possibilità dell'attivazione.

Se tale attivazione non si verifica, avviene il fenomeno della deadesione, che è sempre un processo attivo. Le numerose vie di adesione non sarebbero da considerare dei sistemi ridondanti, ma sarebbero da considerare dei sistemi specifici e finemente regolanti l'affinità e l'avidità delle varie strutture molecolari adesive (principalmente mediante cambi conformazionali e processi di fosforilazione) e finemente regolati in rapporto alle interazioni tra differenti tipi cellulari. Importante quindi l'affinità e l'avidità delle molecole LFA-1, che sono reversibilmente modificabili nel processo di Adesione-Attivazione, come importante è la loro numerosità: con LFA-1 pari a 100 micron quadrato non si verificherebbe l'adesione, con LFA-1 pari a 150-1000 micron quadrato si verificherebbe l'adesione. Naturalmente è importante anche la numerosità del Controrecettore ICAM-1, che è inducibile dalle citochine (IL-1, INF-γ, TNF).

Tale meccanismo di induzione richiede almeno un tempo di 4-6 ore, con un crescente massimo dalle 9 alle 24 ore ed è regolato a livello del mRNA, in maniera paragonabile a quella dell'LFA-2 e dell'LFA-3 (40) (Tab. 4).

L'Adesione LFA-1 mediata Ag dipendente è, di conseguenza, essa pure una adesione omotipica o eterotipica ed eterofilica ed avverrebbe con un meccanismo coinvolgente il TCR ed il suo specifico epitopo antigenico MHC-R e Mg^{++} dipendente, mediando quindi le interazioni di contatto tra T-APC, tra TH-B e tra T CTL-Target e avrebbe come conseguenza immediata, attraverso la sequenza delle fasi precedentemente scritte, la formazione di coniugati e come conseguenza meno immediata fenomeni helper, citotossici, proliferativi e differenziativi (12, 30, 39, 40, 42) (Fig. 3).

La reazione tra TCR-T3 e Ag-MHC coinvolgerebbe, regolandola, l'interazione tra LFA-1 e ICAM-1, modificando l'avidità dell'LFA-1 che da un basso livello sarebbe portata ad un alto livello, mentre la sua espressione in superficie non verrebbe (grandemente) modificata (non così per ICAM-1 che, costitutivamente avido, aumenterebbe in numerosità). Tale modificata attività funzionale dell'LFA-1 raggiunge un massimo in 5'-10'dopo stimolazione TCR-mediata, per ritornare entro 30' allo stato normale di bassa avidità, che può essere riconvertito nuovamente in uno stato di alta avidità mediante stimolazione con esteri forbolici senza, però, ritorno allo stato basale di avidità. Questi riscontri, oltre a collegare TCR e LFA-1, indicherebbero l'intervento di processi di

Molecole di adesione Ag-indipendente: - - - > formazione di AIC
Proprietà nativa e/o proprietà maturativa (acquisita nell'attivazione)
Media l'adesione omotipica e l'adesione eterotipica, non MHC-R, tra T-T/T-B/T-M
Compartecipa alla funzione proliferativa

Molecola di adesione Ag -dipendente: - - - > formazione di ADG
Media l'interazione, MHC-R, tra T-APC/Th-B/CTL-Target
Compartecipa alla funzione proliferativa, differenziativa, helper, citotossica
I rapporti tra adesione Ag-indipendente ed Ag-dipendente sono da definire
I rapporti tra Adesione-Attivazione LFA-1/ICAM-1 ed Attivazione alternativa e Attivazione classica sono da definire.

Funzionalità dell'LFA-1
Complessità non inquadrabile in rigidi schemi nè temporali, nè spaziali data la complessità e la molteplicità delle adesine.

Tabella 4. Funzioni dell'LFA-1 nelle interazioni cellulari immunocompetenti.

fosforilazione PKC-mediati, che medierebbero quindi la cooperazione tra TCR-T3 e LFA-1 nel riconoscimento specifico antigenico. Il contatto infatti del TCR-T3 con l'Ag MHC indurrebbero una serie di segnali che convertirebbero l'LFA-1 da uno stato di bassa avidità ad uno stato di alta avidità e tale conversione avverrebbe con spesa di energia; questa spesa di energia permetterebbe ad una ipotetica forma immatura ed inattiva di LFA-1 (incapace di funzionare come molecola aggregante) prima di maturare a forma inattiva (acquisizione dell'epitopo di attivazione NK1-L16) e successivamente a forma matura attiva; queste due ultime forme sarebbero regolate dalla PKC, che a sua volta è attivata principalmente dal 1-2 diacilglicerolo (DAG), derivato dal Fosfatidil-Inositolo-bifosfato (PIP2) assieme all'Inositolo Trifosfato (IP3), Ca^{++} mobilizzante, per azione della Fosfolipasi C (PLC) a sua volta, mediante la GTP, stimolata dall'attivazione del TCR (o anche da un altro recettore di adesività, quale il CD2). Questa maturazione quindi dell'LFA-1 ne favorirebbe l'adesione cellulare ICAM-1 dipendente, rendendola maggiormente stabile, in quanto il legame tra TCR e Ag MHC non sarebbe tale da stabilizzare l'adesione intercellulare, ma sarebbe invece in grado di innescare un meccanismo di amplificazione dell'adesione (con la maturazione appunto di LFA-1 (da inattiva, intermedia, ad attiva e con la sua clusterizzazione in superficie) e questa amplificazione aumenterebbe la sensibilità della cellula immune, abbassando quindi il numero delle interazioni tra TCR e specifico ligando per ottenere un efficace riconoscimento. Tale riconoscimento però non può prescindere dalla primitiva specificità del TCR verso Ag-MHC che costituirebbe l'input per generare l'energia necessaria a trasformare l'LFA-1 dallo stato di bassa avidità a quello di alta avidità.

Questo rafforzamento dell'adesione coinvolge non solo l'LFA-1, ma anche le proteine del citoscheletro, tra cui la talina, che si colocalizza nel sito di adesione: questi fenomeni sono altamente sensibili per le basse dosi antigeniche e possono quindi correlare con l'alta avidità dell'LFA-1. Il TCR-T3 innescherebbe, in definitiva, una cascata di eventi a

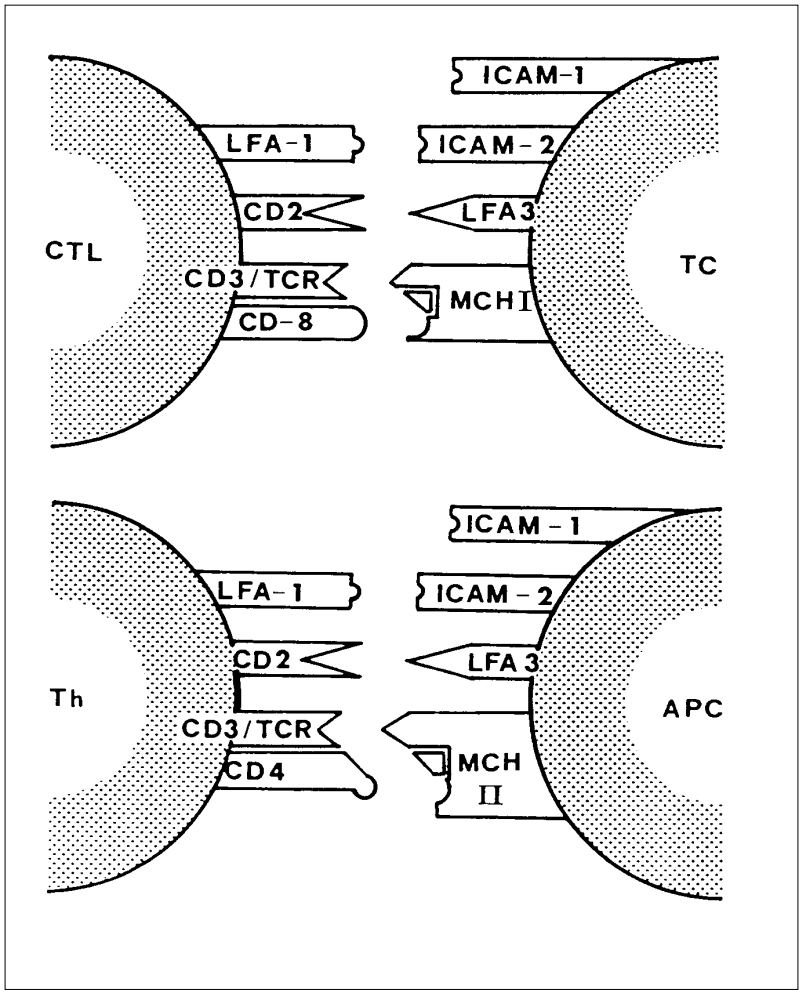


Figura 3. Interazioni omotipiche ed eterotipiche delle cellule T mediate dall'antigene (vedi testo).

livello della membrana, correlati a processi di fosforilazione e di defosforilazione ed una serie di messaggeri secondari che sarebbero responsabili del transeunte stato di bassa-alta-bassa affinità dell'LFA-1, rispettivamente e quindi regolanti il ciclo di adesione e di deadesione intercellulare. Naturalmente la densità del complesso Ag-MHC (I-II), e quindi il numero dei TCR-T3 (T4-T8) ingaggiati, possono influenzare la cinetica della cascata segnaletica dell'attivazione e quindi la cinetica della regolazione dell'avidità dell'adesione, a cui partecipano non solo le molecole LFA-1 e le molecole ICAM-1, ma anche altre molecole, non considerate classiche molecole dell'adesione, quali l'LFA-2 (CD2), (l'LFA-3 (CD58)), il T4 (CD4), il T8 (CD8) (e le molecole MHC-I-II).

Queste ultime molecole hanno anche un ruolo importante nell'attivazione, anche se non sono considerate classiche molecole di attivazione, ma vengono incluse nell'ampia classe delle molecole accessorie (35). Questo insieme di molecole quindi deve raggiungere un alto grado di cooperazione, difficile da analizzare nei rapporti spazio-tempo, affinchè l'interazione tra le cellule immunocompetenti sia efficace. Tutte queste molecole quindi hanno un ruolo nell'adesione e nell'attivazione, due fenomeni difficilmente separabili perchè appunto intimamente connessi tra loro.

Sempre in questo contesto è da tener presente che vi sono delle osservazioni che avrebbero sostanziato l'ipotesi che fenomeni di adesione non specifici precederebbero i fenomeni di adesione specifici TCR-Ag mediati e precisamente una di tali interazioni avverrebbe tra LFA-2 e LFA-3, mentre l'altra avverrebbe tra LFA-1 e ICAM-1. Altre osservazioni preciserebbero che l'interazione tra LFA-2 e LFA-3 precederebbe l'interazione tra LFA-1 e ICAM-1 in quanto attiverebbe quella sequenza di interazioni che porterebbero alla attivazione dell'LFA-1, come avverrebbe nell'interazione tra TCR-CD3 e Ag-MHC, come precedentemente descritto. Potrebbe anche essere ammesso che l'interazione tra LFA-1 e ICAM-1 potrebbe verificarsi primariamente (come anche associatamente a quella LFA-2 e LFA-3). Questi modelli che propongono che l'adesione LFA-1 mediata sia preceduta o dalla Adesione Riconoscitiva TCR-CD3 complex mediata o dalla Adesione CD2 mediata, soddisfano il presupposto che l'LFA-1, nella sua forma matura, può essere presente in forma inattiva o in forma attiva e queste forme sarebbero controllate dalla PKC, la cui attivazione a sua volta sarebbe indotta da un'altra interazione in cui sarebbero implicati dei supercomplessi (TCR-CD3-Ag-MHC-I-II-CD8-CD4 e CD2-CD58). Tutto questo quindi implicherebbe che l'LFA-1 di per sé (proprietà nativa) non sarebbe in grado di iniziare l'adesione intercellulare e che dovrebbe quindi essere attivato mediante i meccanismi di attivazione che portano ad un aumento del Ca^{++} intracellulare e alla attivazione della PKC, entrambi, appunto, ottenibili mediante il meccanismo di attivazione alternativa. Da tutto quanto sin qui scritto è evidente la complessità dei meccanismi, non ancora chiari, imperniati sulla molecola LFA-1 e come la sua funzionalità sia implicata nei fenomeni di proliferazione, di differenziazione, di secrezione di citochine, di azione helper e di funzione citotossica (Tab. 4).

Integrine nelle interazioni con la matrice extracellulare

Nell'ambito invece delle interazioni con le Proteine della Matrice Extracellulare le molecole VLA consentono ai linfociti, ai monociti, come anche ad altre cellule non ematiche una ampia e variabile capacità di adesività appunto con la matrice extracellulare in quanto i suoi costituenti contengono, quasi tutti, le sequenze aminoacidiche Arg-Glc-Asp o sequenze ad essa correlate. Da questo quindi ne deriva che tali recettori devono ricoprire un ruolo importante nell'interazione dei linfomonociti con i componenti della matrice intercellulare sia a livello dei loro tessuti di origine e di maturazione, che a livello dei tessuti post-maturativi extravascolari (16,19, 20, 21, 28, 32, 33, 34, 35, 37, 40, 46).

In questo contesto è interessante notare come l'espressione dei recettori VLA sia variabile e, quasi a sottolinearne l'importanza, non è certamente casuale che i polimorfonucleati, che soggiornano per brevi periodi nei tessuti extravascolari, come anche i globuli rossi, non li esprimano; non così invece per i linfomonociti che in parallelo alla loro ampia distribuzione extravascolare presentano una ampia e dinamica varietà di proteine VLA (19, 20, 40). Infatti VLA-1 è presente nelle T attivate in vitro, dopo 2-4 settimane, come anche è presente in pazienti con processi immunopatologici cronici, non a livello dei linfociti ematici, ma a livello dei linfociti tissulari, quali quelli del polmone e della sinovia ed anche se la sua espressione correla negativamente con la stimolazione, data la sua capacità di legarsi alla Laminina e al Collageno, può avere una importante funzione adesiva, conseguente ad una stimolazione cronica (19).

I VLA-2, anch'essi si presentano nei T attivati e correlano positivamente, in quanto aumentano, con la stimolazione e, dato che il loro funzionale ligando è il collageno, viene spontaneo supporre che queste cellule, nel loro processo di attivazione, acquisirebbero la capacità di interagire con il collageno dei tessuti extravascolari, con conseguente importanza per i fenomeni di localizzazione e di migrazione (19). Questa ipotesi comunque non esaurisce la potenziale funzionalità di queste molecole, che deve ancora trovare una o più spiegazioni, e questo modo di pensare trova sostegno nell'osservazione che i linfociti migranti nelle matrici di collageno sono VLA-2 negativi.

Constatato però che VLA-1 e VLA-2 vengono espressi nelle T attivate è giustificato immaginare che esse rappresentino l'acquisizione di nuove capacità di diffusione e di localizzazione nei tessuti extravascolari e di nuove capacità funzionali, quali la secrezione di citochine: nuove capacità funzionali quali risultato della reciproca influenza tra ambiente cellulare ed ambiente extracellulare. Il VLA-3, quale recettore verso multipli ligandi, tra cui Collageno, Laminina e Fibronectina (e su quest'ultima si legherebbe su

un sito e/o con affinità diverse rispetto a VLA-5), verrebbe ad essere una importante struttura recettoriale nei fenomeni di colonizzazione timica da parte delle cellule emopoietiche e potrebbe quindi ricoprire un ruolo nell'ontogenesi dei T linfociti, anche se ancora non è stata chiarita e data una funzione ai recettori per la Fibronectina, quali appunto VLA-3 e VLA-5, in tali microambienti (19).

E' comunque stato ipotizzato che i recettori per la Fibronectina potrebbero avere delle complesse funzioni di ancoraggio per i progenitori ematopoietici a livello dei loro microambienti, linfoidi e mieloidi, maturativi, che ne permetterebbero la loro maturazione e differenziazione e una volta raggiunta, sia per i T, per i B e per i M, ma anche per gli Eritroblasti, questa capacità funzionale, tale aggancio verrebbe meno, per cui ne sarebbe permessa la migrazione negli organi e nei tessuti periferici.

E' da tener presente che il VLA-3 è fortemente espresso sulle cellule ematopoietiche maligne, a differenza di quelle benigne, per cui gli è stato assegnato un ruolo patogenetico rapportabile alla sua capacità metastatizzante. Al VLA-4, data la sua più ampia presenza rispetto agli altri recettori VLA e la sua maggiore espressione nei linfomonociti in sospensione, rispetto alle cellule adese è difficile attribuire, rispetto alle precedenti, una funzione di adesione alla matrice extracellulare ed è quindi ipotizzabile una sua funzione legante piccoli peptidi (come anche alla fibronectina della matrice extracellulare) e una sua funzione nei controlli intercellulari sia di natura omotipica, sia di natura eterotipica in qualità di Homing-Receptor e di molecola memoria (3, 19, 21, 22, 40).

Data inoltre la sua più ampia espressione nei linfociti, rispetto alle sue consorelle molecole è giustificato riservarle un ruolo importante, anche se apparentemente ridondante con quello dell'LFA-1. In questo contesto è opportuno segnalare l'aumentata espressione del CD29 nelle cellule memoria, rispetto alle cellule naive e questo depone per una loro aumentata adesività e per una loro aumentata mobilità (Springer, 1990).

Si ricorda che nelle memory cells, rispetto alle naive cells, sono aumentate numerose molecole implicate nei fenomeni di adesività e precisamente LFA-1-ICAM-1, LFA-2-LFA-3, Pgp1 (HERMES) e questo deporrebbe nel senso che una delle caratteristiche della risposta secondaria è anche quella di una facilitazione delle interazioni intercellulari (3). Il VLA-5, il cui naturale ligando è la fibronectina, come per il VLA-4, da cui anche però differisce, anche per la sua insensibilità alla tripsina, è presente in molte cellule emopoietiche, tra cui nei T linfociti attivati, per cui potrebbe avere un ruolo nella loro attivazione, sottolineando così ulteriormente l'importanza regolatoria della matrice extracellulare nell'immunorisposta in cui le cellule attivate, rispetto alle cellule quiescenti, avrebbero esigenze di adesività diverse (19). Il VLA-5, come anche il VLA-4, il VLA-6 e l'LFA-1, regola la proliferazione delle T (Springer, 1990).

Complessivamente quindi ampiezza e dinamicità di espressione e variazione della avidità, conseguente ad attivazione (es. LFA-1, VLA-4, VLA-5, VLA-6), sottintendono l'importanza funzionale emergente di questi Recettori di Adesività (Tab. 5).

VLA: Recettori per la matrice extracellulare

VLA-1*: Possibile espressione di differenti esigenze di adesività tra T resting e T attivate

VLA-2*: Possibile espressione di acquisizione di nuove capacità diffusive nella matrice extracellulare
Possibile espressione di acquisizione di nuove capacità funzionali (secrezione linfochine)

VLA-3: Possibile ruolo maturativo differenziativo nei microambienti linfoidi-mieloidi

VLA-5*: Possibile ruolo nella colonizzazione dei microambienti ontogenetici ematopoietici

VLA: Recettori per le interazioni intercellulari

VLA-4: Partecipazione nelle interazioni intercellulari omotipiche ed eterotipiche (quale molecola memoria, quale homing-receptor)

*: Attivati

Tabella 5. Funzioni delle VLA nelle interazioni con la matrice extracellulare e con le cellule.

Selectine e compartimentalizzazione linfocitaria

Per questi complessi, e non ancora chiariti, fenomeni di colonizzazione vi è la necessità che i linfomonociti, una volta immessi nel sistema vascolare, riguadagnino il territorio extravascolare, dove i linfociti andranno soggetti ad una loro compartimentalizzazione tissutale specifica. Questa compartimentalizzazione linfoide non è statica, ma dinamica e alla sua base sta il fenomeno della ricircolazione linfocitaria; ed è in tale compartimentalizzazione che avvengono le specifiche interazioni intercellulari ed intermolecolari ambientali, che stanno alla base del Network immunologico.

Questo delicato, oltre che complesso, fenomeno ricircolatorio, intimamente connesso ed inseparabile da quello della migrazione tissutale, è esso pure mediato da recettori dell'adesività, tra cui le molecole appartenenti alla Famiglia delle Molecole dell'Adesività Cellulare ad attività Lectino-Simile (LEC-CAMs Family) (o Selectin Family) che avrebbero un ruolo cardine in questo processo selettivo migratorio (Homing), permettendo l'adesione appunto dei leucociti alle cellule endoteliali. Tale fenomeno adesivo, quindi, è mediato dai su scritti recettori di adesività, sia a livello linfocitario (homing receptors) sia a livello delle cellule endoteliali (vascular addressins) entrambe appartenenti appunto alla famiglia LEC-CAMs, e non solo da essi ma anche da altri recettori di Adesività, tra cui la Pgp1 (HERMES), l'LFA-1 ed il VLA-4 (4, 8, 10, 15, 18, 22, 23, 27, 28, 29, 31, 45, 48, Springer 1990).

Questa pluralità e questa complessità dei recettori dell'adesività nell'interazione con le cellule endoteliali è giustificata in quanto la ricircolazione, come su scritto, è un evento fondamentale sia per lo sviluppo del sistema linfoide, sia per la evoluzione della risposta immune (15, 31). La vita linfocitaria infatti ha la necessità di usufruire di una fase di migrazione e di una fase di residenza, ciclicamente susseguentesi, attraverso il fenomeno della ricircolazione che gli permette appunto una fase mobile all'interno del sistema vascolare e una fase sessile all'interno di determinati e specifici organi linfoidi. L'ingresso negli organi linfoidi è regolato a livello delle venule ad endoteli alti (HEV) linfonodali (come ad esempio per i T naive) o degli endoteli tissutali (come ad esempio per T memoria).

I linfociti riconoscono infatti in maniera specifica, aderendo o con specifici recettori che legano specifici ligandi, o con ligandi che vengono riconosciuti da specifici recettori, tali cellule endoteliali specializzate e, attraversandole, migrano all'interno degli organi linfoidi, dove prenderanno residenza, a seconda del set di appartenenza o nelle zone T o nelle zone B. Quindi il fenomeno ricircolatorio non è randomizzato, ma è selettivo, per cui i linfociti che risiederanno nei linfonodi periferici (L-PN) aderiranno preferenzialmente agli HEV dei linfonodi periferici (HEV-PN), mentre i linfociti che risiederanno nelle placche di Peyer (L-PP) aderiranno preferibilmente agli HEV delle placche di Peyer (HEV-PP) (15, 18, 22, 27, 29, 48). Per i L-PN i recettori di ricircolazione potrebbero

essere MEL-14/LAM-1, mentre per i L-PP i VLA-4 (Springer, 1990). Questa selettiva specificità adesiva sarebbe da rapportare alla specificità dei recettori di adesività espressi nei vari set dei linfociti ricircolanti, che sarebbero quindi strutture molecolari diversamente ed indipendentemente espresse sui L-PN e sui L-PP, ed affinché il fenomeno adesivo si realizzi gli HEV devono presentare gli opportuni ligandi, come anche i linfociti dovranno presentare gli opportuni ligandi per i recettori di adesività presenti nelle cellule endoteliali: questo network recettoriale rende estremamente fine, nella sua selettività, e complicato il fenomeno delle interazioni di adesività tra linfociti e cellule endoteliali (31).

Tale complessità nell'adesione tra linfociti e cellule endoteliali è facilmente intuibile e giustificabile in quanto vede impegnate strutture di adesione molecolari, quali l'HERMES (CD44), di incerta classificazione, l'LFA-1 e l' LPMA appartenenti, come già riferito, alla Superfamiglia delle integrine, l' ICAM-1/2, appartenente alla Superfamiglia delle Immunoglobuline, il MEL14,(a livello linfocitario) e l' ELAM-1 e GMP-140 (a livello endoteliale) (4, 8, 10, 22, 23, 28, 36, 41) (Tab. 6).

Quali homing-receptors		
	sui linfociti	MEL-14/LAM-1
	sulle cell. endoteliali	GMP-140 (CD62)
		ELAM-1

(*) Molecole del Network migratorio selettivo e non selettivo
MEL-14(°), GMP-140, ELAM-1 (F. Selectine)
LPMA (°°), LFA-1 (F. Integrine)
ICAM-1,2, VCAM-1 (F. immunoglobuline)

(°)Candidato recettoriale selettivo per L-PN
(°°) Candidato recettoriale selettivo per L-PP

Tabella 6. Funzioni delle selectine nella migrazione linfocitaria (*).

Il MEL14, e più precisamente il mLHRcS mouse lymphocyte homing receptor ed il LAM-1 umano (Leu8) e l' ELAM-1 e GMP-140 (CD62) apparterrebbero alla LEC-CAMs Family (o Selectin Family), mentre l'HERMES (Pgp-1) ne sarebbe escluso: le prime quattro glicoproteine presenterebbero una omologia di struttura che non è ravvisabile nella Pgp-1 (CD44). Tale struttura fondamentalmente consiste nella presenza, nella porzione extracellulare della catena proteica, di un lectin-domain, di un EGF Homology domain e di Complement-Binding-Protein Homology repeats. LEC-CAMs Family è quindi composta da glicoproteina transmembrana, con una struttura molecolare diversa da quella presente nelle molecole appartenenti alle Superfamiglie delle Integrine e delle Immunoglobuline (4, 8, 23, 25, 36) (Fig. 4).

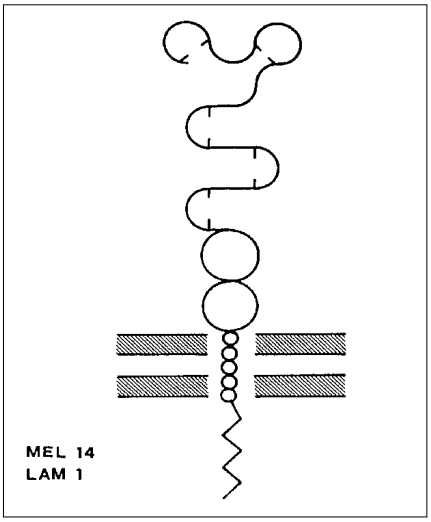


Figura 4. Due membri molecolari appartenenti alla Famiglia delle Selectine con il loro dominio N terminale lectino simile e con le loro corte sequenze ripetitive (vedi testo).

Il MEL14 (gp90 MEL14) è in effetti una proteina integrale di membrana diversa dalle altre molecole recettoriali a funzione adesiva: questo recettore sarebbe composto da un accumularsi di diverse sequenze, disposte in tandem, tutte partecipanti alle interazioni intermolecolari, denominabili anche domains di interazione e sono specifici per zuccheri, come le lectine animali, per i componenti del Complemento, quali C3 o C4 o per entrambi, come le proteine regolatrici del Complemento (CCP), o verso un prodotto (c-erb-B), come EGF (36). Questi domains sono individuabili nella porzione extracellulare delle molecole: all'estremità sono identificabili due porzioni aminoterminali, una di esse corrisponde alla sequenza aminoterminale del polipeptide altamente conservato che è l'ubiquitina, l'altra sequenza corrisponde al core polipeptidico del recettore. Questa parte quindi del complesso recettoriale sembrerebbe dovuta ad un processo di ubiquitinizzazione del core proteico che sarebbe pesantemente glicosilato e questa regione potrebbe in effetti partecipare nei fenomeni adesivi, anche per la sua somiglianza, nei suoi 120AA, ai domains leganti i carboidrati di una varietà di Lectine-Ca^{++} dipendenti, da cui ne differirebbe per la sostituzione con aminoacidi carichi positivamente, che potrebbero appunto essere i siti di legame per i polisaccaridi anionici (probabili forme polimeriche del Mannosio-6-Fosfato). A questo Lectin-domain seguirebbe un domain (33AA) con somiglianza per i domains dei fattori di crescita (EGF-homology-domain), a sua volta seguito da due identici domains, le cui sequenze richiamano quelle presenti in altre proteine, tra cui quelle a funzione regolatoria sul sistema complementare e a capacità legante il C3 ed il C4 (tali domains contengono 6 cisteine invece delle 4 presenti CCP / SCR, con conservazione di Prolina, Tirosina, Triptofano, Fenilalanina e Glicina) e

vengono giustamente denominati Complement-Binding Protein Homology Repeats. Il MEL14 presenta 10 potenziali siti di N-glicosilazione, non siti di O-glicosilazione.

A questa porzione extracellulare segue il tratto transmembrana e quindi un breve tratto citoplasmatico.

La funzione primaria del mLHR (MEL14) è quella di consentire la migrazione selettiva dei linfociti, presenti nel sangue, nei linfonodi periferici, mediante una loro adesione agli HEV-PN, con una interazione altamente specifica ed avida, permettendo così la compartimentalizzazione dei linfociti T nella paracorticale e dei linfociti B nei follicoli primari. Questa interazione tra Linfociti e Cellule Endoteliali coinvolgerebbe sia i domini lectin-like, sia gli EGF-like, sia i CCP-like, come anche altre molecole di adesività quali l'LFA-1 (27). Tale fenomeno adesivo è Ca^{++} dipendente, ed il EGF-like domain potrebbe essere coinvolto nel legame di tale ione; non è chiaro il sito di legame dell'ubiquitina, come non sufficientemente indagati i carboidrati coinvolti in questo processo; come devono essere ulteriormente ricercati eventuali prodotti genici correlabili al C-evb-B e al C3 o C4 (36).

L'adesione quindi agli HEV-PN murini viene mediata dal MEL14, mentre invece l'adesione agli HEV-PP murini verrebbe mediata da un eterodimero, con catena α di 160.000 (Mw) e con catena β di 130.000 (Mw), denominato LPAM-1 (da MAb anti-LPAM che riconosce la catena α) la cui struttura è virtualmente identica al VLA-4; questo puntualizzerebbe l'importanza delle Integrine nella adesione selettiva linfocitaria agli HEV (22). Come precedentemente scritto l'HERMES (o Pgp1) è considerato un homing-receptor, non appartenente alla LEC-CAMs Family, come sarebbe risultato dal suo clonaggio comparato al clonaggio del MEL14 (gp90 MEL14), nonostante la crossreattività dei due antigeni (8). Tale molecola è presente nei linfociti, come glicoproteina-transmembrana, con un peso pari a 85-95 KD, distinguibile in una porzione extracellulare, un tratto transmembrana ed una porzione intracitoplasmatica. La porzione extracellulare può essere divisa in domini: all'estremo N-terminale vi è una sequenza di 90AA disposti in sequenze ripetitive, strettamente correlate, che con la mediazione di ponti disolfurici formerebbero dei "lopped domains".

Tale sequenza è omologa al proteoglicano della cartilagine (precisamente al cartilage-proteoglycan core protein), da cui si distingue per l'assenza di residui basici ((presenti in MEL14) a capacità legante l'acido ialuronico). A questo domain segue una sequenza di 150AA, ricca in residui permettenti l'aggancio a molecole carboidratiche, di cui numerosi per la O-glicosilazione e due per la M-glicosilazione, come anche di residui permettenti l'aggancio per catene di condroitinsolfato, che consentirebbero appunto la formazione della variante proteoglicanica del CD44, con un peso pari a 180-220KD, mentre i carboidrati N-O legati presentano un peso pari a 10-15KD, per cui questa sequenza prende il nome di O-glycosylation domain. Importante quindi di questa porzione extracellulare molecolare è la presenza di sequenze a putativa affinità per gli idrati di carbonio e, data l'assenza dei residui basici, è stata supposta una sua possibile interazione con altri glicosaminoglicani, e non con l'acido ialuronico (8).

Queste sequenze, nonostante l'incertezza dei loro ligandi, sono testimonianze dell'importanza delle proteine leganti i polisaccaridi nei fenomeni dell'adesione linfocitaria e giustificano come i carboidrati anionici possano interferire nell'adesione

linfocitaria agli HEV. Questa porzione extracellulare deve essere ritenuta importante non solo per il suo equipaggiamento di siti di legame per i carboidrati, ma anche per le sue strutture pesantemente glicoconiugate e che possono quindi essere coinvolte nelle interazioni del recettore stesso: una discreta porzione di queste molecole, anche se minoritaria, sono proteoglicani, e quindi il CD44 presenta la caratteristica, anche se limitata, di essere un proteoglicano linfocitario di superficie; il suo significato come proteoglicano non è chiaro, rimanendo da definire quale significato funzionale possano avere le aggiunte catene glicosaminiche, per le quali non si esclude una funzione di siti di legame, in una glicoproteina già molto complessa.

Questa complessità è ulteriormente amplificata dalla sua porzione citoplasmatica. La porzione citoplasmatica, che fa seguito al tratto transmembrana (32AA), sembrerebbe di lughezza variabile (3AA o 72AA) e questo potrebbe essere il risultato di uno splicing alternativo degli esoni codificanti la porzione COOH-terminale. La sequenza citoplasmatica più lunga potrebbe rivestire una notevole importanza funzionale per le sue eventuali interazioni con il citoscheletro, con indubbi riflessi sull'adesione e sulla motilità . Per quest'ultimo aspetto questo proteoglicano di superficie linfocitario, anche se a part-time, sembra analogo ad alcuni altri proteoglicani transmembranici che possono appunto legare il citoscheletro a strutture extracellulari (8).

I recettori dell'Adesione sino ad ora esaminati, ed appartenenti alla LEC-CAMs Family, occupano un ruolo importante nell'adesione selettiva linfocitaria agli HEV, invece all'LFA-1 viene riservato un ruolo importante nell'adesione linfocitaria, non selettiva, agli HEV e di conseguenza non organo specifica. Tale adesione vedrebbe coinvolta a livello delle cellule endoteliali la molecola ICAM-1 che, come precedentemente scritto, è inducibile. Il legame infatti dei linfociti a livello delle cellule endoteliali può essere aumentato dall'IL-1, dall'INF-γ e dal TNF, e da mediatori lipidici quali il LTB4, tutti aumentanti l'espressione di ICAM-1 (10, 27, 29, 31, 45) e che possono anche minimizzare il ruolo dell'LFA-1 stesso (Arnout 1990).

Quest'ultima funzione adesiva del sistema molecolare LFA-1-ICAM-1 sottolinea ulteriormente l'importanza delle molecole appartenenti alle Superfamiglie delle Integrine e delle Immunoglobuline nell'Adesione e come essi si integrino quali molecole di adesività delle cellule immunocompetenti (Fig. 5).

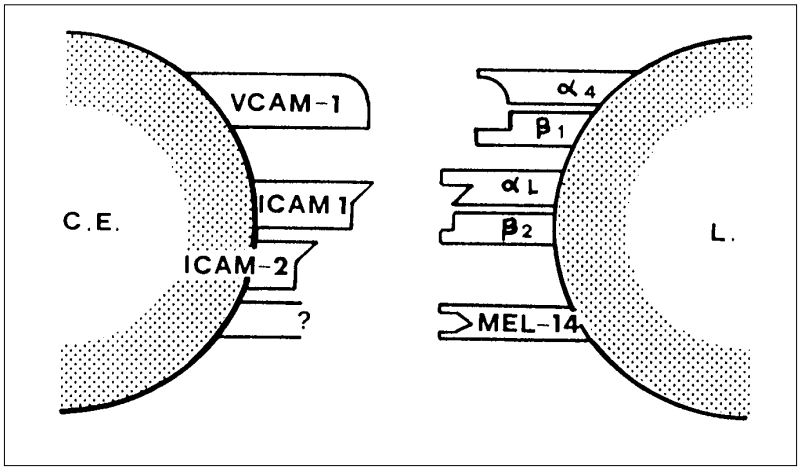


Figura 5. Adesione eterotipica di un linfocita ad una cellula endoteliale (vedi testo).

Bibliografia

1 - Altmann D.M., Hogg N., Trowsdale J. and Wilkinson D.: Contransfection of ICAM-1 and HLA-DR reconstitutes human antigen-presenting cell function in mouse L cells. Nature 338, 512-514, 1989.

2 - Anderson P., Morimoto C., Breitmeyer J.B. and Schlossman S.F.: Regulatory interactions between members of the immunoglobulin superfamily. Immunol.Today, 9, 199-203, 1988.

3 - Beverley P.C.L., Merkenschlager M. and Wallace D.L.: Identification of Human Naive and Memory T Cells in Progress in Immunology VII, Proceedings of the 7th International Congress of Immunology. Berlin 1989, Ed. Springer- Verlag, 432-438.

4 - Bevilacqua M.P., Stengelin S., Gimbrone M.A. and Seed B.Jr.: Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. Science, 243, 1160-1165.

5 - Blanchard D., van Els C., Borst J., Carrel S., Boylston A., de Vries J.E., and Spits H.: The role of the T cell receptor, CD8, and LFA-1 in different stages of the cytolytic reaction mediated by alloreactive T lymphocyte clones. J. Immunol., 138, 2417-2421, 1987.

6 - Buyon J.P., Hopkins P., Abramson S.B., and Winchester R.: Differential partecipation of epitopes on α and β chains of the LFA family in neutrophil aggregation as defined by Workshop monoclonal antibodies in Leucocyte Typing III, Oxford University Press, 844-847.

7 - Carrera A.C., Rincon M., Sanchez-Madrid F., Lopez-Botet M., and de Landazuri M.O.: Triggering of co-mitogenic signals in T cell proliferation by anti-LFA-1 (CD18), CD11a), LFA-3, and CD7 monoclonal antibodies. J. Immunol., 141, 1919-1924, 1988.

8 - Coombe D.R., and Rider C.C.: Lymphocyte homing receptors cloned a role for anionic polysaccharides in lymphocyte adhesion. Immunol.Today, 10, 289-291, 1989.

9 - Dustin M.L., Rothlein R., Bhan A.K., Dinarello C.A., and Springer T.A.: Induction by IL 1 and Interferon-γ: Tissue distribution, biochemistry, and function of a natural adherence molecule (ICAM-1). J.Immunol., 137, 245-254, 1986.

10 - Dustin M.L., and Springer T.A.: Lymphocyte function-associated Antigen-1 (LFA-1) interaction with intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is one of at least three mechanisms for lymphocyte adhesion to cultured endothelial cells. J.Cell Biol., 107, 321-331, 1988.

11 - Dustin M.L., Staunton D.E., and Springer T.A.: Supergene families meet in the immune system. Immunol.Today, 9, 213-215, 1988.

12 - Figdor C.G., van Kooyk Y., and Keizer G.D.: On the mode of action of LFA-1. Immunol.Today, 11, 277-280, 1990.

13 - Fischer A., Lisowska-Grospierre B., Le Deist F., Dimanche M.T., Mazerolles F., and

Trung P.H.: The leukocyte adhesion deficiency in Progress in Immunology VII. Proceedings of the 7th International Congress of Immunology. Berlin 1989, Ed. Springer-Verlag, 539-543.
14 - Flomenberg N., Kernan N.A., Dupont B., and Knowles R.W.: Serological, immunochemical, and functional analysis of the heterogeneity of the workshop monoclonal antibodies recognizing the LFA-1 antigen in Leukocyte Typing II, Ed. Springer-Verlag, 85-94.
15 - Gallatin M., St.John T.P., Siegelman M., Reichert R., Butcher E.C., and Weissman I.L.: Lymphocytes homing receptors. Cell., 44, 673-680, 1986.
16 - Ginsberg M.H., Loftus J.C., and Plow E.F.: Cytoadhesins, integrins, and platelets. Thrombosis and haemostasis, 59(1), 1- 6, 1988.
17 - Hara T., and Fu S.M.: Phosphorylation of γ, β subunits of 180/100 Kd Polypeptides (LFA-1) and related antigens in Leukocyte Typing II, Ed. Springer-Verlag, 3, 77-84.
18 - Harlan J.M.: Blood. Blood, 65, 513-525, 1985.
19 - Hember M.E.: Adhesive protein receptors on hematopoietic cells. Immunol.Today, 9, 109-113, 1988.
20 - Hynes R.O.: Integrins: a family of cell surface receptors. Cell, 48, 549-554, 1987.
21 - Hogg N.: The leukocyte integrins. Immunol.Today, 10, 111-114, 1989.
22 - Holzmann B., McIntyre B.W., and Weissman I.L.: Identification of a murine Peyer's patch-specific lymphocyte homing receptor as an integrin molecule with an α chain homologous to human VLA-4α. Cell, 56, 37-46-1989.
23 - Johnston G.I., Kurosky A., and McEver R.P.: Structural and byosynthetic studies of the granule membrane protein, GMP-140, from human platelets and endothelial cells. J.Biol.Chem., 264, 1816-1823, 1989.
24 - Kajiji S., Tamura R.N., and Quaranta V.: A novel integrin (α e β4) from human epithelial cells suggests a fourth family of integrin adhesion receptors. EMBO J., 8, 673-680, 1989.
25 - Kennet B.M. Reid, and Day A.J.: Structure-function relationship of the complement components. Immunol.Today, 10, 177-180, 1989.
26 - Miedema F., Terpstra F.G., and Melief C.J.M.: Functional studies with monoclonal antibodies against function-associated leukocyte antigens.
27 - Pals S.T., denOtter A., Miedema F., Kabel P., Keizer G.D., Scheper R.J., and Meijer C.J.L.M.: Evidence that leukocyte function-associated antigen-1 is involved in recirculation and homing of human lymphocytes via high endothelial venules. J.Immunol., 140, 1851-1853, 1988.
28 - Parmentier S., Kaplan C., Catimel B., and McGregor J.L.: New families of adhesion molecules play a vital role in platelet functions. Immunol.Today, 11, 225-227, 1990.
29 -Renkonen R.: Regulation of intercellular adhesion molecule-1 expression on endothelial cells with correlation to lymphocyte-endothelial binding. Scand.J.Immunol., 29, 717-721, 1989.
30 - Rothlein R., and Springer T.A.: The requirement for lymphocyte function-associated antigen-1 in homotypic leukocyte adhesion stimulated by phorbol ester. J.Exp.Med., 163, 1132-1149, 1986.

31 - Rosen S.D.: A lymphocyte homing receptor: a member of an emerging class of cell adhesion molecules in Progress in Immunology VII. Proceedings of the 7th International Congress of Immunology. Berlin 1989, Ed. Springer-Verlag, 156-160.
32 - Ruoslahti E., and Pierschbacher M.D.: Arg-Gly-Asp: a versatile cell recognition signal. Cell, 44, 517-518, 1986.
33 - Ruoslahti E., and Pierschbacher M.D.: New perspectives in cell adhesion: RGD and Integrins. Science, 238, 491-497, 1987.
34 - Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G., Reitano M., Battistin S.: Molecole di adesività in corso di leucemia linfatica cronica. Atti del Convegno: Leucemia Linfatica Cronica ed Hairy Cell Leukemia. Attualità nella diagnosi e nella terapia. Pordenone, I, 10, 1988.
35 - Shevach E.M.: Accessory Molecules in Fundamental Immmunology, Second Edition, ed. by William E.Paul, Raven Press Ltd, New York, 1989, 413-422.
36 - Siegelman M.H., van de Rijn M., Weissman I.L.: Mouse lymph node homing receptor cDNA clone encodes a glycoprotein revealing tandem interaction domains. Science, 243, 1165-1172, 1989.
37 - Sonnenberg A., Modderman P.W., and Hogervorst F.: Laminin receptor on platelets is the integrin VLA-6. Nature, 336, 487- 489, 1988.
38 -Springer T.A., and Anderson D.C.: Antibodies specific for the Mac-1, LFA-1, p150,95 glycoproteins or their family, or for other granulocyte proteins, in the 2nd international workshop on human leukocyte differentiation antigens in Leukocyte Typing II, Ed. Springer-Verlag, 55-68.
39 - Springer T.A., Dustin M.L., Kishimoto T.K., and Marlin S.D.: The lymphocyte function-associated LFA-1, CD2, and LFA-3 molecules: cell adhesion receptors of the immune system. Ann.Rev.Immunol., 5, 223-252, 1987.
40 - Springer T.A.: Adhesion receptors regulate antigen- specific interactions, localization, and differentiation in the immune system in Progress in Immunology VII. Proceedings of the 7th International Congress of Immunology. Berlin 1989, Ed.Springer-Verlag, 121-130.
41 - Staunton D.E., Dustin M.L., and Springer T.A.: Functional cloning of ICAM-2, a cell adhesion ligand for LFA-1 homologous to ICAM-1. Nature, 339, 61-64, 1989.
42 - Shaw S., and Ginther Luce G.E.: The lymphocyte function- associated antigen (LFA)-1 and CD2/LFA-3 pathways of antigen-independent human T cell adhesion. J.Immunol., 139, 1037-1045, 1987.
43 - Timonen T., Patarroyo M., and Gahmberg C.G.: CD11a-c/CD18 and GP84 (LB-2) adhesion molecules on human large granular lymphocytes and their participation in natural killing. J.Immunol., 141, 1041-1046, 1988.
44 - Todd III R.F., and Arnaout M.A.: Monoclonal antibodies that identify Mo1 and LFA-1, two human leukocyte membrane glycoproteins: a review in Leukocyte Typing II, Ed. Springer-Verlag, 95-108.
45 - Wang J.M., Colella S., Allavena P., Mantovani A., and Biondi A.: Effect of anti-LFA-

1 monoclonal antibodies (CD18) on migration capacity of human leucocytes in Leucocyte Typing III, Oxford University Press, 848-856.

46 - Wayner E.A., Carter W.G., Piotrowicz R.S., and Kunickj T.J.: The function of multiple extracellular matrix receptors in mediating cell adhesion to extracellular matrix: preparation of monoclonal antibodies to the fibronectin receptor that specifically inhibit cell adhesion to fibronectin and react with platelet glycoproteins Ic-IIa. J.Cell Biol., 107, 1881- 1891.

47 -Williams A.F.: A year in the life of the immunoglobulin superfamily. Immunol.Today, 8, 298-303, 1987.

48 - Woodruff J. J., and Clarke L. M.: Specific cell-adhesion mechanisms determining migration pathways of recirculating lymphocytes. Ann.Rev.Immunol., 5, 201-222, 1987.

Indice

Istruzioni per gli Autori..... pag. 2

Editoriale..... » 3

Generalità..... » 5

Integrine nelle interazioni cellulari immunocompetenti ..... » 12

Integrine nelle interazioni con la matrice extracellulare..... » 17

Selectine e compartimentalizzazione linfocitaria..... » 20

Bibliografia ..... » 26

Indice ..... » 30

Volumi pubblicati nella collana Caleidoscopio..... » 31

Volumi pubblicati nella collana Caleidoscopio letterario..... » 32

Volumi pubblicati nella collana Caleidoscopio (Ed. Spagnola)..... » 32

Volumi pubblicati nella rivista Pandora ..... » 33

Volumi pubblicati nella rivista The Medical Systems Voice..... » 33

Migliorare Sempre!!!..... » 34

Concorso di Pittura "La scoperta dell'America"..... » 35

Volumi pubblicati nella Collana Caleidoscopio

TECNAMEDOLOGIA

1. **Rassu S.:** ***Principi generali di endocrinologia.*** **Gennaio '83**
2. **Rassu S.:** ***L'ipotalamo endocrino.*** **Giugno '83**
3. **Rassu S.:** ***L'ipofisi.*** **Dicembre '83**
4. **Alagna., Masala A.:** ***La prolattina.*** **Aprile '84**
5. **Rassu S.:** ***Il pancreas endocrino.*** **Giugno '84**
6. **Fiorini I., Nardini A.:** ***Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza).*** **Luglio '84.**
7. **Rassu S.:** ***L'obesita'.*** **Settembre '84**
8. **Franceschetti F., Ferraretti A.P, Bolelli G.F., Bulletti C.:*****Aspetti morfofunzionali dell'ovaio.*** **Novembre '84.**
9. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (1).*** **Dicembre '84.**
10. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima.*** **Gennaio'85.**
11. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda.*** **Febbraio '85.**
12. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima.*** **Aprile '85.**
13. **Nacamulli D, Girelli M.E, Zanatta G.P, Busnardo B.:** ***Il TSH.*** **Giugno '85.**
14. **Facchinetti F. e Petraglia F.:** ***La ß-endorfina plasmatica e liquorale.*** **Agosto '85.**
15. **Baccini C.:** ***Le droghe d'abuso (1).*** **Ottobre '85.**
16. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda.*** **Dicembre '85.**
17. **Nuti R.:** ***Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale.*** **Febbraio '86**
18. **Cavallaro E.:** ***Ipnosi: una introduzione psicofisiologica.*** **Marzo '86.**
19. **Fanetti G.:** ***AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti.*** **Maggio '86.**
20. **Fiorini I., Nardini A.:** ***Toxoplasmosi, immunologia e clinica.*** **Luglio '86.**
21. **Limone P.:** ***Il feocromocitoma.*** **Settembre '86.**
22. **Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.:** ***Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici.*** **Novembre '86.**
23. **Bolcato A.:** ***Allergia.*** **Gennaio '87.**
24. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio enzimoimmunologico ed fluoroimmunologico.*** **Febbraio '87.**
25. **Carani C.:** ***Patologie sessuali endocrino-metaboliche.*** **Marzo '87.**
26. **Sanna M., Carcassi R., Rassu S.:** ***Le banche dati in medicina.*** **Maggio '87.**
27. **Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.:** ***L'amenorrea.*** **Giugno '87.**
28. **Zilli A., Pagni E., Piazza M.:** ***Il paziente terminale.*** **Luglio '87.**
29. **Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.:** ***Patologie prostatiche.*** **Settembre '87.**
30. **Cingolani M.:** ***Manuale di ematologia e citologia ematologica.*** **Novembre '87.**
31. **Kubasik N.P.:** ***Ibridomi ed anticorpi monoclonali.*** **Gennaio '88.**
32. **Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.:** ***Diagnostica del carcinoma mammario.*** **Febbraio '88.**
33. **Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnessi L., Isidori A.:*****Neuroendocrinologia dello stress.*** **Marzo '88.**

34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: ***La fecondazione in vitro.*** **Maggio '88.**
35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: ***Il gozzo nodulare.*** **Giugno '88.**
36. Baccini C.: ***Le droghe d'abuso (2).*** **Luglio '88.**
37. Piantino P., Pecchio F.: ***Markers tumorali in gastroenterologia.*** **Novembre '88.**
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: ***Le leucemie acute infantili.*** **Gennaio '89.**
39. Sommariva D., Branchi A.: ***Le dislipidemie.*** **Febbraio '89.**
40. Butturini U., Butturini A.: ***Aspetti medici delle radiazioni.*** **Marzo '89.**
41. Cafiero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: ***Diagnostica delle neoplasie colo-rettali.*** **Aprile '89.**
42. Palleschi G.: ***Biosensori in Medicina.*** **Maggio '89.**
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: ***HTLV-I.*** **Giugno '89.**
44. Fanetti G.: ***Emostasi: fisiopatologia e diagnostica.*** **Luglio '89.**
45. Contu L., Arras M..: ***Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie.*** **Settembre '89.**
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: ***Immunologia dell'occhio.*** **Ottobre '89.**
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E. : ***Infezioni opportunistiche in corso di AIDS.*** **Gennaio '90.**
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P. : ***La coriogonadotropina umana.*** **Febbraio '90.**
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: ***L'immunologia del diabete mellito*****. Marzo '90.**
50. Cappi F.: ***La trasfusione di sangue: terapia a rischio*****. Aprile '90.**
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: ***I micobatteri.*** **Maggio '90.**
52. Montecucco C.M., Caporali R., De Gennaro F.: ***Anticorpi antinucleo.*** **Giugno '90.**
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: ***Le macchine in terapia intensiva.*** **Luglio '90.**
54. Goracci E., Goracci G.: ***Gli allergo-acari*****. Agosto '90.**
55. Rizzetto M.: ***L'epatite non A non B (tipo C).*** **Settembre '90.**
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: ***Infezione da HIV-1:patogenesi ed allestimento di modelli animali*****. Ottobre '90.**
57. La Vecchia C. ***Epidemiologia e prevenzione del cancro (I).*** **Gennaio '91.**
58. La Vecchia C. ***Epidemiologia e prevenzione del cancro (II).*** **Febbraio '91.**
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., Basaglia G., Gennari D.: ***Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti.*** **Marzo '91.**

Caleidoscopio
Rivista di Medicina
anno 9, numero 59

Direttore Responsabile
Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari
Tel. Fax e Modem (079) 270464

Responsabile Commerciale
Alessandra Pater

Consulenti di Redazione
Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Segretaria di Direzione
Fiorella Gaggero

Servizio Abbonamenti
Elisabetta Ricci
Giuseppe Gambetta

Editore
Medical Systems S.p.A.
TECNOLOGIA

Via Rio Torbido, 40
16165 Genova (Italy)
Tel. (010) 83401 (7 linee r.a.) Numero Verde 1678 01005 (senza prefisso);
Telex 270310 Ideal I.
Telefax (010) 809737- 802257.
La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Caleidoscopio -Ed. Spagnola-
Caleidoscopio letterario, Pandora, Tribuna Biologica e Medica,
The Medical Systems Voice.

Stampa
ATA-Azienda Tipografi Associati
Via G. Torti, 32 C Rosso
16143 Genova - Tel. 010 503320

Registrazione Tribunale di Sassari n. 189 del 6/11/84
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989

Finito di stampare: Marzo 1991

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Associata all'USPI
Unione Stampa Periodica Italiana

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:
"L'ECO DELLA STAMPA"
Via Compagnoni, 28 - Milano

SAGGIO FUORI COMMERCIO ESENTE IVA E BOLLA DI ACCOMPAGNAMENTO (Art. 4 - 3/8/6 DPR 627/78)