

IMMUNOPATOLOGIA POMPELLA IMMUNODEFICIENZE, TRAPIANTI, TUMORI

IMMUNO-DEFICIENZE

Riduzione della risposta immunitaria, che si ha per:

- **Deficit dei linfociti B** → si manifesta con riduzione dei livelli sierici di Ig, maggior esposizione ai batteri piogeni.
- **Deficit dei linfociti T** → diminuzione delle risposte DTH, riduzione dei livelli sierici delle Ig per via di una riduzione dei Thelper che normalmente collaborano con i linfociti B. Il paziente è più suscettibile a infezioni virali e da microbi intracellulari. I microbi intracellulari sono più problematici in questa condizione di deficit dei T, poiché non possono essere eliminati dalla risposta umorale, che si occupa degli antigeni circolanti. I microbi intracellulari vengono infatti normalmente processati tramite proteasoma, espressi su MHC I e riconosciuti dai linfociti T CD8+, citotossici. Sono pazienti anche suscettibili a tumori ad eziopatogenesi virale.
- **Deficit dell'immunità innata** → il paziente è più suscettibile all'azione di germi piogeni.

Cause di immunodeficienza:

- Genetiche
- Chimiche
- Infettive
- Disontogenetiche

IMMUNODEFICIENZE dell'immunità adattativa

Sono dovute a deficit di enzimi o molecole necessarie per lo sviluppo del linfocita, che deve passare da pro-linfocita a pre-linfocita, poi a cellula B o T immatura (doppio-positiva), per diventare poi una cellula matura.

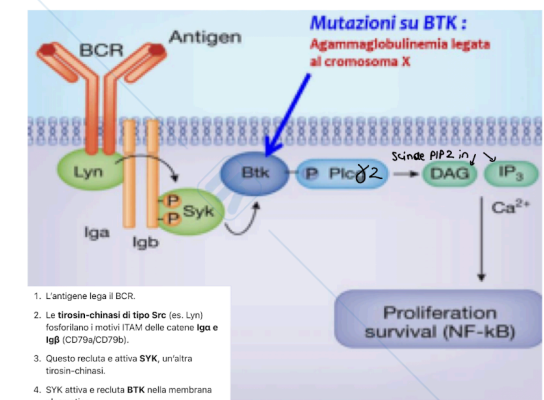
Gli **enzimi** che regolano questi passaggi sono:

- **ADA** → adenosina deaminasi, agisce sulle basi che compongono gli acidi nucleici, serve al passaggio da cellula staminale a pro-linfocita e da pro-linfocita a pre-linfocita
- **PNP** → purine nucleoside fosforilasi
- **RAG** → gene attivante la ricombinasi

Se si ha un deficit a uno dei geni che codificano per questi enzimi, non si otterranno dei linfociti B e T maturi e si avrà un deficit della risposta immunitaria.

Deficit della BTK → B-cell tyrosin-kinase. È fondamentale per la trasduzione del segnale a partire da BCR. Quindi se BTK è assente o mutata non funziona in maniera efficace e la catena di trasduzione dei linfociti B si blocca impedendone una corretta attivazione.

Mutazione dei **recettori per le citochine** che regolano i processi di maturazione → questi recettori hanno una componente comune detta catena γ e un'altra catena che invece varia da recettore a recettore. Se si ha una mutazione



sulla catena γ c i recettori per le citochine smettono di funzionare correttamente, alterando la maturazione dei linfociti.

Sindromi specifiche:

- Da deficit dei **linfociti B** → **agammaglobulinemia e delezioni selettive di catene pesanti di Ig.**
- Da deficit specifici di **linfociti T** → **sindrome di DiGeorge**

Agammaglobulinemia → mancata produzione di anticorpi, per via di mutazioni di BTK, che impediscono la proliferazione dei cloni dei linfociti B. È una sindrome associata al cromosoma X. Come funziona BTK? Quando l'antigene lega BCR, si attivano una serie di chinasi, che attivano a loro volta BTK (tirosin chinasi dei B), questa attiva la fosfolipasi C gamma che taglia PIP2 in DAG e IP3 → processo che porta alla proliferazione e sopravvivenza del linfocita B, attivando la via di NF- κ B).

Sindrome di DiGeorge → dovuta a una delezione sul braccio lungo del cromosoma 22 (Del 22.q11), nel 95% dei casi è una mutazione **de novo (o ex novo)** è una alterazione genetica presente per la prima volta in un individuo, non ereditata dai genitori biologici. Si verifica **durante la formazione dei gameti** (uovo o spermatozoo) o **nelle primissime fasi dello sviluppo embrionale**, ovvero dopo la fecondazione ma prima della nascita. È generalmente una mutazione dominante, quindi basta una singola mutazione (sul cromosoma materno o paterno).

Gli effetti di questa sindrome sono:

- Labio e palato-schisi, con è a mandibola e bocca piccola
- Occhi inclinati verso il basso
- Orecchie con attaccatura bassa
- Crescita ridotta e rallentata
- Ritardo mentale
- Malformazioni cardiache
- **Sottosviluppo di paratiroidi e timo** → **mancata produzione dei linfociti T.**

La mutazione se è in singola copia genera sindrome di DiGeorge, in doppia copia invece si possono avere anche altre condizioni:

- **Sindrome di Cednik** → la mutazione coinvolge il gene per la proteina SNAP29 che si occupa del traffico delle vescicole nei neuroni;
- **Sindrome di Bernard Soulier** → coinvolge la glicoproteina 1BB, che se viene alterata dà problemi a livello dell'aggregazione piastrinica (emorragie).

SCID → severe combined immunodeficiency, o immunodeficienza grave combinata. È un deficit globale dell'immunità sia umorale che cellulomediata, una condizione molto grave che si divide in diverse forme:

- **SCID autosomica recessiva**, da deficit enzimatici di ADA e PNP. Questi enzimi non funzionano correttamente e nella via di formazione di linfociti B e T maturi si avrà un accumulo di metaboliti tossici, che portano alla morte dei linfociti.
- **SCID associata al cromosoma X**, da mutazione della catena γ c del recettore delle citochine.

Sindromi da deficit di cooperazione B-T → normalmente un antigene attiva un linfocita B che si attiva e inizia a produrre un po' di IgM, se lo stesso antigene ha attivato anche linfociti T CD4+, questi a loro volta collaboreranno con il linfocita B per permettere lo switch isotipico di classe anticorpale. Quindi c'è una collaborazione con produzione di specifiche citochine che porta ad una corretta attivazione; queste situazioni deficitarie possono essere sostenute da diversi tipi di mutazione:

- **Deficit nella trasduzione del segnale da parte del TCR** (mutazione su una delle proteine che lo compongono tra catena α , catena β , CD3 e le catene zeta. Quindi in questo caso c'è il riconoscimento dell'antigene ma non avviene il processo di segnalazione.

- **Deficit dell'espressione di MHC** → **BLS (Bare Lymphocyte Syndrome)** per mutazione di molecole implicate nelle vie di presentazione del MHC sulla superficie della cellula;
- **Mutazione CD40-CD40L**, è un costimolo necessario perché avvenga lo switch isotipico. Nel caso sia mutato lo switch non avviene e verranno prodotte esclusivamente IgM. Inoltre essendo CD40 fondamentale anche per potenziare l'attività microbica dei macrofagi, se questo è assente o mutato, non verranno adeguatamente attivati. Il quadro clinico sarà quindi di un'assenza di IgG, IgA, IgE e l'esposizione a infezioni ricorrenti.
- **Deficit selettivi di isotopi Ig**, si riduce o è totalmente azzerata una o più classi specifiche di Ig. Questo comporta maggior suscettibilità a determinate classi di microorganismi (ex se mancano le IgA si avrà maggior suscettibilità ad infezioni a livello di mucose, epitelii, polmoniti..)

***BLS** → la bare lymphocyte syndrome è una condizione tale per cui la cellula perde la capacità di esporre sulla superficie l'antigene associato a MHC:

- **MHCI** → MHC I viene sintetizzato correttamente, ma in genere si ha un deficit della proteina TAP che si occupa del trasporto del peptide verso il reticolo endoplasmatico, dove si lega alla tasca dell'MHC. Se non c'è il legame la molecola non si stabilizza e non verrà espressa sulla superficie.
- **MHCII** → qui c'è proprio una mancata espressione della molecole MHC.

IMMUNODEFICIENZE dell'immunità innata

Sono deficit che riguardano il complemento (C3, C4, C5) e i leucociti dell'innata specialmente i neutrofilii.

- **Malattia granulomatosa cronica**
- **Chediak-Higashi**
- **LAD**

Malattia granulomatosa cronica

Si ha una mutazione in una delle componenti dell'enzima NADPH ossidasi (subunità citoplasmatiche 40-47-67 e di membrana 91-22). La NADPH ossidasi appartiene ai fagociti e si attiva solo quando è necessaria, strappa un e- a NADPH e lo passa all'ossigeno che diventa anione superossido. In questa maniera permette di formare ROS all'interno di queste cellule che i devono occupare delle risposte infiammatorie. Quando questo meccanismo non viene messo in atto si ha una riduzione dell'efficacia, il patogeno non riesce ad essere eliminato nell'immediato e l'infiammazione cronicizza. Per questo il nome della patologia è descrittivo di ciò che avviene: l'infiammazione cronicizza e si formano granulomi, tipici della cronica, nel tentativo di arginare il patogeno.

I sintomi sono: linfadenopatia, epatosplenomegalia, infezioni cutanee croniche, febbre, tosse persistente, malattie gengivali, ascessi cutanei, ipergammaglobulinemia...

Chediak-Higashi

Alterata funzione dei lisosomi, che a causa di una mutazione su un gene (LYST) a funzione ignota, iniziano a fondersi tra loro e smettono di funzionare correttamente. Normalmente, i lisosomi sono fondamentali per i fagociti, fondendosi agli endosomi contenenti ciò che la cellula (macrofago, neutrofilo...) ha fagocitato, rilasciano i loro enzimi che ne permettono la degradazione. Se i lisosomi però si fondono tra loro ci sarà un problema di ingombro, il traffico si "ingorga" e il patogeno non viene più degradato efficacemente.

Complessivamente i neutrofilii possono avere deficit della loro attività battericida per:

- Malattia granulomatosa cronica
- Chediak Higashi

- Deficit della mieloperoxidasi (enzima che normalmente trasforma H₂O₂ in ipoclorito)

LAD

Deficit di adesione leucocitaria (marginazione-adesione-diapedesi), due tipi di LAD con stesso risultato, impossibilità dei leucociti di aderire all'endotelio.

LADI → deficit del leucocita, che non esprime più integrità $\beta 2$. Perciò il leucocita scorre lungo l'endotelio ma non vi aderisce.

LADII → deficit dell'endotelio, che non esprimerà più selectina E e selectina P.

IMMUNODEFICIENZE ACQUISITE

Sono dovute a fattori esterni, infettivi, chimici, fisici, disontogenetici...

- Tumore solido nel midollo osseo che occupa spazio
- **Radiazioni**
- Chemioterapia
- Splenectomia
- **Malnutrizione dell'apporto proteico**
- **HIV** aggredisce i Thelper CD4+, quindi compromette la collaborazione B-T. Decorso del HIV: inizialmente c'è una fase acuta il virus replica molto e aumenta esponenzialmente la viremia, si riducono un po' i linfociti T. Successivamente il virus entra in una fase latente, si ristabiliscono un po' le difese immunitarie, risalgono i CD4+ e a viremia è praticamente nulla. Questa fase di latenza clinica può durare anche mesi-anni, prima dello sviluppo di AIDS conclamato, che porta a una riduzione drastica delle cellule T helper e un nuovo aumento esponenziale della viremia.

RIGETTO DEI TRAPIANTI

Quando si deve trapiantare un tessuto o organo da un paziente all'altro è necessario verificare che ci sia compatibilità massima tra i due, per far sì che il sistema immunitario del ricevente lo tolleri senza avere rigetto. Per **istocompatibilità** si intende proprio la compatibilità tra tessuto del donatore e del ricevente ed è necessario che sia massima, poiché su ogni soggetto sono presenti molecole proprie, self, che generalmente variano da persona a persona. Prima di eseguire un trapianto si verifica che il maggior numero delle proteine tra donatore e ricevente siano identiche.

Criteri dell'istocompatibilità:

- **Gruppo sanguigno AB0**, deve essere lo stesso
- Compatibilità delle molecole **MHC**
- Compatibilità dei **MiHa**

È impossibile, tranne che in gemelli omozigoti, avere antigeni identici, quindi normalmente si seleziona il tessuto con compatibilità più alta.

Le molecole MHC

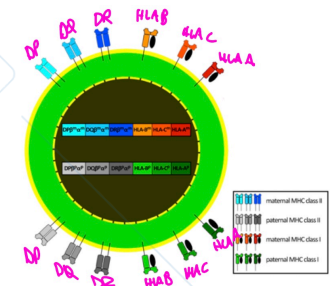
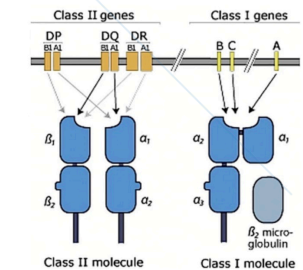
Si dividono in due classi:

- **MHC I** → codificato dai geni localizzati nei loci HLA-A, HLA-B, HLA-C. Si trovano su tutte le cellule enucleate e espongono sulla superficie peptidi self o intracellulari di microorganismi che hanno infettato la cellula, permettendone il riconoscimento da parte dei linfociti T CD8+.
- **MHC II** → codificato dai geni localizzati nei loci HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ. Si trovano solo sulla superficie delle APC, presentano peptidi extracellulari, permettendone il riconoscimento da parte dei linfociti T CD4+.

Ogni locus contiene due alleli (uno per cromosoma), quindi ad esempio su HLA-A abbiamo una copia materna HLA-A 02 e una paterna HLA-A 24. I loci si trovano sul braccio corto del cromosoma 6. Su questo cromosoma, tra i geni che codificano per MHC I e MHC II, ci sono dei geni che sono fondamentali perché codificano per TNF α e β , componenti del complemento e CYP21 (isoenzima del citocromo P450)

MHCI è codificato nei loci A, B, C, che sono disposti in ordine B-C-A. Sono geni polimorfi, quindi con numerose varianti alleliche ed è proprio questa variabilità che li rende "problematici" nel trapianto. MHC I è composto da una catena α con 3 domini immunoglobulinici e una β_2 microglobulina più piccola. La catena α contiene una tasca chiusa che entra in contatto con piccoli peptidi. Permette di esporre sulla superficie peptidi self o di patogeni intracellulari e questo accade grazie al fatto che la proteina TAP permette il trasporto del peptide al RER, dove trova MHC I, a cui si associa e solo una volta che si sono associati la molecola potrà essere espressa sulla superficie (il legame rende la molecola stabile, così da poter essere trasportata dal reticolo endoplasmatico alla superficie della cellula). Alcuni soggetti che presentano una TAP mutata avranno problemi in questo meccanismo e questo si può avere in pazienti con la BLS (bare lymphocyte syndrome).

MHCII è codificato da geni che si trovano nei loci HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR. È formato da una catena α e una β , formate ciascuna da due domini. Le due catene legandosi formano una tasca aperta che può contenere peptidi di maggiori dimensioni rispetto a MHC I. Parliamo complessivamente di una situazione di poligenia, ossia 6 geni che vengono ereditati in maniera indipendente dai genitori e sono espressi in maniera codominante. Quindi sulla superficie saranno espressi sia gli alleli che derivano da un genitore sia quelli che derivano dall'altro. Vengono ereditati in pacchetti, quindi un gemello omozigote ha la stessa situazione genetica sulle molecole MHC. Donatore e ricevente devono avere il maggior numero di alleli identici, poiché dalla percentuale di compatibilità di MHC dipende l'esito del trapianto.



- Nessun allele diverso su MHCI e MHCII → 85% buona riuscita del trapianto;
- Con 2 alleli MHCI diversi → 80% di riuscita del trapianto

I MiHa

I MiHa sono antigeni minori di istocompatibilità, sui quali è impossibile raggiungere il 100% di corrispondenza donatore-ricevente. Possiamo infatti trovare MHC compatibili, ma sugli MHCI vengono espressi peptidi self del donatore, sui quali è impossibile azzerare la differenza rispetto al ricevente. Appena l'organo è trapiantato infatti questi peptidi saranno riconosciuti dai linfociti (i Th CD4 si dirigono verso MHCII, i citotossici CD8 verso MHCI). I CD8 si trovano ad entrare in contatto con molecole MHCI che riconoscono come self, ma associate a peptidi che appartenevano al donatore, che verranno viste come estranee.

Sequenze temporali negli eventi di rigetto

- **Il trapianto viene accettato** → si avrà comunque una situazione infiammatoria, per la presenza di una ferita chirurgica, quindi di danno vasale. Si attiva la plasmina, che attiva a sua volta bassi livelli del complemento. Arrivano nella regione pochi linfociti che concorrono alla guarigione e entro 2 settimane l'organo viene accettato.
- **Rigetto primario** → si verifica in occasione di un primo trapianto in un paziente mai precedentemente esposto agli antigeni del donatore. In questo caso, il sistema immunitario del ricevente riconosce per la prima volta le molecole MHC estranee del donatore (e i peptidi associati), attivando una risposta immunitaria specifica ma a comparsa ritardata: la reazione si sviluppa nell'arco di **2-3 settimane**. In questa fase si instaura una reazione infiammatoria a livello del sito trapiantato, con attivazione del complemento e richiamo di leucociti. La risposta è sia cellulo-mediata che anticorpale: I linfociti T helper CD4⁺ si attivano riconoscendo l'MHC II del donatore (tramite alloreattività diretta), e secernono citochine come IFN- γ , che attiva i macrofagi, i quali rilasciano specie reattive dell'ossigeno e mediatori infiammatori, contribuendo al danno tissutale. I linfociti T CD8⁺ riconoscono le cellule del trapianto che esprimono MHC I estraneo e le uccidono direttamente tramite meccanismi citotossici indotti da IL-2. Anche i linfociti B possono essere attivati e produrre anticorpi contro antigeni del donatore, che a loro volta: attivano il sistema del complemento, amplificando il danno, oppure mediano ADCC (citotossicità cellulare anticorpo-dipendente) tramite cellule effettrici come i linfociti NK. **Nel giro di 2-3 settimane, se non trattato, il trapianto va incontro a distruzione completa del tessuto impiantato.**
- **Rigetto secondario** → se un ricevente riceve una seconda volta un trapianto dallo stesso donatore, in cui troviamo stesse molecole MHC, si verifica un processo di rigetto più rapido in **4-5 giorni**: è come se il paziente fosse immunizzato verso quel tessuto e si è prodotta **memoria** (un po' come nel vaccino). Sperimentalmente si può verificare su animali di laboratorio in cui si fa un primo trapianto (ex a un topo di ceppo X trapianto un tessuto di topo di ceppo Y), i cui tessuti verranno distrutti dopo un paio di settimane. Se si fa successivamente un altro trapianto con tessuto che deriva dallo stesso topo di ceppo Y, il rigetto sarà più rapido, perché il sistema immunitario del ricevente sarà più veloce nella sua azione. Se invece ipoteticamente trapiantassi un tessuto da un altro topo di ceppo Z, avrei di nuovo un rigetto primario perché si tratta di molecole antigeniche differenti.

Danno da riperfusione

L'organo da trapiantare viene mantenuto in sacche termiche contenenti un liquido di conservazione, contenente inibitori del danno da riperfusione:

- Inibitori della xantina ossidasi
- Sostanze antiossidanti

Quando viene infatti ricucito l'organo nel ricevente e ricostituita la vascolarizzazione c'è rischio che questi tessuti vadano incontro a danno ossidativo, mediato dalla formazione di anione superossido o acqua ossigenata. Si deve evitare la morte delle cellule per **perossidazione lipidica**.

Inoltre si deve anche tenere conto dei livelli di ferro libero, per la possibilità che possa causare **ferroptosi**.

Ruolo delle APC nel rigetto

Controllare le APC è molto complesso, quasi impossibile, rappresentano un punto critico nello sviluppo del rigetto. Entrano in gioco con due meccanismi distinti:

- **Riconoscimento diretto** → le APC del donatore vengono trapiantate con l'organo e possono rimanere adese alla parete vascolare. Queste APC possono esprimere sulla superficie MHCII allogeniche, che appartengono al donatore e non al ricevente. Queste verranno riconosciute dai linfociti T CD4+ alloreattivi del ricevente, che innescano una risposta immunitaria acuta.
- **Riconoscimento indiretto** → le APC del ricevente fagocitano molecole self del donatore, esprimendole sulla superficie grazie a MHCII. Quindi queste APC esponendo elementi estranei al ricevente determineranno l'attivazione di linfociti T CD4+, attivando una risposta immunitaria adattativa.

Quando si parla di APC nel trapianto si deve far riferimento anche al **microchimerismo** → ci sono infatti alcuni casi in cui piccoli numeri di cellule del donatore (linfociti e APC) sopravvivono a lungo nel ricevente e vanno a posizionarsi nei diversi organi linfoidi. Questi possono contribuire alla tolleranza centrale o periferica, insegnando ai linfociti del ricevente a riconoscere le molecole presentate come self, evitando quindi di reagire contro il tessuto trapiantato. Quindi in questo caso le APC possono favorire l'attecchimento del trapianto, "tranquillizzando" il sistema immunitario del ricevente.

Tipi di rigetto

- **Iperacuto** → si ha solo in caso di errori medici grossolani, a partire da gruppo sanguigno ABO non compatibile. Quindi ci saranno nel ricevente già anticorpi liberi pronti ad aggredire il tessuto trapiantato, già nell'arco di poche ore si ha ADCC. In 2-3 giorni l'organo trapiantato deve essere rimosso, perché è andato in necrosi. Il paziente può avere febbri molto alte per via della tempesta citochimica che viene scatenata, ci sono livelli molto alti di TNF- α nel sangue (*prodotto dai macrofagi attivati, linfociti T, NK, endotelio... genera risposte infiammatorie inducendo attivazione dell'endotelio vascolare, stimola la produzione di altre citochine e può dare citotossicità diretta tramite attivazione del complesso del Death Domain TRADD, FADD e caspasi*), c'è rischio di sviluppare CID o ARDS.
- **Acuto** → si genera in 1-2 settimane, ci sono delle incompatibilità che generano attivazione dei linfociti T helper e citotossici, che riconoscono gli antigeni estranei. Le prime cellule del tessuto trapiantato che entrano in contatto con il sistema immunitario del paziente che ha ricevuto il trapianto sono quelle dell'endotelio vascolare. L'endotelio nel rigetto iperacuto viene distrutto immediatamente, mentre nel rigetto acuto subisce un attacco a più bassa intensità, che deve comunque essere tenuto sotto controllo con corticosteroidi, immunosoppressori, antinfiammatori...
- **Cronico** → riguarda tutti i soggetti che vengono trapiantati eccetto i gemelli omozigoti. Si può definire un particolare caso di ipersensibilità di tipo IV. Viene prodotto dall'attivazione costante dei linfociti T da parte dei MiHa, i quali sono molto variabili e quindi la diversità è praticamente impossibile da azzerare. I linfociti T si accumulano sul posto e continuano ad essere attivati, producendo citochine che richiamano macrofagi e altre cellule dell'infiammazione. In questo modo viene mantenuta una condizione di infiammazione cronica.

GVHD

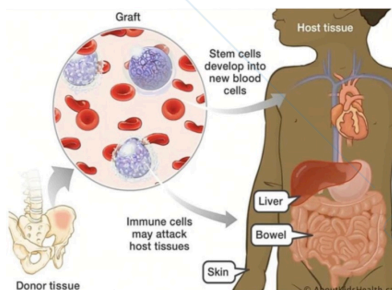
Graft Vs Host Disease, letteralmente: malattia del trapianto verso l'ospite. È una situazione in cui le APC e i linfociti che si trovano nell'organo trapiantato (quindi appartenenti al donatore) generano una risposta immunitaria verso l'organismo del ricevente, che riconoscono come estraneo. Inoltre è possibile che le APC del donatore migrino nel timo e inizino a coordinare i meccanismi di tolleranza centrale educando "in maniera erronea" i linfociti T. Anche questa condizione è imputabile ai MiHa.

È una condizione patologica riscontrabile prevalentemente in trapianti del midollo, poiché quando si trapianta un altro organo, di norma questo viene deterso e vengono rimosse moltissime APC e linfociti. Nel midollo è praticamente impossibile effettuare una rimozione precisa ed efficace di queste cellule.

I sintomi e segni di GVHD sono riscontrabili su cute, fegato e intestino. Ne esistono due forme:

• **Acuta** → si presenta nei primi tre mesi dal trapianto, si manifesta con la necrosi dell'epitelio di cute, fegato e tratto gastrointestinale. I sintomi che accusa il paziente sono diarrea, emorragie, ittero, eruzioni cutanee. Nelle situazioni più gravi il paziente può avere insufficienza epatica o andare in setticemia, fino a morire se il danno è molto esteso.

• **Cronica** → va avanti nei mesi e anni. Si manifesta con fibrosi e atrofia della pelle, del fegato e dell'intestino. Ha sintomi più



sfumati, non c'è morte cellulare acuta. Può diventare molto grave, fino alla morte, se intacca le vie aeree. Per quanto riguarda la causa è ancora dibattuto se possa essere un tentativo dell'organismo di arginare la GVHD acuta, o se sia conseguenza del danno vascolare.

Trapianto di midollo

Trapianto di tessuto emopoietico contenente cellule staminali, da un individuo all'altro. Viene usata per curare alcuni pazienti affetti da leucemie, anemia falciforme... il problema è che queste cellule staminali trapiantate dal donatore al ricevente, possono riconoscere il ricevente come estraneo (nonostante la compatibilità venga portata al massimo possibile, ci saranno sempre MiHa specifici che differiscono tra i diversi individui). In particolare i linfociti CD4+ e CD8+ possono attivarsi e generare una reazione immunitaria. Per prevenire in parte questa reazione si fanno fare al donatore delle terapie immunosoppressive contro le cellule T, per eliminarle dal tessuto che dovrà essere trasferito.

È necessario parlare anche del concetto di **immunodominanza** → le risposte immunitarie in queste situazioni si attivano solamente verso specifiche combinazioni MHC-peptide; *ad esempio posso avere 2 MHC diversi tra donatore e ricevente e 10 peptidi, quindi 20 combinazioni possibili, ma il sistema immunitario si attiverà solamente verso 3 combinazioni.*

Terapia anti-rigetto

- Antibiotici: ciclosporina e ciclospodina modificate, rapamicina;
- Anticorpi monoclonali: anti CD3 e anti-recettore di IL-2
- CTLA-Ig: il fattore di inibizione CTLA4 viene montato su un'IgG, quindi la possiamo trovare in forma solubile. Questo CTLA4 solubile legherà B7 delle APC inibendo in funzionamento di questo segnale costimolatorio.

IMMUNITÀ E TUMORI

Tra sistema immunitario e tumori c'è un'interazione che tutt'ora viene studiata, per comprendere se in futuro sarà possibile usare la risposta immunitaria per bloccare la proliferazione tumorale. Ad oggi sappiamo che:

- Quando troviamo **infiltrati linfocitari** (e talvolta linfonodi metastatizzanti) dentro un tessuto tumorale, la situazione è grave, poiché questi **favoriscono la crescita tumorale**;
- Nei topi da laboratorio si può indurre il rigetto verso un determinato tumore “vaccinando” l'individuo con proteine di quel tumore: se trapianto un tumore in un topo vaccinato con proteine di quel tumore, l'animale presenterà una **risposta immunitaria acquisita** verso quel tessuto, rigettando il tumore. Inoltre presenta anche caratteristiche dell'**immunità passiva**, poiché se prelevo linfociti dal topo vaccinato e li metto in un altro topo, anche quest'ultimo rigetterà il tumore. Nell'uomo questo non accade, le risposte sono minime. Si è provato anche a far reagire in vitro linfociti umani contro il tumore e poi a infondere gli stessi linfociti nel soggetto, senza ottenere grandi risultati.
- Si è visto che **soggetti immunodeficienti** (magari esposti a trattamenti anti-linfocitari) **sono più esposti allo sviluppo di tumori**: questo vuol dire che anche se non ce ne accorgiamo, il sistema immunitario combatte verso i tumori e, quando la sua funzionalità si riduce, aumenta il rischio di sviluppo neoplastico.

Rigetto del tumore nel topo

Concetto di topo singenico → topi geneticamente modificati per essere identici, come gemelli omozigoti. Quindi parlare di un “ceppo di topi singenici” è come dire topi geneticamente uguali.

Esperimento 1 → induco tumore su un topo A, prendo delle cellule tumorali da questo e le inoculo a un topo :

- Dello stesso ceppo: i topi sono singenici, il tessuto viene accettato e il tumore riparte.
- Di un altro ceppo: il tumore non progredisce, verrà rigettato come un qualsiasi tessuto estraneo.

Esperimento 2 → prendiamo 2 topi dello stesso ceppo e induciamo due tipi diversi di tumore (un tumore X e un tumore Y). Prelevando alcune cellule del tumore X e inoculando proteine tumorali ad un altro topo dello stesso ceppo, questo topo si immunizzerà, quindi a questo punto se nel topo immunizzato verso il tumore X:

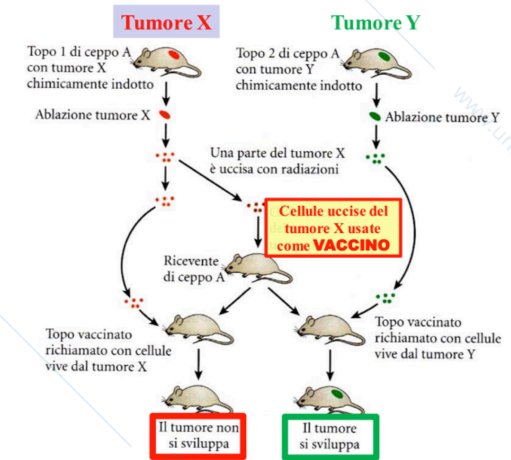
- Trapianto il tumore X → il topo rigetterà il tumore, si genera una risposta immunitaria nei confronti di quel tessuto. Quindi il tumore non riparte.
- Trapianto il tumore Y → il topo non era stato immunizzato verso questo diverso tumore, che quindi attecchisce nel topo e riparte senza controllo.

Perché quando ad un topo do cellule di un tumore che vengono da un topo singenico, questo si può immunizzare? Le cellule tumorali del topo vanno incontro a diverse mutazioni sul loro genoma, quindi sulla loro superficie esprimeranno anche proteine mutate, che saranno riconosciute come NON self, dal topo ricevente il tessuto, nel momento in cui vado a trapiantare queste cellule tumorali. Ciò è dovuto all'**instabilità genomica delle neoplasie**.

Formazione degli antigeni tumorali

La formazione di antigeni tumorali deriva da:

- Mutazioni genetiche su oncogeni, oncosoppressori e protoncogeni (geni che una volta mutati favoriscono la proliferazione incontrollata delle cellule);



- Espressione anomala delle proteine self → in zone diverse dal normale sulla membrana o un quantità eccessive (over-expression)
- Virus che introducono proteine virali o proteine cellulari mutate, che saranno espresse grazie a MHC I sulla superficie e riconosciuti da i CD8+.

Categorie di antigeni tumorali:

- Antigeni tumore-specifici (TSA) → presenti solo sulle cellule tumorali
- Antigeni tumore-associati (TAA) → presenti sul tumore, ma anche sulle cellule normali in quantità inferiori; oppure erano espresse durante la vita embrionale. Un esempio possono essere anche le proteine self che vengono iperespresse sulle cellule tumorali e vengono riconosciute come non self.

Fallimento della risposta immunitaria

Perché le cellule tumorali non vengono riconosciute come estranee ed eliminate dal sistema immunitario?

Ci sono varie spiegazioni:

- La cellula tumorale mutata **non riesce a presentare i suoi antigeni non self sull'MHC**, perde la capacità di presentare MHC+peptide sulla membrana.
- La cellula tumorale **smette di esprimere MHC totalmente**. Si potrebbe pensare che l'assenza di MHC sulla cellula possa destare sospetto nei linfociti, ma non è così, perché il linfocita riconosce la presenza della cellula "toccando" gli MHC, quindi se sono totalmente assenti, la cellula viene ignorata
- Le mutazioni che si verificano sulle cellule tumorali le possono portare a morte, ma anche a produrre proteine errate, tra cui appunto **citochine inibitorie come TGFβ e IL-10**. Queste bloccano l'attivazione di una risposta immunitaria.

Le cellule tumorali si comportano un po' secondo la logica evolutiva Darwiniana: una massa tumorale si compone di miliardi di cellule che accumulano continuamente mutazioni, il sistema immunitario cerca di proteggere l'organismo eliminando le cellule che riconosce come non self, ma in questa maniera seleziona tutte quelle cellule che gli sono invisibili e che sono più aggressive (magari hanno perso la capacità di esprimere MHC, producono citochine inibitorie...)

*Il sistema immunitario diventa un **fattore di progressione neoplastica**, aiuta a selezionare le cellule più aggressive e meno visibili al sistema immunitario stesso, eliminando invece quelle che gli risultano riconoscibili.*

Oltre alla perdita di espressione di MHC e alla produzione di citochine anti-infiammatorie, il sistema immunitario smette di riconoscere le cellule tumorali perché:

- Le cellule tumorali **smettono di esprimere i TSA** (antigeni tumorali specifici), che prima consentivano l'attivazione di una risposta da parte dei linfociti. Con l'accumulo di mutazioni non viene più espressa sulla superficie;
- La **mancanza di espressione di MHC** fa sì che, anche se TSA sono presenti, non vengano espressi sulla superficie;
- Il linfocita T citotossico CD8+ vede il TSA, lo riconosce, ma non riesce a mandare la cellula in apoptosi perché le **mutazioni hanno bloccato l'espressione di FAS**. Quindi non potrà essere attivata la via di FAS-FAS L.
- L'**iperpressione di BCL2** blocca l'apoptosi. È una proteina anti-apoptotica che impedisce l'apertura dei pori mitocondriale, bloccando la via intrinseca dell'apoptosi.

Strategie sperimentali per far riconoscere meglio le cellule tumorali al sistema immunitario

Transfezione → inserimento di materiale genetico dentro un'altra cellula, in questo caso tumorale, per far esprimere molecole immunostimolanti.

I diversi tipi di transfezione che vengono attuati sono:

- Transfezione del tumore con il **gene IL-2**, per allertare il sistema immunitario della presenza del tumore. Non si può fare sull'uomo perché stimolerebbe troppo il sistema immunitario, generando infiammazioni sistemiche, risposte autoimmuni...
- Transfezione con il **gene per B7**, è il segnale co-stimolatorio per eccellenza, lega CD28 sul linfocita per attivarne la risposta.
- Transfezione con il **gene IFN-γ**, permette l'amplificazione dell'attivazione macrofagica. Queste cellule fagocitano il materiale e fanno da APC, aumentando la presentazione delle proteine tumorali ai linfociti.

Il problema di fondo è che i linfociti risultano un po' **anergici**, quindi anche riconoscendo il tumore, non si attivano efficacemente. Ad oggi sono solo prove sperimentali.

Molecole che implicano anergia

- **CTLA-4** → normalmente quando c'è un riconoscimento tra TCR e MHC, contemporaneamente, perché avvenga l'attivazione ci deve essere un segnale costimolatorio attivante, normalmente dato dalla molecola B7 espressa dalle APC, che lega il CD28 sui linfociti T. Esiste però questa molecola CTLA-4, che viene comunemente espressa anche su cellule normali, sane ed è un segnale inibitorio che blocca l'attivazione del linfocita. Questa CTLA-4 viene prodotta in condizioni fisiologiche a seguito dell'attivazione della risposta immunitaria da parte del linfocita, grazie allo stimolo da parte delle citochine IL-2 e IFN- γ . Quindi mentre in situazioni normali serve per regolare la risposta immunitaria, impedendo un eccesso, nel caso di cellule tumorali diventa un impedimento verso la corretta risposta.
- **PD1** → PD1 è un recettore espresso sui linfociti, ha attività inibitoria e quindi è in grado di bloccare l'attivazione linfocitaria nel momento in cui si associa al suo legando PD-L1. Normalmente quando un'infezione si protrae troppo a lungo viene prodotto dalle cellule tissutali, tra cui anche quelle del sistema immunitario (ex macrofagi) il PD-L1. Nel caso delle cellule tumorali l'espressione di questa molecola (PD-L1) può essere costitutiva, in seguito a una mutazione sul genoma della cellula, che ne ha determinato la produzione costante; oppure può essere indotta dagli stessi segnali infiammatori rilasciati dai linfociti, ossia il linfocita riconosce la cellula tumorale e si attiva, producendo interleuchine tra cui IFN- γ , che stimola la produzione di PD-L1 da parte delle cellule tissutali e l'incontro tra PD1. E PD-L1 genera un blocco, paralizza i linfociti. Spesso in questo fenomeno entrano anche le altre cellule del sistema immunitario, come cellule dendritiche o macrofagi, che stimolate dal microambiente infiammatorio tumorale vanno a esprimere anch'esse PD-L1 bloccando l'attività dei linfociti.

Ad oggi si sta provando a produrre anticorpi monoclonali preparati per bloccare queste molecole: PD-L1 e CTLA-4 per evitare questo effetto inibitorio e permettere di sviluppare una risposta immunitaria completa verso il tumore.

Vaccinazione antitumorale

Sono tecniche sperimentali, che funzionano sugli animali sigenici, ma non sugli esseri umani. I tentativi sono stati fatti con:

- Cellule dendritiche in cui si inserisce l'antigene tumorale, in maniera tale da farlo presentare sulla loro superficie. Queste vengono quindi prelevate dal soggetto, caricate con antigene tumorale, fatte proliferare in vitro e reinserite nell'organismo. L'obiettivo è far sì che queste vadano ad attivare i linfociti che incontrano;
- Cellule dendritiche in cui viene inserito un plasmide nel genoma, che verrà espresso e presentato sulla membrana grazie a MHCI e MHCII, in maniera tale da attivare linfociti CD4+ e CD8+
- Cellule tumorali indotte ad esprimere B7 e IL-2, in modo da attivare i linfociti che hanno riconosciute.

Per avere una risposta efficace sarebbe necessario:

- Indurre **alti numeri di linfociti T specifici** che possano andare a aggredire le cellule tumorali;
- Far **entrare i linfociti nella massa tumorale**, che spesso non è facilmente accessibile: si fa stimolando con interferenti, citochine e recettori TLR;
- Far **persistere a lungo la risposta immunitaria**, evitando che venga spenta da molecole inibitorie → uso di anticorpi monoclonali anti-PD-L1 e anti-CTLA-4

Vaccini a mRNA

Sono molto simili a quelli prodotti contro il COVID-19, contenenti mRNA. Si inietta nel braccio del paziente una molecola di mRNA che, una volta tradotta dalle cellule del paziente in cui è stata iniettata, produrrà l'antigene, una proteina tumorale. Questa proteina tumorale verrà quindi espressa sulle cellule del paziente assieme al MHC, in genere le prime a esprimerla sono le fibrocellule muscolari, poi i macrofagi, le cellule dendritiche... e attiveranno i linfociti T, che potranno riconoscere l'antigene sulle cellule tumorali vere e proprie, aggredendole.

Molti tumori vengono trattati con mRNA: pancreas, colon, melanoma, mammella, prostata, polmone, ovaio...