SUPPORT • EDUCATION • RESEARCH

IWMF

International Waldenstrom's Macroglobulinemia Foundation

La Macroglobulinemia di Waldenström
Immunologia di base

Dichiarazione di vision di IWMF

Supportare chiunque abbia a che fare con la Macroglobulinemia di Waldenström mentre si accrescono i progressi della ricerca per ottenerne la guarigione.

Dichiarazione di mission di IWMF

Offrire mutuo supporto e incoraggiamento alla comunità della Macroglobulinemia di Waldenström e ad altri che abbiano un interesse riguardo alla patologia.

Fornire informazioni e programmi educazionali utili a indirizzare le preoccupazioni dei pazienti.

Promuovere e supportare la ricerca che conduce a migliori terapie e, in ultimo, alla guarigione.

Pubblicato da International Waldenstrom's Macroglobulinemia Foundation (IWMF).

Queste informazioni sono fornite gratuitamente. Ti chiediamo di prendere in considerazione di aderire e/o dare un contributo a IWMF per permetterci di continuare a fornire materiali come questo e di promuovere la ricerca al fine di ottenere sempre migliori trattamenti e la guarigione per Macroglobulinemia di Waldenström. Puoi aderire e/o dare un contributo sul nostro sito web, www.iwmf.com, oppure puoi spedire un'offerta a: 6144 Clark Center Avenue, Sarasota, FL 34328.

IWMF è un'Organizzazione Non Profit esente da tassazione, Fed ID # 54-1784426.

Revisione 2014, 2018.

Traduzione in italiano validata da Annamaria Nosari
per il Gruppo di Supporto Pazienti WM-Italy

Fondazione Malattie del Sangue Onlus
Ematologia Grande Ospedale Metropolitano Niguarda
Piazza Ospedale Maggiore 3 - 20162 Milano
wm_it@malattiedelsangue.org
www.malattiedelsangue.org

INDICE

PREFAZIONE 4

INTRODUZIONE 5

INTRODUZIONE AL SISTEMA IMMUNITARIO 7

BIOLOGIA CELLULARE DI BASE 8

CRESCITA E MORTE CELLULARE 11

CELLULE DEL SISTEMA IMMUNITARIO 12

MOLECOLE BIOLOGICHE DEL SISTEMA IMMUNITARIO 18

ORGANI E TESSUTI DEL SISTEMA IMMUNITARIO 20

ANTICORPI/IMMUNOGLOBULINE 22

CITOTOSSICITÀ CELLULO-MEDIATA ANTICORPO-DIPENDENTE (ADCC) E CITOTOSSICITÀ COMPLEMENTO- DIPENDENTE (CDC) 29

FONDAMENTI DI GENETICA 30

GENETICA DI BASE APPLICATA ALL'IMMUNOLOGIA 46

FISIOPATOLOGIA DELLA MACROGLOBULINEMIA DI WALDENSTRÖM 52

STRUMENTI UTILIZZATI NELLA RICERCA GENETICA 53

POSTFAZIONE 56

RINGRAZIAMENTI 58

GLOSSARIO 59

PREFAZIONE

Questa pubblicazione affronta in modo aggiornato ed esaustivo l'immunologia correlata con la macroglobulinemia di Waldenström (Waldenstrom's Macroglobulinemia, WM). È importante, comprendere il sistema immunitario dal punto di vista di questa malattia.

Questo opuscolo inizia con un'introduzione al sistema immunitario, per poi esaminare le cellule coinvolte. La crescita e la morte cellulare sono descritte brevemente. Vi è un'ampia sezione dedicata alle citochine e un'eccellente analisi delle immunoglobuline, che hanno un ruolo della massima importanza. La trattazione comprende la struttura dei geni delle immunoglobuline e anche una breve e chiara discussione sulla genetica dell'immunologia. Viene poi brevemente presentata la terapia cellulare adottiva, che rappresenta un nuovo approccio terapeutico per la macroglobulinemia di Waldenström e per i disturbi correlati.

È un momento entusiasmante per la WM. È fondamentale comprendere il funzionamento del sistema immunitario per potersi avvalere al meglio delle nuove conquiste scientifiche.

Robert A. Kyle, MD
The Mayo Clinic
2014, 2018

INTRODUZIONE

Questo opuscolo è l'edizione 2018, rivista e ampliata, di un opuscolo pubblicato per la prima volta agli inizi del 2007 come approfondimento di un breve articolo che ho scritto nel 2001 intitolato "Immunologia 101." Mi avevano appena diagnosticato la macroglobulinemia di Waldenström (WM) e avevo iniziato a ricercare nella letteratura medica disponibile fonti aggiuntive di informazioni su questa malattia misteriosa.

La mia ricerca di fonti di riferimento su questo raro tipo di tumore del sistema immunitario si dimostrò insoddisfacente. La maggior parte delle riviste mediche riportava occasionalmente brevi articoli sulla WM ed erano necessari frequenti rimandi ai miei libri di testo degli anni '80 sull'immunologia, ormai vecchi e datati. Fortunatamente, insieme alla mia fidata copia del Dizionario medico illustrato Dorland e ad edizioni più aggiornate di manuali di immunologia delle facoltà di medicina presi in prestito per periodi prolungati dalla biblioteca dell'ospedale locale, ho iniziato a riscoprire lentamente l'affascinante mondo dell'immunologia umana.

La fonte di informazioni di gran lunga più importante che ho "scoperto" è stata la International Waldenström's Macroglobulinemia Foundation (IWMF) e il suo fantastico forum su Internet, l'IWMF-Talk, ora conosciuto come IWMF-Connect. Su IWMF-Connect vengono fornite numerose informazioni pratiche discusse dai pazienti veri, sia che si tratti di questioni legate ai trattamenti, dell'importante supporto emotivo o di strategie per affrontare questa malattia strana e incurabile. Ho subito compreso che molti pazienti traevano grande beneficio dalla possibilità di informarsi sulla loro malattia.

La rapidità dei progressi della ricerca medica e il meraviglioso sostegno che l'IWMF ha dato ai ricercatori dediti allo studio della WM hanno portato a progressi significativi e costanti nella comprensione di questa malattia e nello sviluppo di opzioni terapeutiche, un motivo fondamentale che rendeva necessaria questa revisione. Con l'aumentare dei nuovi trattamenti che vengono studiati nei trial clinici di tutto il mondo, i pazienti affetti da

WM adesso hanno bisogno, più che mai, di ricevere informazioni sulla loro malattia e sul ruolo fondamentale che il loro sistema immunitario svolge nella genesi della WM, nonché nella loro risposta al trattamento.

Ho cercato di scrivere questo opuscolo in un linguaggio che fosse il più semplice possibile e viene fornito un Glossario per alcuni termini selezionati che compaiono in grassetto quando vengono utilizzati per la prima volta. Il lettore troverà inoltre dei riquadri di testo che trattano di genetica e immunologia in relazione a recenti scoperte nel campo della ricerca sulla WM. Mi sono adoperato per presentare le informazioni più accurate attualmente a disposizione; tuttavia, alcune informazioni dovranno sicuramente essere aggiornate man mano che verranno fatte nuove scoperte. Naturalmente, sono ben accette tutte le correzioni che possano migliorare questo testo. Vorrei incoraggiare i pazienti con WM a cercare ulteriori fonti di informazioni e a mantenere inalterata la sete di conoscenza per questo meraviglioso e veramente affascinante mondo della immunologia umana.

Negli ultimi anni è cresciuto l'interesse per la biologia molecolare e la genetica del sistema immunitario e della WM, e parallelamente si è intensificata la ricerca in questi ambiti. Il Consiglio della IWMF mi ha quindi incoraggiato a rivedere questo opuscolo e ad aggiungere informazioni sulla biologia cellulare di base e ad ampliare il testo con una sezione di genetica generale. Spero che questo mio modesto opuscolo possa aiutare i pazienti affetti da WM nel loro sforzo di comprendere meglio questa malattia e a mobilitare risorse per una lotta vincente contro la WM e per la sopravvivenza al tumore.

Guy Sherwood, MD
Gennaio 2018

Copyright IWMF e Guy Sherwood, MD, 2007
Revisionato nel 2014,
Revisionato nel 2018.

INTRODUZIONE AL SISTEMA IMMUNITARIO

Viviamo in un contesto ambientale in cui siamo continuamente esposti a un'enorme varietà di microorganismi patogeni: i batteri che ci lasciano in "condizioni pietose" con la sinusite, i virus che possono provocare i dolori fastidiosi dell'Herpes Zoster, i microorganismi fungini che scoloriscono le nostre unghie dei piedi, gli organismi complessi come quello responsabile della malaria che uccide milioni di persone ogni anno e le strane particelle proteiche chiamate prioni implicate nella malattia della "mucca pazza". Fortunatamente, la razza umana è dotata di un sistema immunitario evoluto che è in grado di proteggerci da molti microorganismi, per cui la maggior parte delle infezioni ha vita breve e lascia pochi danni permanenti.

Immunità, antigeni e immunogeni

L'immunità è il meccanismo attraverso il quale il corpo si protegge dagli agenti ambientali estranei. Una molecola estranea presente sulla superficie di un agente infettivo (ad es. batteri, virus o altri patogeni) prende il nome di antigene. Un immunogeno è un antigene capace di indurre una risposta immunitaria. I composti immunogeni sono tipicamente estranei per l'individuo, hanno un elevato peso molecolare (grandi dimensioni) e sono chimicamente complessi. I batteri e le proteine come i pollini possono provocare risposte immunitarie, mentre molecole più piccole, come la maggior parte dei farmaci semplici (a meno che non siano combinati con una molecola trasportatrice o "carrier") generalmente non evocano una risposta immunitaria. In sostanza, tutti gli immunogeni sono antigeni, ma non tutti gli antigeni sono immunogeni.

Il sistema immunitario umano

Esistono due tipi di immunità: l'**immunità innata** e l'**immunità acquisita**.

L'immunità innata (nota anche come immunità non adattativa) è costituita da meccanismi di protezione di cui l'individuo è dotato sin dalla

nascita e che sono sempre presenti e prontamente disponibili per proteggerlo dall'infezione. Esempi di immunità innata sono la barriera protettiva della cute, la mucosa delle vie aeree superiori, il riflesso della tosse, il pH acido dello stomaco ed enzimi come il lisozima presente nelle lacrime. All'immunità innata contribuiscono anche componenti interne, tra cui la febbre, proteine specializzate presenti nel sangue, sostanze chimiche quali l'interferone rilasciato dalle cellule immunitarie e certe cellule immunitarie che agiscono come "guardie del corpo" aspecifiche contro eventuali invasori esterni.

A noi interessa maggiormente l'immunità acquisita (definita anche immunità adattativa). Questo tipo di immunità è considerevolmente più specializzato e complesso. L'immunità acquisita è una manifestazione relativamente nuova dell'evoluzione, presente solo nei vertebrati. La differenza principale tra l'immunità innata e quella acquisita è che la risposta immunitaria acquisita è altamente specifica per un particolare antigene; pertanto è necessario un primo contatto con l'antigene estraneo, che innesca una catena di eventi, che attivano questa forma di immunità. La risposta immunitaria acquisita migliora a ogni successiva esposizione a quel determinato antigene e "ricorda" le proprietà antigeniche di un particolare agente infettivo e può successivamente impedirgli di causare la malattia.

L'iniziale esposizione del sistema immunitario a un agente estraneo o a un patogeno viene chiamata immunizzazione. Questa risposta immunitaria innesca moltissimi eventi, tra cui l'attivazione di cellule denominate leucociti (globuli bianchi), e la successiva produzione di anticorpi.

BIOLOGIA CELLULARE DI BASE

Le cellule sono le unità biologiche strutturali e funzionali di base di tutti gli esseri viventi. Il corpo umano è composto da trilioni di cellule che ne costituiscono la struttura, assorbono i nutrienti dall'alimentazione, producono energia e svolgono numerosi compiti specializzati. Le cellule contengono anche il materiale ereditario del corpo e rappresentano le più piccole unità di vita in grado di riprodursi autonomamente.

Le cellule sono formate da numerose parti specializzate chiamate organelli, ciascuno con una funzione differente. Per amor di brevità, ci concentreremo principalmente nella descrizione di cinque parti costitutive della cellula: la membrana plasmatica, il citoplasma, i mitocondri, il nucleo e due piccole strutture cellulari: **i ribosomi** e i **proteasomi** (Figura 1).

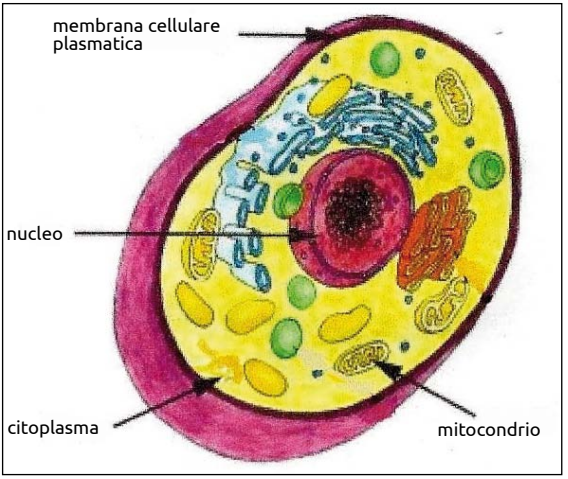

Figura 1. Una tipica cellula e alcune strutture associate.

La membrana plasmatica è il rivestimento esterno della cellula: la separa dall'ambiente circostante, svolge un ruolo fondamentale nella comunicazione tra la cellula e il suo ambiente e consente l'ingresso e l'uscita delle sostanze. Nello spessore della membrana plasmatica si trovano immerse una gran varietà di molecole proteiche che agiscono come canali e pompe per il movimento di diverse molecole all'interno e all'esterno della cellula. Le membrane della superficie cellulare contengono inoltre proteine con funzione recettoriale che consentono alle cellule di individuare molecole esterne di segnalazione (ad es. il recettore CD20 che comunica con l'agente rituximab, frequentemente utilizzato in immunoterapia) (Figura 2).

All'interno della cellula, il citoplasma (o protoplasma) contiene molte molecole, quali proteine e acidi nucleici, e organelli come i mitocondri e

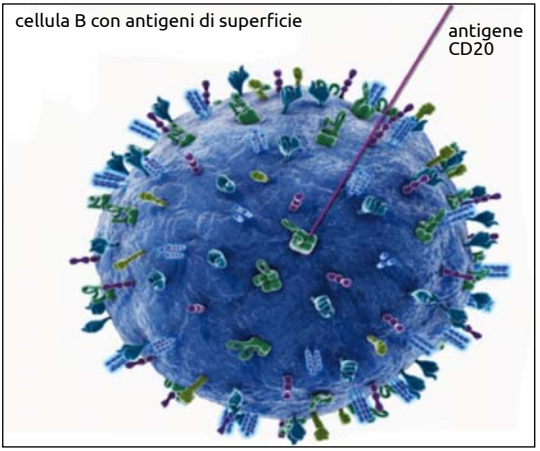

Figura 2. Una cellula B con i suoi antigeni di superficie, compreso il CD20.

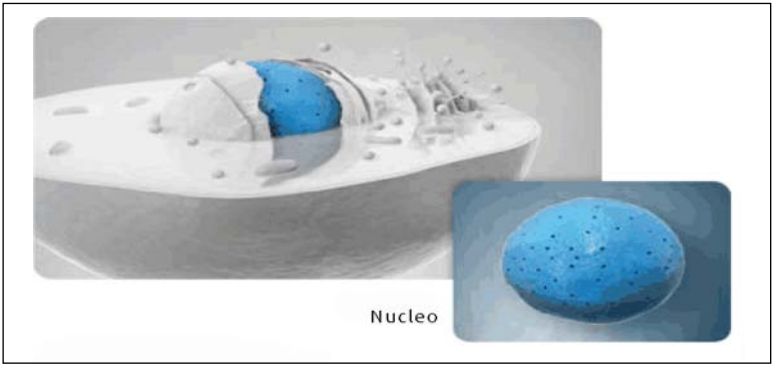

Figura 3. Un nucleo cellulare.

il nucleo, tutti racchiusi all'interno della membrana plasmatica. Le numerose reazioni biochimiche complesse che avvengono nel citoplasma, spesso innescate da segnali da parte dei recettori presenti sulla membrana plasmatica finiscono con l'influenzare la replicazione del **DNA** (o **acido deossiribonucleico**) nel nucleo.

I mitocondri sono organelli complessi che convertono il cibo in energia per la cellula. Hanno il proprio materiale genetico e possono replicarsi.

Il nucleo funge da centro di comando della cellula, ordinando alla cellula di crescere, maturare, dividersi o morire. Ospita anche il materiale ereditario della cellula (DNA). Il nucleo è circondato da una membrana nucleare, che protegge il DNA e lo separa dal resto della cellula (Figura 3).

Due strutture meritano di essere considerate con maggiore attenzione. I ribosomi rappresentano l'impianto di produzione cellulare delle proteine. Utilizzando il codice conservato nel materiale genetico della cellula, essi sono in grado di sintetizzare molteplici tipi di proteine. Al contrario, i proteasomi sono strutture situate nel nucleo e nel citoplasma, la cui funzione principale è la degradazione e il riciclaggio delle proteine. Le cellule possono regolare la concentrazione di particolari proteine con l'uso di proteasomi. Le proteine vengono degradate in piccoli pezzi che possono essere riutilizzati per sintetizzare nuove proteine.

Il Bortezomib (più comunemente noto come Velcade) inibisce il normale funzionamento dei proteasomi. Si ritiene che questo comporti un aumento rapido e marcato del livello di proteine non degradate all'interno della cellula, portando alla morte cellulare. Fondamentalmente nella cellula si accumulano proteine "spazzatura" perché il camion dei rifiuti ha interrotto i suoi giri di raccolta. Le cellule attive nel metabolismo proteico (come le cellule WM che producono grandi quantità di IgM) sono particolarmente suscettibili all'inibizione dei proteasomi.

CRESCITA E MORTE CELLULARE

Il mantenimento della corretta crescita cellulare implica numerosi processi complessi. La crescita e la divisione cellulare sono attività talmente importanti che esistono numerosi processi di verifica ed equilibri volti ad assicurare uno stretto controllo di tutti i processi correlati. Malgrado l'esistenza di sistemi di protezione come la riparazione del DNA, anomalie dei processi di comunicazione (o segnalazione) cellulare interna ed esterna possono determinare una crescita cellulare incontrollata. I tumori possono originare in diversi modi, ma sono sempre conseguenza di molteplici errori di segnalazione. Il cancro ha inizio quando una cellula acquisisce la capacità di crescere e dividersi indipendentemente dai segnali abituali o persino in assenza di tali segnali. La cellula che perde la capacità di rispondere ai segnali di morte cellulare, si divide in modo incontrollato e dà origine al tumore. In una cellula che funziona correttamente, questa crescita sregolata innesca un segnale per l'auto-distruzione, chiamata **apoptosi**. Allo stesso modo, se una cellula non può essere riparata, avvia l'apoptosi (Figura 4).

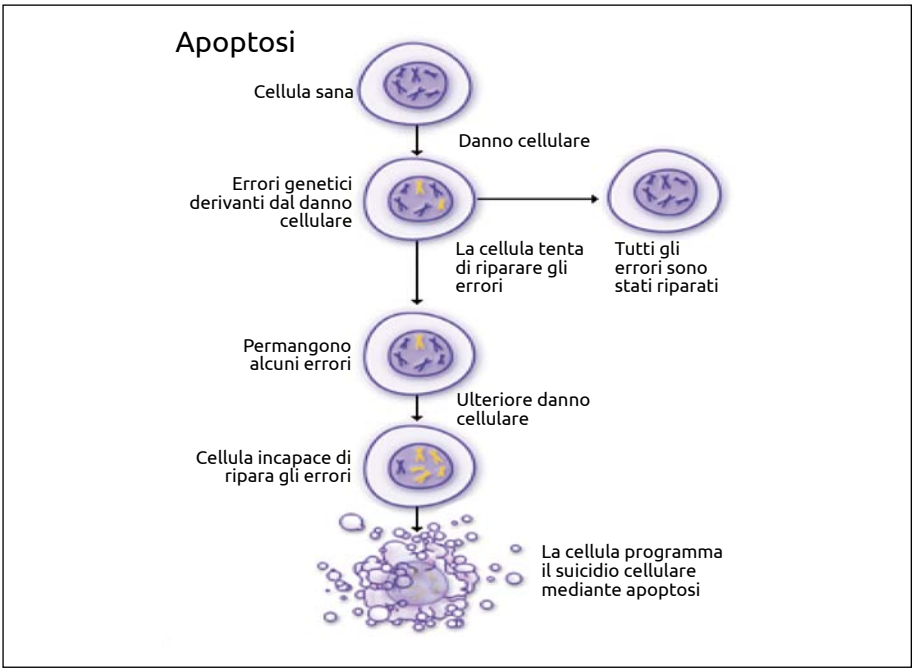

Figura 4. Il processo di apoptosi (morte cellulare programmata).

CELLULE DEL SISTEMA IMMUNITARIO

Ematopoiesi

L'**ematopoiesi** è il processo attraverso il quale le cellule del sangue crescono, si dividono e si differenziano nel **midollo osseo.** Le **cellule staminali ematopoietiche** (Hematopoietic Stem Cell, HSC), che risiedono nel midollo osseo, sono le progenitrici comuni praticamente di tutte le cellule funzionali presenti nel sangue, nel sistema linfatico e negli organi del sistema immunitario (Figura 5).

Le HSC si autorinnovano; quando si dividono, alcune delle loro cellule figlie rimangono HSC. In questo modo, il pool delle cellule staminali non si esaurisce mai. Sebbene le HSC rappresentino meno dello 0,01% delle cellule presenti nel midollo osseo di un adulto, danno vita ad una più ampia popolazione di cellule figlie, a differenziazione intermedia dette **cellule**

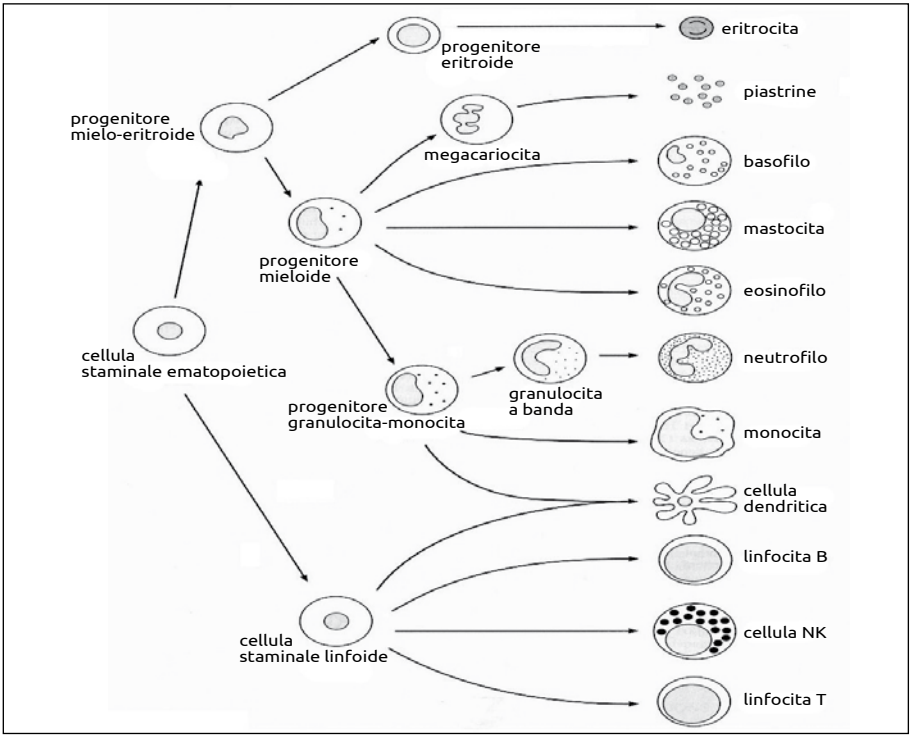

Figura 5. Rappresentazione schematica dell'ematopoiesi, che mette in risalto le vie eritroide, mieloide e linfoide. Questa raffigurazione estremamente semplificata omette molti ben noti tipi cellulari intermedi in ciascuna via. [Adattata da Medical Immunology 10a edizione, Parslow, T.G., et al., 2001].

progenitrici, che a loro volta si dividono ripetutamente e si differenziano in cellule mature. Quando una cellula completa la sua ultima divisione cellulare programmata e raggiunge lo stadio finale designato, perde ogni capacità di proliferare o di modificare il suo stato funzionale e si dice che ha raggiunto la sua differenziazione terminale. Le HSC umane esprimono una caratteristica proteina di superficie **CD34** (presente anche sulle cellule che rivestono i vasi sanguigni) utile per riconoscere ed isolare le HSC.

Ogni giorno il midollo osseo produce quantità incredibili di cellule ematiche mature e la velocità di produzione di ciascun tipo cellulare è controllata con precisione a numerosi livelli al fine di: (1) mantenere un pool di HSC per l'auto-rinnovamento, (2) regolare la proliferazione e la differenziazione delle cellule funzionali in tutti gli stadi e (3) regolare l'attività di ciascuna via ematopoietica in risposta alle richieste fisiologiche dell'organismo.

I tre tipi di cellule prodotte nel midollo osseo a partire dalle HSC sono: (1) **eritrociti** (**globuli rossi**) che sono principalmente responsabili del trasporto di ossigeno ai tessuti corporei, (2) **piastrine**, responsabili del controllo del sanguinamento; (3) **leucociti (globuli bianchi)**, prevalentemente implicati nella difesa dell'organismo da invasori esterni.

Cellule del sistema immunitario acquisito

La risposta immunitaria acquisita o adattativa viene prodotta da numerosi tipi cellulari e dalle molecole biologicamente attive da loro secrete (Figura 6). Sebbene i leucociti siano i principali attori nella maggior parte delle risposte immunitarie, anche altre cellule presenti nell'apparato circolatorio e nei tessuti partecipano in modo specifico alla risposta immunitaria. La comunicazione tra le cellule e l'attivazione di certe cellule target del

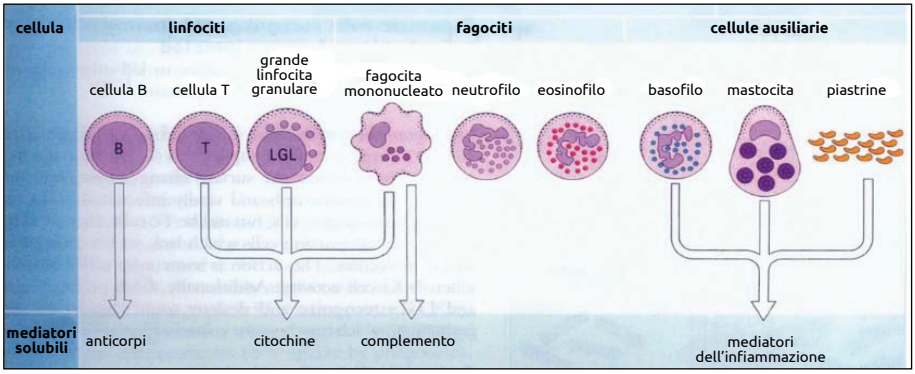

Figura 6. Leucociti e componenti solubili associate del sistema immunitario. [Adattata da Immunology Sesta Edizione di Roitt, I, et al., 2001].

sistema immunitario ha luogo mediante messaggeri molecolari chiamati **citochine.** Nell'immunità acquisita si riconoscono tre tipi di cellule che hanno il ruolo di attori principali.

Fagociti

I **fagociti** sono i globuli bianchi fondamentalmente responsabili dell'eliminazione degli invasori estranei. I **macrofagi** sono in grado di "ingerire e digerire" gli antigeni e di "processarli" per la presentazione alle cellule T del sistema immunitario acquisito, che si attiveranno di conseguenza (Figura 7). Queste **cellule processanti l'antigene,** caratterizzate da lunga emivita, o fagociti, svolgono un ruolo necessario e molto efficace nell'attivare le cellule T specifiche e sono strategicamente collocate in tutto l'organismo dove possono meglio intercettare e catturare gli antigeni. Queste cellule fagocitarie migrano verso differenti tessuti, diventando cellule di Kupffer nel fegato, cellule microgliali nel cervello, cellule "A" nelle articolazioni sinoviali, macrofagi alveolari nei polmoni, fagociti mesangiali nei reni, macrofagi nei **linfonodi** e nella **milza**, e infine i **monociti** che circolano liberamente nel sangue.

I neutrofili polimorfonucleati, o in breve **neutrofili**, rappresentano un altro gruppo importante di fagociti. Hanno vita breve e costituiscono la maggioranza dei leucociti presenti nel sangue. Sono altamente reattivi, si moltiplicano molto velocemente (causando l'elevata "conta leucocitaria" nel corso di un'infezione, per esempio) e sono anche in grado di migrare nei tessuti, generalmente in risposta a un insulto infiammatorio.

Linfociti

Il corpo umano contiene più di un trilione di linfociti, costituiti da due tipi principali noti come **cellule B (derivate dal midollo osseo)** e

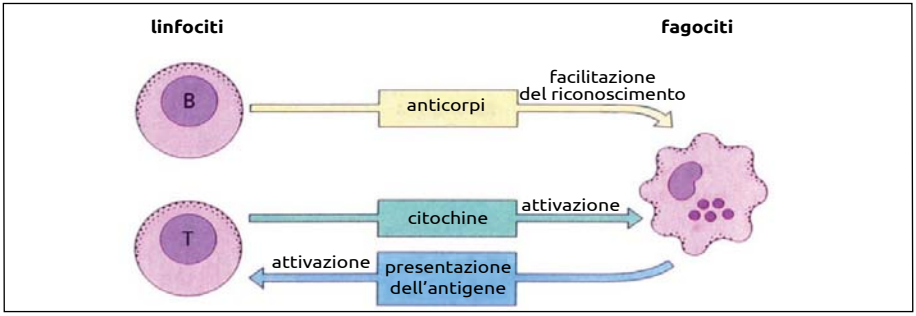

Figura 7. Interazione tra linfociti e fagociti. [Adattata da *Immunology Sesta Edizione,* Roitt, I., et al., 2001].

cellule T (derivate dal timo). Nel sangue, il 75% dei linfociti è costituito da cellule T e il 10% da cellule B (il restante 15% da **cellule natural killer (NK)** e **cellule dendritiche** (si veda in basso). Nel midollo osseo, le cellule staminali ematopoietiche danno origine a una cellula progenitrice chiamata **cellula staminale linfoide**, che è il comune precursore per le cellule T e le cellule B, nonché per cellule NK e cellule dendritiche. La formazione delle cellule B umane avviene interamente all'interno del midollo osseo, mentre le cellule T lasciano il midollo osseo come precursori immaturi e viaggiano attraverso il circolo ematico fino al **timo**, dove proliferano e si differenziano in cellule T mature.

Le cellule B o linfociti B sono geneticamente programmate per codificare sul versante esterno della loro superficie una molecola recettoriale specifica per un particolare antigene. Quando vengono stimolate da questo specifico antigene, le cellule B si moltiplicano e successivamente si differenziano in **plasmacellule.** Queste plasmacellule, che non sono più in grado di moltiplicarsi, secernono grandi quantità di anticorpi con la stessa specificità antigenica corrispondente a quella dei recettori di membrana della loro cellula progenitrice. Allo stesso tempo, una parte delle cellule figlie si trasforma in cellule B mature a riposo, in grado di essere attivate per una successiva risposta, che potrà avvenire con maggiore rapidità. Queste ultime cellule B diventano **cellule memoria** (Figura 8). Gli anticorpi, noti anche come **immunoglobuline (Ig)**, sono pressoché identici alla molecola recettoriale originale presente sulla cellula B, perciò

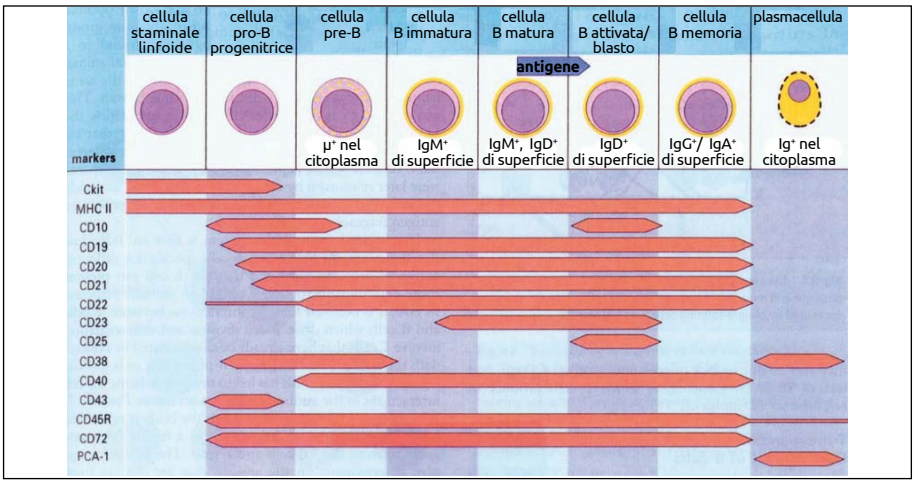

Figura 8. Le cellule B si differenziano dalle cellule staminali linfoidi in cellule B vergini e successivamente vengono indotte dagli antigeni a diventare cellule memoria o plasmacellule. [Adattata da Immunology Sesta Edizione, Roitt, I., et al., 2001].

risultano altamente specifici per l'antigene che ha inizialmente attivato la cellula B.

Nel corso del processo di maturazione, queste cellule esprimono diverse molecole di superficie chiamate **marker CD**; per esempio, una cellula B esprime il CD20 per gran parte del suo percorso evolutivo, ma ne perde l'espressione ed acquisisce il CD38 quando diventa una plasmacellula. Questo cambiamento nell'espressione delle molecole di superficie rappresenta un sistema utile per identificare i vari stadi di sviluppo della cellula B e i diversi tipi di tumore derivati.

Anche le cellule T, o **linfociti T**, di cui esistono numerosi tipi differenti, mostrano specificità per gli antigeni attraverso recettori di superficie **(recettori delle cellule T)** e proliferano e si differenziano quando sono stimolate dalle cellule presentanti l'antigene. I recettori delle cellule T condividono molte proprietà con i recettori immunoglobulinici delle cellule B. I recettori delle cellule T sono generalmente superiori in termini di numero e complessità, partecipando a un'enorme quantità di funzioni del sistema immunitario. Le cellule T attivate rilasciano in circolo sostanze chiamate **linfochine,** che hanno ruoli biochimici importanti nella risposta immunitaria. Le cellule T sono costituite da diverse sottopopolazioni con funzioni immunologiche differenti che esprimono marker di superficie caratteristici. Le cellule T non producono anticorpi ma svolgono una varietà di altre funzioni molto interessanti.

Oltre il 75% delle cellule T mature esprime il marker di superficie **CD4.** Queste **cellule T helper CD4+ (cellule Th)** si suddividono a loro volta in **cellule T-helper-1 (cellule Th1)** e **cellule T-helper-2 (cellule Th2),** prevalentemente sulla base del tipo di citochine prodotte. Le cellule Th1 sono particolarmente efficaci nel potenziare la risposta immunitaria che coinvolge i macrofagi e gli altri fagociti. Le cellule T helper CD4+ interagiscono con le **molecole del complesso maggiore di istocompatibilità di classe II (Major Histocompatibility Complex, MHC)** espresse dalle cellule presentanti l'antigene (macrofagi, cellule dendritiche, ecc.). Questa interazione determina il rilascio di citochine come la IL-2 dalle cellule T e la successiva attivazione delle cellule B, allo scopo di aiutarle a dividersi e a produrre anticorpi; inoltre induce l'attivazione di macrofagi e di altri fagociti che neutralizzeranno o distruggeranno l'antigene in questione. Le cellule Th2 svolgono un ruolo predominante nell'attivazione delle cellule B secernenti anticorpi (Figura 9) e anche nelle malattie allergiche, interagendo con i **mastociti** e gli **eosinofili.**

Le **cellule T citotossiche CD8 (cellule Tc)** esprimono il marker di

superficie CD8. Interagiscono prevalentemente con le **molecole del complesso maggiore di istocompatibilità di classe I (MHC I)** e hanno la capacità di riconoscere e distruggere le cellule che sono state infettate da un virus o da qualche altro patogeno intracellulare. Le cellule Tc sono importanti nel rigetto dei trapianti da donatore (allotrapianto) e hanno un ruolo nella sorveglianza immunitaria contro i tumori maligni.

Le cellule natural killer (cellule NK) o grandi linfociti granulari sono in grado di riconoscere le cellule tumorali e quelle infettate da virus che tendono a mostrare cambiamenti sulla superficie cellulare. Le cellule NK e le cellule Tc lavorano a stretto contatto a questo scopo. Le cellule NK sono anche in grado di distruggere le cellule rivestite da anticorpi specifici (ad es., rituximab sulle cellule B).

Una nuova entusiasmante ricerca chiamata "terapia adottiva a cellule T" o "CAR-T" si prefigge di raccogliere e modificare geneticamente le cellule T di un paziente per attaccare le sue cellule tumorali. Le cellule T viaggiano nell'organismo ed esaminano gli antigeni presenti sulla superficie delle cellule estranee. Se un antigene corrisponde al recettore della cellula T, quest'ultima si attiva e lancia un attacco. È stato identificato un recettore delle cellule T che riconosce la forma anomala di una proteina denominata MYD88 (l'antigene), presente nella maggior parte dei pazienti con WM. In un nuovo progetto le cellule T prelevate dai singoli pazienti affetti da WM verranno modificate affinché siano in grado di riconoscere questo antigene e saranno reinfuse in grande quantità in ciascun paziente. Ci si attende che le cellule T individuino e distruggano le cellule WM in tutto l'organismo. Se tutto procede bene, queste cellule T modificate consentiranno un miglior controllo della malattia e, se possibile, la guarigione.

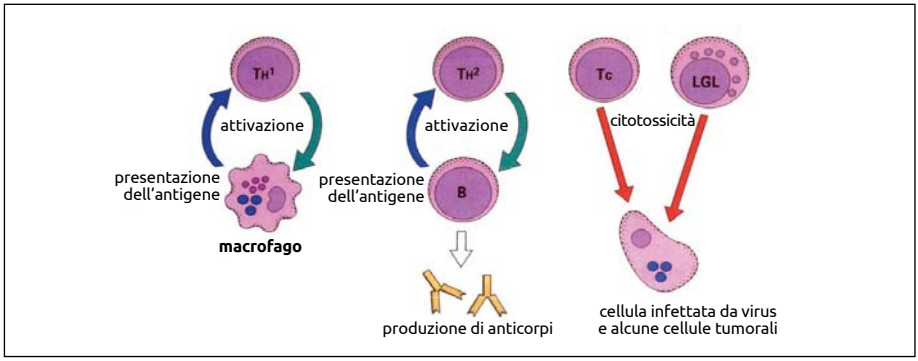

Figura 9. Funzioni dei linfociti. [Adattata da Immunology Sesta Edizione, Roitt, I., et al., 2001].

Altri tipi di leucociti e cellule del sistema immunitario

Gli eosinofili possiedono la capacità di identificare i grandi parassiti come i vermi e di partecipare alla loro distruzione. Quando vengono stimolati, rilasciano sostanze chimiche tossiche chiamate lisozimi dai granuli presenti al loro interno.

I mastociti originano dallo stesso progenitore comune del midollo osseo dei **basofili**. I mastociti tissutali esprimono sulla loro superficie recettori di membrana per le IgE e, come conseguenza di questa interazione, rilasciano numerose sostanze chimiche associate alla tipica reazione allergica. Recentemente sono state condotte approfondite ricerche sull'interazione tra i mastociti e la cellula B della WM nel microambiente cellulare del midollo osseo. La presenza dei mastociti nel midollo osseo è utile per porre diagnosi di WM.

I basofili sono simili ai mastociti nell'attività di secrezione delle **molecole** biologiche che producono infiammazione nei tessuti. I basofili, a differenza dei mastociti, sono mobili e possono circolare.

Le cellule dendritiche sono cellule di origine midollare che migrano verso quasi tutti i tessuti e svolgono un ruolo fondamentale nella presentazione dell'antigene e nell'attivazione delle cellule T.

Le piastrine, sebbene non appartengano alla linea cellulare dei globuli bianchi e siano note principalmente per il loro ruolo nella coagulazione sanguigna, partecipano alla risposta immunitaria soprattutto tramite la loro attività nell'infiammazione. Dopo essersi aggregate in corrispondenza di una lesione a carico di un vaso sanguigno, rilasciano sostanze in grado di attrarre i leucociti.

MOLECOLE BIOLOGICHE DEL SISTEMA IMMUNITARIO

Molte interazioni fondamentali che avvengono tra le cellule del sistema immunitario sono controllate da molecole proteiche presenti nel sangue, nei linfonodi e nei tessuti linfoidi, e nel midollo osseo. La concentrazione sierica di molte di queste molecole aumenta rapidamente durante una risposta immunitaria e pertanto esse vengono chiamate proteine della fase acuta o **reattanti della fase acuta** (la proteina C-reattiva o PCR ne è un esempio). Le citochine, gli anticorpi (immunoglobuline) e le **proteine del complemento** sono i tre principali tipi di molecola biologica coinvolti nel funzionamento del sistema immunitario.

Citochine

Le citochine rappresentano un gruppo variegato di molecole biologiche implicate nella comunicazione intercellulare e sono in grado di influenzare la crescita, la mobilità, la differenziazione e l'attività delle cellule target. Sono coinvolte nelle risposte immunitarie e infiammatorie, nella cicatrizzazione delle ferite, nell'ematopoiesi, nell'**angiogenesi** (crescita di nuovi vasi sanguigni) e in molti altri processi biologici. Le citochine esercitano la loro azione legandosi a specifici recettori di superficie presenti sulle cellule target. Alcune citochine come l'**eritropoietina** e il **G-CSF** possono influenzare cellule distanti; la maggior parte delle citochine agisce localmente su cellule adiacenti, come accade tra mastociti e cellule WM nel midollo osseo (**azione paracrina**) oppure agisce sulla stessa cellula produttrice **(azione autocrina).** Le citochine prodotte dai linfociti sono chiamate linfochine, mentre le citochine prodotte da monociti o macrofagi sono chiamate **monochine.**

Le **interleuchine (IL)** sono prodotte principalmente dalle cellule T e sono implicate soprattutto nella divisione e nella differenziazione di altre cellule.

Gli **interferoni (IFN)** sono prodotti in risposta a infezioni virali: alcuni sono prodotti dalla cellula infettata dal virus, mentre altri sono prodotti da cellule T attivate.

I **fattori stimolanti le colonie (Colony-Stimulating Factor, CSF)** sono per lo più implicati nella divisione e nella differenziazione delle cellule staminali del midollo osseo e dei precursori dei globuli bianchi e dei globuli rossi. Molti CSF possono esercitare la loro azione anche all'esterno del midollo osseo.

Le **chemochine** sono implicate principalmente nel movimento delle cellule nell'organismo, dal sangue periferico ai tessuti.

Esistono molte altre citochine; tra queste, la famiglia del fattore di necrosi tumorale (Tumor Necrosis Factor, TNF) e la famiglia del fattore di crescita trasformante (Transforming Growth Factor, TGF) sono oggetto di intensi studi di biologia molecolare.

La ricerca finanziata dall'IWMF cerca di comprendere i meccanismi che determinano l'aumento dei livelli sierici di IgM dei pazienti affetti da WM e di determinare quali fattori favoriscono la crescita delle cellule WM nel midollo osseo. Le proteine chiamate citochine svolgono un ruolo importante nel promuovere la produzione e la secrezione di IgM. Citochine con nomi misteriosi come BLyS/BAFF, IL-6 e IL-21 svolgono ruoli fondamentali nel favorire la crescita di cellule WM e nel promuovere la produzione di IgM. Queste citochine utilizzano vie di segnalazione per aumentare la secrezione di IgM; il blocco di queste vie molto complesse riduce significativamente la produzione di IgM.

Le proteine del complemento

Le proteine del complemento comprendono circa 20 proteine presenti nel sangue, che agiscono insieme secondo una specifica sequenza ordinata per facilitare la reazione infiammatoria. Le proteine del complemento possono anche interagire con altre componenti del sistema immunitario quali i fagociti e gli anticorpi per distruggere i patogeni. Il sistema del complemento sarà discusso più dettagliatamente in seguito.

Anticorpi/Immunoglobuline

Gli **anticorpi (Ab)**, noti anche con il termine immunoglobuline (Ig), rappresentano un gruppo di molecole del sistema immunitario prodotte dalle cellule B. Saranno discussi più dettagliatamente in una sezione separata intitolata ANTICORPI/IMMUNOGLOBULINE.

ORGANI E TESSUTI DEL SISTEMA IMMUNITARIO

La proliferazione, la differenziazione e la maturazione dei linfociti avvengono negli organi e nei tessuti del sistema immunitario, noti collettivamente come organi linfoidi.

La maturazione delle cellule T e B in linfociti in grado di riconoscere l'antigene avviene negli **organi linfoidi primari** o **organi linfoidi centrali.** I linfociti, dopo essere stati prodotti negli organi linfoidi primari, migrano agli **organi e ai tessuti linfoidi secondari** dove sono stimolati dagli antigeni ad andare incontro ad ulteriori processi di divisione e differenziazione (Figura 10).

Organi linfoidi primari

Il midollo osseo (insieme al fegato nel feto) è il sito di sviluppo e maturazione delle cellule B. Anche gli eritrociti (globuli rossi), i granulociti (neutrofili, eosinofili e basofili), i monociti e le piastrine sono prodotti attraverso l'ematopoiesi nel midollo osseo.

Il timo è un organo situato nella cavità toracica, al di sopra del cuore e dei vasi sanguigni di grosso calibro. Questo organo è costituito da due

lobi ed è il sito di sviluppo e maturazione delle cellule T. Le cellule T progenitrici derivanti dal midollo osseo migrano verso il timo dove, attraverso un'ulteriore differenziazione, vengono programmate per rispondere a un antigene specifico e sviluppano proteine cellulari di superficie chiamate recettori delle cellule T (T-Cell Receptor, TCR).

Organi e tessuti linfoidi secondari

I linfociti maturi sono stimolati dagli antigeni a subire ulteriori divisioni e differenziazioni negli organi e nei tessuti linfoidi secondari, dei quali i più importanti sono la milza e i linfonodi. I linfociti maturi possono interagire con gli antigeni e differenziarsi per sintetizzare specifici anticorpi in altre aree del corpo. Il tessuto linfoide associato alle superfici mucose **(tessuto linfoide associato alle mucose o Mucosa-Associated Lymphoid Tissue**, **MALT)**, le tonsille e l'appendice ne sono alcuni esempi.

Gli organi e i tessuti linfoidi secondari svolgono due funzioni principali nel sistema immunitario: sono molto efficaci nell'intrappolare e concen-

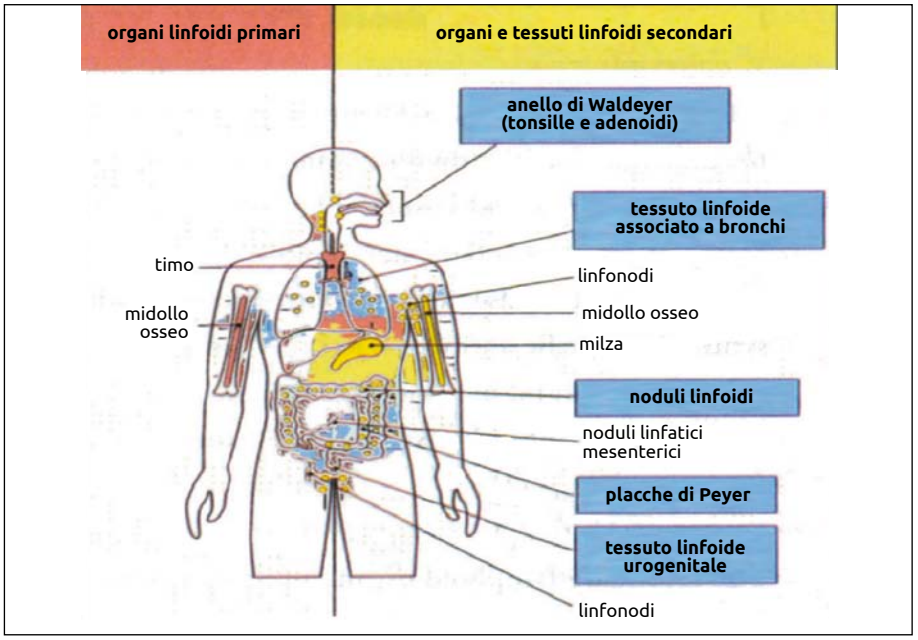

Figura 10. Organi e tessuti linfoidi principali. Il timo e il midollo osseo sono organi linfoidi primari e sono la sede di maturazione delle cellule T e B, rispettivamente. Le risposte immunitarie hanno luogo negli organi e nei tessuti linfoidi secondari. [Adattata da Immunology Sesta Edizione, Roitt, I., et al., 2001].

trare sostanze estranee antigeniche, e sono i siti principali di produzione degli anticorpi e delle cellule T antigene-specifiche.

La milza è situata nella parte superiore sinistra dell'addome dietro lo stomaco. È l'organo linfoide secondario più grande ed è molto efficace nel filtrare e concentrare sostanze estranee presenti nel sangue. Le cellule B costituiscono circa il 50% della popolazione della milza, mentre il 30-40% è rappresentato da cellule T. I macrofagi nella milza sono in grado di riconoscere piastrine e globuli rossi vecchi o danneggiati e li eliminano mediante **fagocitosi.**

I linfonodi e il sistema linfatico formano una rete intricata di canali (vasi linfatici) e stazioni filtranti (linfonodi) strategicamente dislocati in tutto il corpo, sia in aree profonde in prossimità degli organi, sia in aree superficiali sotto la cute. Come la milza, il sistema linfatico è molto efficace nell'intrappolare gli antigeni presenti nel circolo linfatico dove i macrofagi, le cellule T e le cellule B possono interagire e coordinare una risposta immunitaria. Su stimolazione antigenica, le strutture nei linfonodi formano centri germinativi caratterizzati da alta densità di linfociti, per lo più cellule B, che si dividono e differenziano attivamente. I linfociti sono in constante movimento in tutto il corpo, consentendo il posizionamento strategico delle cellule del sistema immunitario in grado di garantire la massima probabilità di interazione con l'organismo estraneo.

ANTICORPI/IMMUNOGLOBULINE

Gli anticorpi o immunoglobuline (Ig) sono una delle soluzioni più ingegnose escogitate dalla natura per risolvere il problema degli antigeni o del materiale "estraneo". L'immunità acquisita, che ora sappiamo essere relativamente recente in termini evoluzionistici, è caratterizzata dalla capacità del sistema immunitario di produrre un anticorpo in risposta a uno specifico antigene. Il contatto iniziale con l'antigene che porta alla produzione degli anticorpi è chiamato immunizzazione. La successiva attivazione di linfociti e la produzione di immunoglobuline determinano, infine, la neutralizzazione dell'agente estraneo.

Le immunoglobuline fanno parte di una grande famiglia di molecole biologicamente attive affini, ma non identiche, che sono l'elemento determinante in ogni stadio dell'immunità acquisita. Ciascuna molecola di immunoglobulina è **bifunzionale.** Una regione della molecola, chiamata frammento **Fab**, è deputata al legame con l'antigene, mentre il frammento

Fc, facilita le cosiddette **funzioni effettrici** e può legarsi alle **cellule effettrici.** Le funzioni effettrici includono il legame dell'Ig ai tessuti dell'ospite e a varie cellule del sistema immunitario e l'attivazione del sistema del complemento. Le cellule del sistema immunitario quali i macrofagi, i neutrofili e le cellule natural killer (NK), gli eosinofili e i mastociti hanno recettori di superficie per le immunoglobuline. Queste cellule interagiscono con la regione Fc dell'immunoglobulina per avviare le funzioni quali la fagocitosi, la distruzione delle cellule tumorali e il rilascio di molecole biologicamente attive.

Le immunoglobuline hanno molte caratteristiche strutturali comuni, ma differiscono nella porzione di legame specifica per l'antigene. Essenzialmente, ciascuna molecola di immunoglobulina è costituita da due **catene leggere** identiche e due **catene pesanti** identiche, legate insieme da ponti chimici disolfuro. La tipica molecola di immunoglobulina può essere rappresentata schematicamente come una "Y" (Figura 11). Le catene pesanti (di dimensioni doppie rispetto alle catene leggere) formano la porzione centrale della "Y", con una catena leggera su ciascun lato della molecola. I due siti di legame per l'antigene (Fab) sono situati su entrambi i bracci della "Y" mentre il sito effettore (Fc) è situato alla base della "Y".

Ci sono due tipi distinti di catene leggere, le **catene leggere kappa** e le **catene leggere lambda.** Non è nota alcuna differenza funzionale tra questi due tipi di catena, che possono associarsi a una qualsiasi classe di catene pesanti.

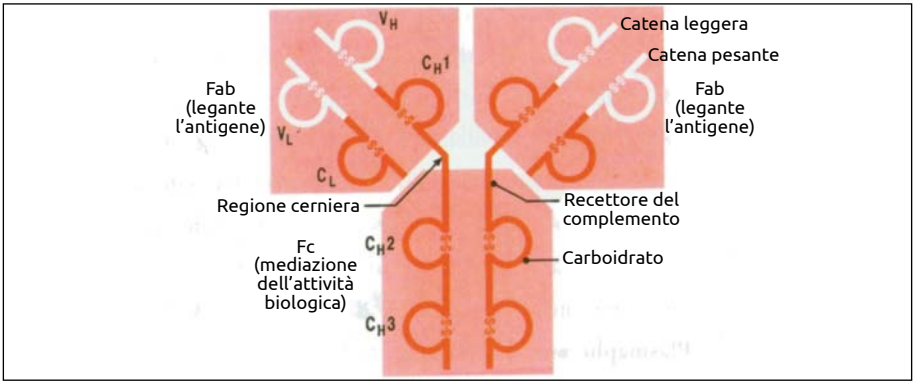

Figura 11. Rappresentazione schematica di una molecola di immunoglobulina. Le aree in bianco sui due bracci della "Y" rappresentano i siti di legame per l'antigene, mentre la base si lega alle cellule effettrici. [Adattata da Immunology – A Short Course, Benjamini, E., et al., 1988].

Negli esseri umani esistono cinque classi differenti (**isotipi**) di catene pesanti, che differiscono considerevolmente nelle loro proprietà fisiche e biologiche. Entrambe le catene pesanti sono identiche in una Ig. La catena pesante determina la classe dell'immunoglobulina, che può essere di tipo IgG, IgM, IgA, IgD o IgE.

Immunoglobuline IgG

L'immunoglobulina di tipo IgG è ritenuta l'anticorpo "tipico" ed è il tipo di Ig prevalente nel sangue umano normale, costituendo il 70-80% del pool immunoglobulinico totale. È l'immunoglobulina predominante delle componenti interne come il sangue, il liquido cerebrospinale e il liquido peritoneale (fluido presente nella cavità addominale). La IgG è l'unica classe di immunoglobuline in grado di attraversare la placenta, conferendo al feto l'immunità materna (il feto e il bambino appena nato sono in grado di sintetizzare solo IgM). La IgG è l'immunoglobulina più piccola, con un peso molecolare di 150.000 Dalton (una molecola di acqua ha un peso molecolare di 18 Dalton). La classe delle IgG si suddivide in quattro sottoclassi: IgG_1, IgG_2, IgG_3 e IgG_4. La sintesi delle IgG è ampiamente governata dalla stimolazione antigenica, così che negli animali cresciuti in sterilità, i livelli di IgG sono molto bassi ma aumentano rapidamente quando l'animale è esposto a un ambiente normale. Le IgG hanno una vita relativamente breve, con un'**emi-vita** pari a 8 giorni per le IgG_3 e a 21 giorni per IgG_1, IgG_2, IgG_4. Le IgG sono in grado di passare rapidamente dal circolo ematico ai tessuti; solo il 45% delle IgG corporee si trova nel torrente sanguigno. Per tale motivo, la **plasmaferesi** (PP) può teoricamente rimuovere solo una parte delle IgG.

L'anticorpo **monoclonale** rituximab, frequentemente utilizzato nel trattamento della WM, è un'immunoglobulina IgG; in realtà pressoché tutti gli anticorpi monoclonali utilizzati nella pratica clinica o nella ricerca sono di classe IgG.

La molecola IgG riveste un ruolo importante nella **citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente** (Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity, **ADCC)** (si veda la sezione successiva). Le IgG facilitano notevolmente la distruzione di organismi patogeni da parte dei fagociti (macrofagi, neutrofili e cellule natural killer) aderendo al patogeno con la propria porzione Fab e attaccando la porzione Fc ai **recettori Fc** presenti sui fagociti. Le IgG possono inoltre attivare il sistema del complemento nella **citotossicità complemento-dipendente** (Complement-Dependent

Cytotoxicity, **CDC)** (si veda la sezione successiva). Le molecole IgG possono causare l'**agglutinazione** o l'agglomerazione dei **complessi antigene-anticorpo**, che possono essere poi captati e distrutti dai fagociti. Le IgG possono anche neutralizzare i virus attaccandosi ai loro recettori di superficie, impedendo loro di attaccarsi alla cellula target e conseguentemente di infettarla.

Una quantità insolitamente grande di IgG monoclonale è spesso segno distintivo della presenza di un mieloma multiplo. Le IgG sono state messe in relazione a malattie come la sclerosi multipla, nonché a moltissime altre patologie autoimmuni.

Immunoglobuline IgM

L'IgM è anche nota come macroglobulina (da qui il termine macroglobulinemia di Waldenström) a causa delle sue dimensioni. La IgM è secreta dalla cellula sotto forma di pentamero, costituito da cinque unità della struttura immunoglobulinica di base, unite insieme da una catena "J". È l'immunoglobulina più grande, con un peso pari a 900.000 Dalton. Per via delle sue dimensioni, l'80% delle IgM si trova nel circolo ematico; la plasmaferesi è perciò in grado di rimuoverla abbastanza prontamente. In soggetti normali, le IgM rappresentano circa il 6-10% delle immunoglobuline totali e hanno una emivita di 7 - 8 giorni. Gli anticorpi di tipo IgM predominano nella risposta immunitaria precoce nei confronti della maggior parte degli antigeni, sebbene tendano a diminuire successivamente. Valori elevati di IgM in soggetti normali generalmente indicano un'infezione recente oppure un'esposizione recente a un antigene (o una recente immunizzazione clinica). Il feto sintetizza solo IgM, iniziando a circa cinque mesi di gestazione; la molecola IgM non attraversa la placenta, pertanto alti livelli di IgM in un neonato (o nel feto) sono indicativi di un'infezione congenita o perinatale.

Le IgM, spesso accompagnate dalle IgD, sono le immunoglobuline più frequentemente espresse sulla superficie delle cellule B immature. Le cellule WM esprimono sia IgM che IgD sulla loro superficie cellulare. Le plasmacellule mature, invece, tipicamente non esprimono IgM e IgD.

L'immunoglobulina IgM è un anticorpo molto potente. È l'induttore più efficace della citotossicità complemento-dipendente (CDC) ed è estremamente efficace come anticorpo agglutinante, principalmente in virtù della sua grande struttura pentamerica (Figura 12).

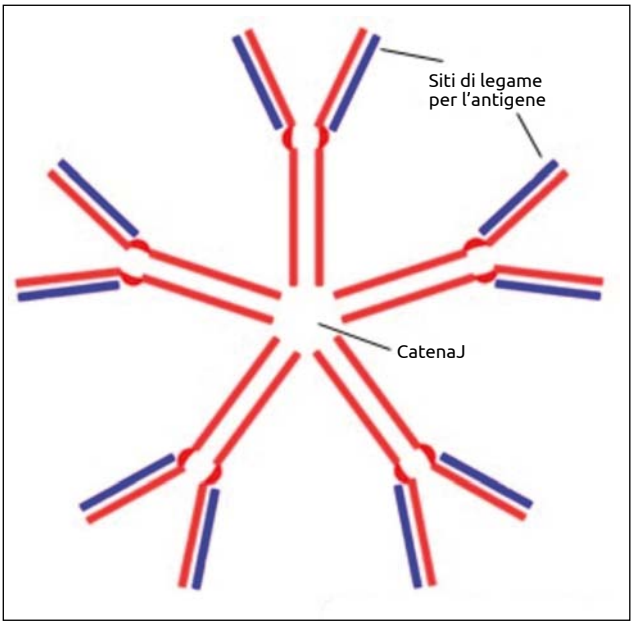

Figura 12. Rappresentazione schematica della forma pentamerica di IgM con la catena di giunzione "J".

Gli anticorpi IgM includono le **isoemoagglutinine** – gli anticorpi IgM naturalmente presenti contro gli antigeni dei globuli rossi del gruppo sanguigno AB0. Nel sangue di chi ha il gruppo A sono presenti le isoemoagglutinine IgM contro gli antigeni B; nel sangue di chi ha il gruppo B sono presenti gli anticorpi contro gli antigeni A; infine un soggetto con sangue AB non ha anticorpi né contro A né contro B. È interessante notare che le persone con gruppo sanguigno di tipo 0 possono avere isoemoagglutinine IgM e IgG contro entrambi gli antigeni A e B. Le reazioni trasfusionali sono il risultato di una incompatibilità AB0, a seguito della quale le isoemoagglutinine del ricevente reagiscono con i globuli rossi del donatore.

L'**anemia emolitica autoimmune** (distruzione dei globuli rossi) può essere causata da **autoanticorpi** IgM nonché da autoanticorpi IgG. Le anemie emolitiche autoimmuni possono essere conseguenza di numerose cause: anemia emolitica idiopatica, in cui non vi è evidenza di una patologia sottostante; anomala reazione a farmaci; tumori ematologici come la WM e la leucemia linfatica cronica (Chronic Lymphocytic Leukemia, CLL) e raramente il mieloma multiplo; malattie autoimmuni come il lupus eritematoso sistemico. Il controllo della sintomatologia spesso richiede elevate dosi di corticosteroidi e la splenectomia. La **malattia da agglutinine fredde**, causata principalmente da infezioni o tumori maligni come il linfoma, generalmente si caratterizza per elevati livelli di anticorpi IgM agglutinanti

in grado di provocare emolisi (distruzione) complemento-dipendente dei globuli rossi. Questi autoanticorpi sono molto sensibili alla temperatura e tipicamente reagiscono in modo ottimale in presenza di uno stimolo freddo.

Crioglobulinemia. Le Crioglobuline sono proteine che precipitano se sottoposte a raffreddamento e si dissolvono se riscaldate. Possono essere classificate come Tipo I (monoclonali: IgG, IgM or IgA). Solo l' IgM è associata alla Macroglobulinemia di Waldenstrom. Danno raramente sintomatologia, dato che si formano a 0 gradi C, e quindi sono asintomatiche e senza conseguenze cliniche. Si manifestano nel 10% circa dei pazienti con WM.

La **crioglobulinemia** mista (tipo II) è causata da proteine IgM monoclonali che hanno un'attività molto simile al fattore reumatoide (FR), un autoanticorpo riscontrato spesso in molte patologie autoimmuni, per esempio l'artrite reumatoide. Le IgM reagiscono con la porzione Fc delle **crioglobuline** IgG **policlonali**, formando un **immunocomplesso** IgM-IgG crioprecipitabile che ha solubilità limitata nel sangue (in particolare quando esposto al freddo) e provoca numerose manifestazioni cliniche. I tessuti più frequentemente colpiti comprendono la cute e i reni. È stata descritta una non rara associazione tra crioglobulinemia mista e il virus dell'epatite C (HCV). Le crioglobuline di tipo III sono policlonali e la proteina monoclonale non è presente.

I campioni ematici dei pazienti che presentano crioglobuline dovrebbero essere raccolti e processati ad una temperatura pari a quella corporea per evitare risultati di laboratorio inesatti per alcune analisi del sangue.

La **neuropatia periferica** può colpire fino al 30% di pazienti con WM. Ad oggi, sono stati identificati cinque diversi target antigenici dell'immunoglobulina IgM sui nervi periferici. Il trattamento prevede il miglioramento della sintomatologia oppure la definitiva riduzione della molecola IgM dannosa mediante chemioterapia, immunoterapia o plasmaferesi.

Una grande quantità di IgM nel sangue, come nella WM, può provocare moltissimi sintomi clinici, come un aumento della **viscosità sierica (VS)**. I sintomi dell'iperviscosità sono spesso riconosciuti dal paziente e comprendono il sanguinamento cronico da naso, gengive e, meno comunemente, dall'apparato gastrointestinale; cefalea; ronzio nelle orecchie (acufeni); capogiri (vertigini); disturbi dell'udito; problemi visivi o perdita della vista; vene retiniche dilatate e con il tipico aspetto "a catena di salsicce"; rigonfiamento della papilla ottica nel fondo oculare (papilledema). Questi sintomi spesso giustificano il ricorso alla terapia immediata mediante plasmaferesi, seguita frequentemente da una terapia aggiuntiva per controllare la malattia di base.

Immunoglobuline IgA

L'immunoglobulina IgA ha le dimensioni di 160.000 Dalton. L'IgA rappresenta circa il 10-15% delle Ig sieriche. La sua emi-vita è stimata pari a 5,5 giorni. Sulla superficie delle cellule B o nel sangue, l'IgA è presente come monomero costituito da una singola unità a quattro catene. La maggior parte delle IgA non si trova nel sangue ma nelle secrezioni quali saliva, lacrime, sudore, latte, secreti dell'apparato genito-urinario e gastrointestinale e dell'albero tracheo-bronchiale. Le IgA secretorie si combinano spesso per formare dimeri composti da due unità e raramente polimeri fino a tre-cinque unità (che possono causare iperviscosità nel sangue).

Immunoglobuline IgE

Sebbene normalmente rappresenti solo una piccola frazione di tutti gli anticorpi sierici (0,004%), l'IgE è estremamente importante da un punto di vista clinico in virtù del suo coinvolgimento nelle malattie allergiche. La molecola di IgE pesa circa 200.000 Dalton e ha un'emi-vita di 2 giorni. Il mastocita e il basofilo hanno un recettore Fc unico, molto reattivo che è specifico per gli anticorpi IgE e perciò le molecole di IgE si trovano prevalentemente attaccate a queste cellule. Quando l'immunoglobulina IgE viene in contatto con un antigene (anche noto, in questo caso, come **allergene**), il mastocita o il basofilo rilascia molecole infiammatorie che innescano molte delle manifestazioni acute di una reazione allergica. Livelli elevati di IgE sieriche possono essere osservati anche nelle infezioni causate da parassiti multicellulari come i vermi intestinali.

Immunoglobuline IgD

La IgD è la immunoglobulina meno nota e caratterizzata. È presente in quantità minime, meno dell'1% delle immunoglobuline plasmatiche totali. Il peso molecolare della IgD è circa 185.000 Dalton, è una molecola molto fragile e ha un'emi-vita di 2 -3 giorni. La IgD non è secreta dalle plasmacellule e non ha una funzione nota nel siero. È una componente principale della membrana di superficie di molte cellule B. La sua presenza sulle cellule B funge da marker di differenziazione e può controllare l'attivazione e la soppressione dei linfociti. C'è molto interesse nell'ambito della ricerca sul cancro per capire ulteriormente il ruolo complesso dell'immunoglobulina IgD nel contesto dell'anomala differenziazione

della cellula B in una cellula maligna. Come riportato in precedenza, le cellule WM esprimono le molecole di IgM e IgD sulle loro membrane di superficie.

Interazioni tra immunoglobuline e antigeni

Le immunoglobuline formano molteplici legami con antigeni in corrispondenza dei loro siti Fab. Sebbene questi legami siano deboli rispetto ai tipici legami covalenti osservati in biochimica, il gran numero di interazioni determina una grande energia di legame complessiva **(avidità).** La forza di questi legami dipende dalla distanza tra i gruppi che interagiscono. È essenziale una "buona corrispondenza" tra l'antigene e il sito di legame Fab dell'anticorpo. La forza del legame tra un antigene e un'immunoglobulina viene chiamata **affinità** anticorpale. Le immunoglobuline sono in grado di esprimere una notevole specificità per un antigene e sono capaci di distinguere tra piccole differenze nella composizione chimica dell'antigene. Le cariche elettriche dell'antigene, la sequenza di amino acidi degli antigeni proteici, nonché la forma tridimensionale dell'antigene, sono tutti fattori determinanti cruciali della specificità, dell'avidità e dell'affinità antigene-anticorpo.

CITOTOSSICITÀ CELLULO-MEDIATA ANTICORPO- DIPENDENTE (ADCC) E CITOTOSSICITÀ COMPLEMENTO-DIPENDENTE (CDC)

Una delle classi principali di immunoglobuline, l'anticorpo IgG, svolge un ruolo importante nella citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente (ADCC). In questa forma di citotossicità, la porzione Fab dell'IgG specifica si lega con la cellula target, sia che si tratti di un microorganismo che di una cellula tumorale (legata da rituximab, ad esempio), e la porzione Fc dell'anticorpo IgG si lega con i recettori Fc specifici presenti sui linfociti chiamati cellule natural killer (NK) e su alcuni altri tipi cellulari. Pertanto le cellule NK sono in grado di venire a contatto con la cellula target che trasporta l'antigene, che si tratti di batteri, parassiti multicellulari o persino cellule tumorali e distruggere il target, rilasciando varie sostanze chiamate citotossine. Si può dunque affermare che gli anticorpi "armino" le cellule

NK per mettere in campo la ADCC. Si tratta del meccanismo principale attraverso cui il rituximab sembra esercitare i suoi effetti citotossici sulla cellula cancerosa della WM. Il rituximab attacca i suoi siti Fab alla molecola CD20 (antigene target) presente sulle cellule B nella WM e il suo sito Fc al recettore Fc sulle cellule effettrici (cellule natural killer e macrofagi). In questo modo il rituximab recluta il sistema immunitario dell'organismo per distruggere la cellula B maligna della WM.

La presenza di livelli circolanti di cellule NK superiori al normale e la risposta al rituximab nei pazienti con WM sembrano essere influenzati da polimorfismi (variazioni genetiche naturali) del recettore Fc delle cellule natural killer chiamato FcγRIIIA (CD16). Una differenza semplice nella sequenza di aminoacidi, con sostituzione di una fenilalanina con una valina in posizione 158, nel recettore di FcγRIIIA può determinare un legame significativamente migliore tra rituximab e cellula NK, cui conseguono una ADCC più potente e una risposta superiore alla terapia con rituximab. Alcuni ricercatori hanno pertanto suggerito che la somministrazione di rituximab possa essere modulata in base all'assetto genetico individuale di FcγRIIIA.

Certi tipi di anticorpi possono attivare la via del complemento quando si legano a un antigene. Gli anticorpi IgM e IgG sono prevalentemente coinvolti nella citotossicità complemento-dipendente (CDC). L'attivazione del complemento determina il rilascio di numerose importanti molecole biologicamente attive e determina la distruzione, o lisi, della membrana della cellula target se l'antigene si trova sulla superficie della cellula in questione. Alcune delle componenti del complemento si legano all'antigene target e consentono ai fagociti, che trasportano recettori specifici per le proteine del complemento, di distruggere l'antigene target. L'attivazione della via del complemento può determinare una produzione di molecole chemotattiche, che servono ad attirare le cellule fagocitarie. Anche il rilascio di istamina e di altre molecole infiammatorie da parte di mastociti e basofili può essere facilitato dalle componenti del complemento. In breve, l'attivazione del complemento ad opera di un anticorpo IgG come il rituximab ha effetti profondi sull'ospite e sull'antigene target se è una cellula viva, come la cellula B maligna della WM.

FONDAMENTI DI GENETICA

Negli ultimi anni sono aumentate in modo esponenziale le ricerche e le scoperte inerenti la genetica oncologica, particolarmente interessanti

per i pazienti con WM. Questa sezione rivista, richiesta da molti pazienti e caregiver che si occupano di WM che si sono mostrati incuriositi dell'argomento, introdurrà il lettore ai principi fondamentali della genetica e illustrerà come molti di questi principi possano essere applicati allo studio delle anomalie genetiche correlate alla WM.

Materiale genetico

La cellula possiede materiale genetico nel nucleo e nei mitocondri. Nella cellula sono presenti due tipi differenti di materiale genetico: l'acido deossiribonucleico (DNA) e l'acido ribonucleico (RNA).

Il DNA in sostanza contiene le istruzioni per creare le proteine essenziali per la vita. È il detentore di tutte le informazioni di cui la cellula, ovvero l'organismo, ha bisogno per la definizione delle loro caratteristiche fisiche, determinando altresì quali cellule debbano crescere e quali cellule debbano morire in un determinato momento. Fondamentalmente le informazioni contenute nel DNA assicurano il corretto funzionamento della cellula e dell'organismo.

Nel DNA le informazioni necessarie per creare le proteine sono immagazzinate sotto forma di un codice composto da quattro basi chimiche: adenina (A), guanina (G), citosina (C) e timina (T). La sequenza di queste basi determina il progetto sulla base del quale costruire le proteine e garantire il corretto funzionamento di una cellula (e, per estensione, di un organismo). Questo progetto viene indicato come "codice genetico." Le basi del DNA si appaiano tra loro, la A con la T e la C con la G, per formare le unità chiamate paia di basi. Ciascuna base si unisce a una molecola di zucchero (*desossiribosio*) e a una molecola di fosfato per formare una molecola chiamata **nucleotide**. I nucleotidi sono disposti in due lunghi filamenti a formare una spirale a doppia elica. La struttura della doppia elica assomiglia a una scala a chiocciola: le coppie di basi formano i gradini e le molecole di zucchero e fosfato ne formano le strutture laterali (Figura 13). Ciascun filamento di DNA della doppia elica può fungere da schema per l'autoreplicazione, una proprietà importante del DNA.

L'RNA (acido ribonucleico) è una molecola di acido nucleico simile al DNA, ma che contiene lo zucchero ribosio invece del desossiribosio. L'RNA è utilizzato per il trasporto di informazioni (RNA messaggero o mRNA), per funzioni enzimatiche (RNA ribosomiale) e per aiutare nella costruzione di proteine (RNA transfer o tRNA).

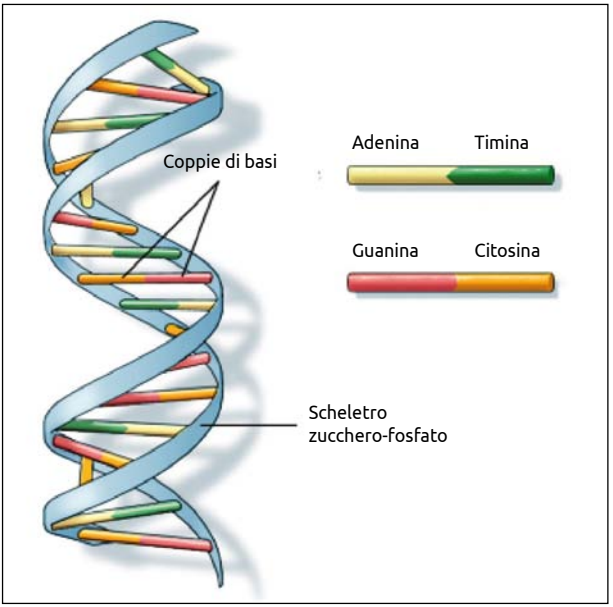

Figura 13.
La struttura a doppia elica del DNA.

Geni

I geni costituiscono le unità di base, fisiche e funzionali, dell'ereditarietà. L'ordine dei nucleotidi del DNA all'interno di un gene definisce in modo specifico il progetto necessario per costruire una determinata proteina. Si stima che gli esseri umani abbiano tra i 20.000 e i 25.000 geni che possono variare per dimensioni da alcune centinaia ad oltre 2 milioni di basi. Solo un numero ridotto di geni (meno dell'1% del totale) presenta leggere differenze tra un individuo e l'altro. Piccole differenze nella sequenza di basi del DNA all'interno di un gene contribuiscono a determinare le caratteristiche fisiche uniche di ciascuna persona e sono chiamate **alleli.** Gli alleli sono pertanto semplicemente varianti di un gene.

Cromosomi

Le molecole di DNA che costituiscono i geni sono impacchettate in strutture lineari chiamate **cromosomi**, che sono strettamente avvolti a spirale intorno a proteine strutturali specializzate chiamate istoni. Ciascun cromosoma è diviso in due parti (o bracci) da un punto di restringimento chiamato **centromero.** Il braccio corto del cromosoma viene chiamato braccio "p", mentre quello lungo è il braccio "q".

In passato, la mancanza di studi genetici collaborativi su larga scala tra diversi centri di ricerca ha rappresentato uno dei maggiori ostacoli alla ricerca sulla WM. L'individuazione di terapie mirate per la WM è stata ostacolata dalla mancanza di un'adeguata caratterizzazione genetica e molecolare delle cellule WM. Per poter affrontare questo tema, l'IWMF ha finanziato lo sviluppo di una banca dei tessuti (campioni di midollo osseo, sangue e saliva) correlati con le caratteristiche cliniche di pazienti affetti da stadi differenti di WM. La banca dei tessuti renderà disponibili tali campioni per altri ricercatori e permetterà lo screening di pazienti con WM per ricercare mutazioni cancerogene comuni che sono state descritte in altri tumori.

La posizione del centromero conferisce al cromosoma la sua forma caratteristica e può essere utilizzata per aiutare a descrivere la localizzazione di geni specifici (Figura 14).

Possiamo somigliare ai nostri genitori, ma non saremo mai identici a loro. Negli esseri umani il genoma è diviso in 46 cromosomi, che includono 22 coppie di cromosomi omologhi e una coppia di cromosomi ses-

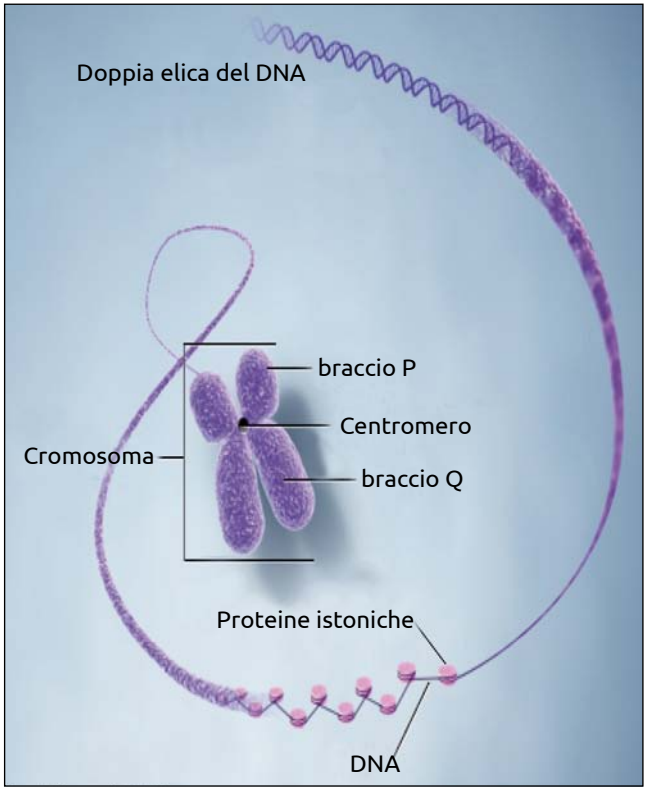

Figura 14.
Il DNA è strettamente avvolto intorno a istoni in un cromosoma con un braccio corto "p" e un braccio lungo "q".

suali (Figura 15). Approssimativamente metà del nostro DNA è di origine materna, mentre l'altra metà proviene da nostro padre. La distribuzione dei cromosomi che riceviamo dai nostri genitori è praticamente casuale e ciascun bambino può ricevere un assetto genetico differente dai genitori (fatta eccezione per i gemelli identici). Le donne hanno due cromosomi sessuali di tipo X, mentre gli uomini hanno una X e una Y; i padri pertanto "determinano" il sesso del nascituro aggiungendo un cromosoma sessuale X (figlia) o Y (figlio) al cromosoma X della madre.

Proteine

Le proteine sono molecole grandi e complesse, fondamentali per la struttura, la funzione e la regolazione delle cellule e, per estensione, di tessuti e organi corporei. Le proteine sono costituite da unità più piccole chiamate aminoacidi e possono presentarsi in catene (o polipeptidi) di centinaia o migliaia di aminoacidi. Esistono 20 diversi tipi di aminoacidi che possono essere combinati per formare una proteina. La sequenza di aminoacidi di una proteina è definita dalla sequenza di basi del DNA all'interno di un gene (maggiori dettagli in seguito). La struttura tridimensionale unica della proteina definisce la sua specifica funzione.

Esempi di proteine importanti nell'immunologia includono:

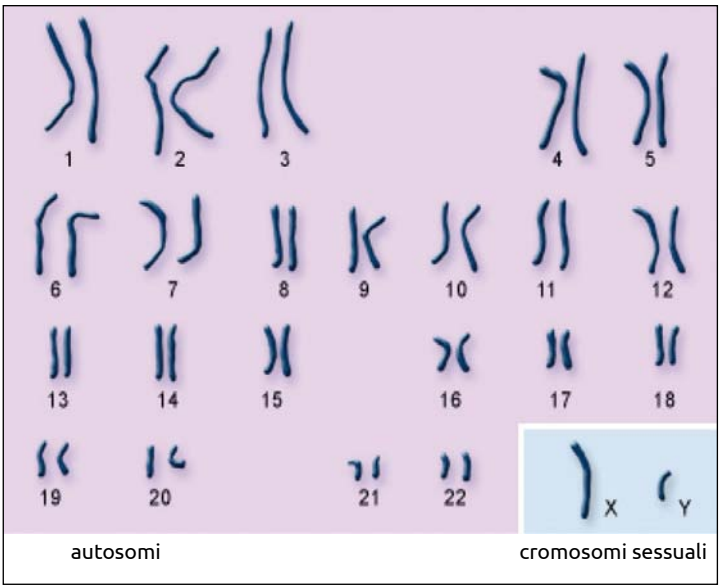

Figura 15. Le 23 coppie di cromosomi normalmente presenti negli esseri umani.

- le immunoglobuline (anticorpi), che legano specifiche particelle estranee e aiutano a proteggere il corpo da virus e batteri.
- gli enzimi, che consentono alla cellula di eseguire quasi tutte le sue migliaia di reazioni chimiche in modo veloce ed efficace.
- le proteine messaggero, che trasmettono i segnali tra cellule, tessuti e organi, e contribuiscono al coordinamento dei processi biologici.
- le proteine di trasporto/legame, che si legano e trasportano atomi e piccole molecole all'interno delle cellule e in tutto il corpo.

Espressione genica

Le proteine sono caratterizzate dalla sequenza unica di aminoacidi e sono assemblate utilizzando le informazioni codificate nei geni. Il codice genetico consiste in una serie **codoni** formati da una sequenza di tre nucleotidi, che specificano quale dei 20 aminoacidi deve essere inserito nella proteina; ciascuna combinazione trinucleotidica designa un aminoacido (Figura 16). Dal momento che vi sono 64 possibili codoni e solo 20 aminoacidi, nel codice genetico esistono alcune ripetizioni. L'ordine dei codoni nel gene specifica l'ordine degli aminoacidi nella proteina.

Un **codone** di "**inizio**" e un **codone** "**stop**" determinano l'inizio e la fine del gene che deve essere trascritto nella proteina.

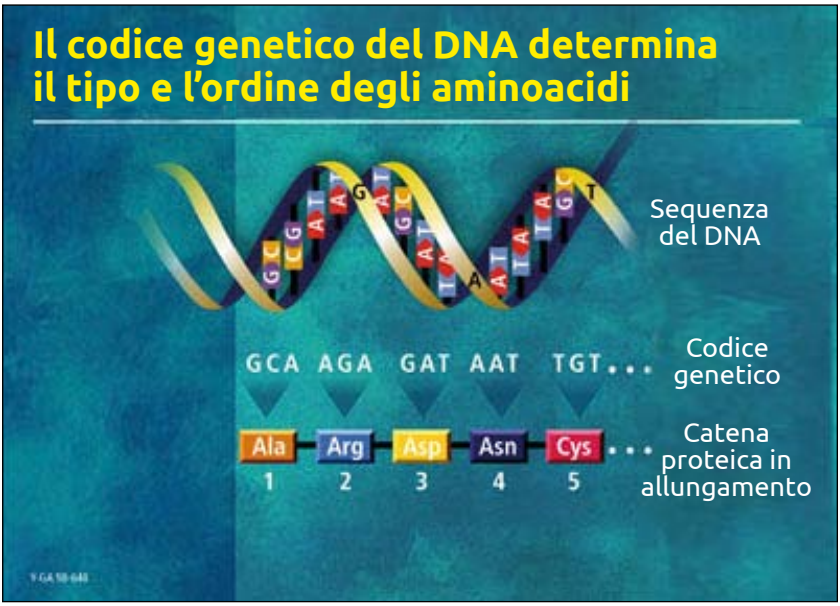

Figura 16. Assemblaggio di una catena di aminoacidi a partire dai codoni.

Il processo attraverso il quale i geni creano le proteine è chiamato espressione genica (Figura 17). Ciascun filamento di DNA nella doppia elica può fungere da stampo per la duplicazione della sequenza di basi. Vi sono due fasi principali nell'espressione genica: la **trascrizione** e la **traduzione.**

Durante la trascrizione, la sequenza DNA del gene è copiata su una molecola di RNA messaggero (mRNA) a singolo filamento, la cui sequenza nucleotidica è complementare a quella del DNA da cui è stata trascritta. La trascrizione è effettuata da un enzima chiamato RNA polimerasi. Le informazioni che ne derivano, ora codificate nell'mRNA, passano dal nucleo al citoplasma.

La traduzione è il processo di sintesi della proteina da una molecola di mRNA ed avviene ad opera di organelli cellulari specializzati chiamati ribosomi. L'mRNA è caricato sul ribosoma che appaia ciascun codone con il corrispondente aminoacido e aggiunge il nuovo aminoacido alla molecola proteica in via di formazione. La nuova proteina deve ripiegarsi nella sua struttura tridimensionale attiva prima di poter svolgere la sua funzione cellulare.

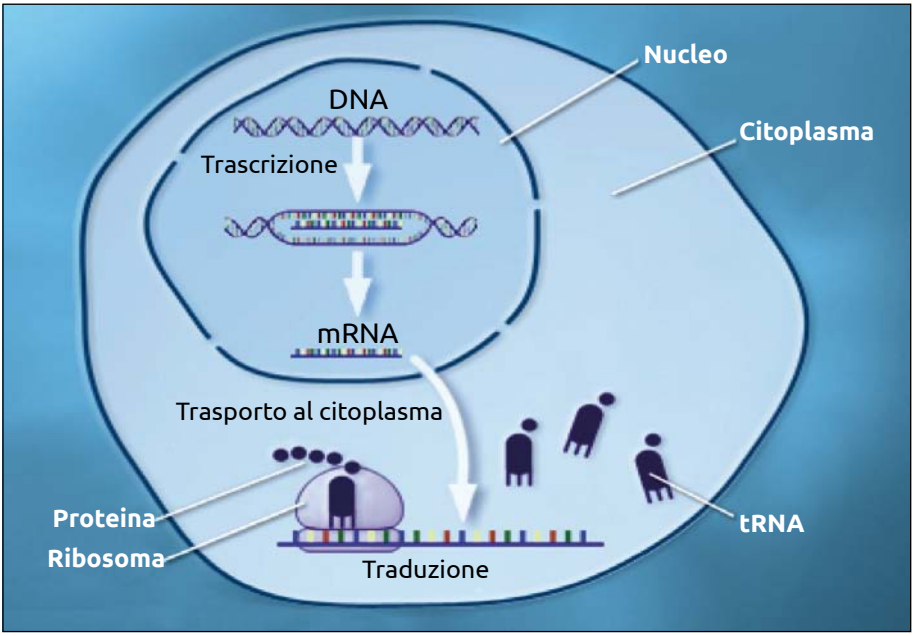

Figura 17. Il processo di espressione genica – assemblaggio di una proteina mediante trascrizione e traduzione.

Regolazione genica

Le cellule hanno la capacità di accendere o spegnere una parte dei loro numerosi geni: questo processo è noto come regolazione genica. La regolazione genica avviene per lo più durante la trascrizione (si veda sopra) ma può aver luogo in qualsiasi momento dell'espressione genica. La regolazione genica consente alle cellule staminali dell'embrione di differenziarsi in globuli rossi o in globuli bianchi (o in qualsiasi tipo di cellula) e di reagire velocemente ai cambiamenti ambientali. I fattori di trascrizione sono proteine specializzate che si legano a regioni regolatorie di un gene e aumentano o diminuiscono il livello di trascrizione, determinando così la quantità della proteina prodotta da un gene. La stretta regolazione della crescita e della divisione cellulare assicura che il DNA di una cellula che si divide sia replicato correttamente.

I microRNA (chiamati anche miRNA) sono piccole molecole di RNA non-codificante che hanno la funzione di regolatori trascrizionali e post-trascrizionali dell'espressione genica. Possono legarsi all'RNA messaggero, silenziandolo e bloccandone la traduzione in proteine da parte dei ribosomi.

L'espressione anomala dei microRNA è stata chiamata in causa nella genesi di diversi stati patologici, incluso il cancro, ed è attualmente in fase di studio nella WM. I fattori di trascrizione sono proteine specializzate che si legano a regioni regolatorie di un gene e aumentano o diminuiscono il livello di trascrizione, determinando la quantità della proteina prodotta da un gene.

Epigenetica

Sebbene il genoma umano sia il portatore del progetto della cellula, l'**epigenoma**, ovvero il modo in cui il DNA e i geni sono contrassegnati e impacchettati all'interno del nucleo cellulare con l'aggiunta di composti chimici, indica alla cellula quali istruzioni del progetto seguire e quali ignorare. L'attività dei geni può essere alterata da modificazioni (chiamate epigenetiche), pur lasciando inalterata la sequenza del DNA. Le modificazioni epigenetiche spiegano perché un globulo bianco non appare o non agisce come una cellula cerebrale, anche se entrambi i tipi di cellula contengono lo stesso DNA. Le modificazioni epigenetiche possono influenzare la produzione di proteine in certe cellule, assicurando che siano prodotte solo quelle necessarie, ed è spesso il motivo per il quale una cellula perfettamente normale si deteriora e diventa una cellula cancerosa.

Molti composti chimici, aggiunti a un singolo gene, possono regolarne

l'attività. Sinora sono stati identificati due principali processi epigenetici in grado di svolgere questa azione (Figura 18). Piccole molecole chiamate gruppi metile possono essere aggiunte a un particolare gene, disattivandolo o silenziandolo, in modo tale da bloccare la produzione della proteina corrispondente (metilazione del DNA). L'aggiunta di gruppi acetile a proteine strutturali specializzate chiamate istoni (intorno alle quali le molecole di DNA sono strettamente avvolte) può modificarle, così che geni differenti sono attivati o inattivati consentendo o bloccando l'accesso al DNA da parte dei fattori di trascrizione e di altre proteine. Questo processo è chiamato acetilazione.

I modelli delle modificazioni epigenetiche differiscono tra gli individui, e persino tra cellule differenti in uno stesso soggetto. Le modificazioni epigenetiche persistono anche quando le cellule si dividono e in alcuni casi possono essere ereditate.

Anche i fattori ambientali, come l'alimentazione e l'esposizione agli inquinanti, possono causare modificazioni epigenetiche. È noto che gli errori

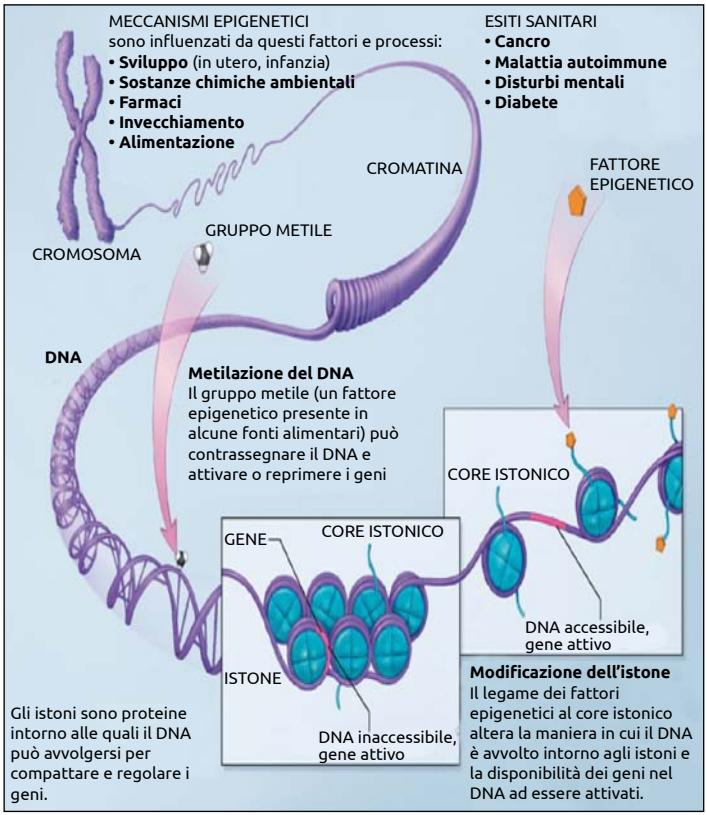

Figura 18. Il processo di modificazione epigenetica.

epigenetici sono correlati allo sviluppo di tumori, disordini metabolici come il diabete e malattie degenerative come la SLA (Sclerosi Laterale Amiotrofica).

Le cellule WM sono caratterizzate da attività epigenetica sbilanciata. Nei trial clinici sono stati studiati molti nuovi farmaci che hanno come target l'acetilazione degli istoni e quindi inducono la morte cellulare. Il panobinostat, inibitore dell'enzima *istone deacetilasi* ha mostrato di essere efficace nei pazienti con WM recidivati/resistenti, evidenziando un possibile ruolo dell'inibizione dell'istone deacetilasi nella terapia della WM.

Identificazione della posizione dei geni

Lo Human Genome Project, un progetto di ricerca internazionale completato nel 2003, ha identificato la sequenza di basi di ciascun cromosoma umano. Ciò ha permesso ai ricercatori di fornire un "indirizzo" più specifico per localizzare molti geni. La localizzazione molecolare descrive la posizione precisa di quel gene in termini di paia di basi, indica le dimensioni del gene e consente ai ricercatori di stabilire anche l'esatta distanza dagli altri geni presenti sullo stesso cromosoma.

Un altro tipo di "mappa" usata dai ricercatori per descrivere la posizione di un gene sfrutta la sua localizzazione citogenetica sul cromosoma. La posizione citogenetica si basa su uno schema distintivo di bande che si ottiene mediante colorazione dei cromosomi con determinate sostanze chimiche.

Una combinazione di numeri e lettere fornisce l'"indirizzo" di un gene su un cromosoma (Figura 19). L'indirizzo contiene numerose parti fondamentali: il numero del cromosoma su cui il gene si trova (cromosomi da 1 a 22 – più i cromosomi sessuali indicati con X o Y); il braccio del cromosoma (quello più corto viene chiamato "p", mentre quello lungo "q"). infine la posizione del gene sul braccio p o q (in base a uno schema caratteristico di bande chiare e scure che appaiono quando il cromosoma viene colorato).

Nella maggioranza dei pazienti con WM è stata osservata la mutazione somatica L265P nel gene MYD88 (MYEloid Differentiation primary gene 88) che si trova nella posizione molecolare 38182641 a livello di 3p22.2. Malgrado siano meno frequenti, altre mutazioni che vengono riscontrate nel gene CXCR4 determinano in questi pazienti maggiore progressione di malattia e una prognosi meno favorevole. L'IWMF sta finanziando delle ricerche per verificare se un inibitore del gene CXCR4 possa essere potenzialmente utile nel trattamento dei pazienti con WM che presentano queste mutazioni.

Famiglie geniche

Le famiglie geniche sono gruppi di geni simili, generalmente formati per duplicazione di un singolo gene originario, che forniscono le istruzioni per la produzione di proteine dotate di funzioni biochimiche simili. Le famiglie geniche possono anche contenere geni distinti raggruppati sulla base del fatto che le proteine da loro prodotte collaborano strettamente alle stesse funzioni biochimiche. Le famiglie geniche sono utilizzate dai ricercatori per determinare la funzione di geni recentemente identificati sulla base della somiglianza con geni noti. Una famiglia genica ben nota è quella del sistema AB0 che determina i gruppi sanguigni A, B e 0.

Mutazioni genetiche

Da una sezione precedente ricordiamo che negli esseri umani ci sono tra i 20.000 e i 25.000 geni; ogni giorno ne vengono identificati di nuovi. Questi geni possono variare di dimensioni da poche centinaia fino a più di 2 milioni di basi. Data l'intrinseca complessità del genoma e il rapido ricambio delle cellule nel nostro corpo, talvolta si verificano errori di repli-

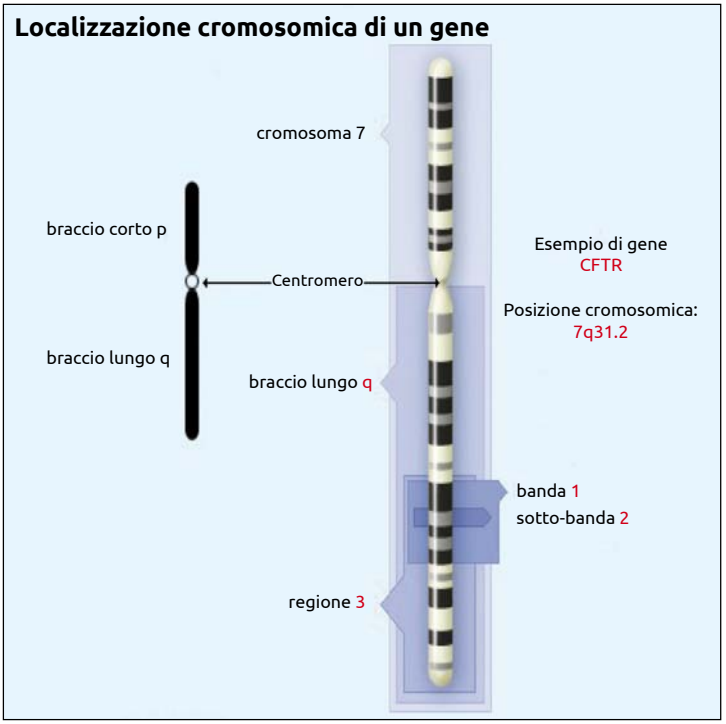

Figura 19. Determinazione dell'indirizzo di un gene su un cromosoma.

cazione – come i refusi di stampa – sebbene non così frequentemente come ci si aspetterebbe. Questi "errori" vengono chiamati **mutazioni** genetiche (Figura 20) e rappresentano un cambiamento permanente nella sequenza del DNA di un gene. Queste mutazioni possono variare di dimensioni da un singolo mattoncino di DNA (base del DNA) a un ampio segmento di cromosoma. Dal momento che il codice genetico è intrinsecamente ridondante, questi errori non sempre hanno effetto sulla proteina prodotta a partire dal gene. In alcuni casi, l'errore può trovarsi nella terza base di un codone, che continua a specificare ancora lo stesso aminoacido nella proteina. In altri casi, può essere in un'altra posizione del codone e specificare un aminoacido differente. Se l'aminoacido modificato non rappresenta una parte fondamentale della proteina, è possibile che non vi siano effetti indesiderati.

Se invece l'aminoacido modificato ne costituisce una parte fondamentale, la proteina può essere difettosa e funzionare male, oppure non funzionare affatto (ad es. la mutazione MYD88 identificata nella WM). Questo tipo di cambiamento può causare una patologia.

Le mutazioni geniche possono essere presenti per due ragioni: possono essere state ereditate da un genitore (mutazioni ereditarie o mutazioni germinali) oppure possono essere state acquisite nel corso della vita (mutazioni somatiche). Le mutazioni ereditarie possono essere trasmesse ai discendenti tramite le cellule riproduttive dei genitori e tipicamente rimangono presenti per tutta la vita di una persona. Le mutazioni acquisite (somati-

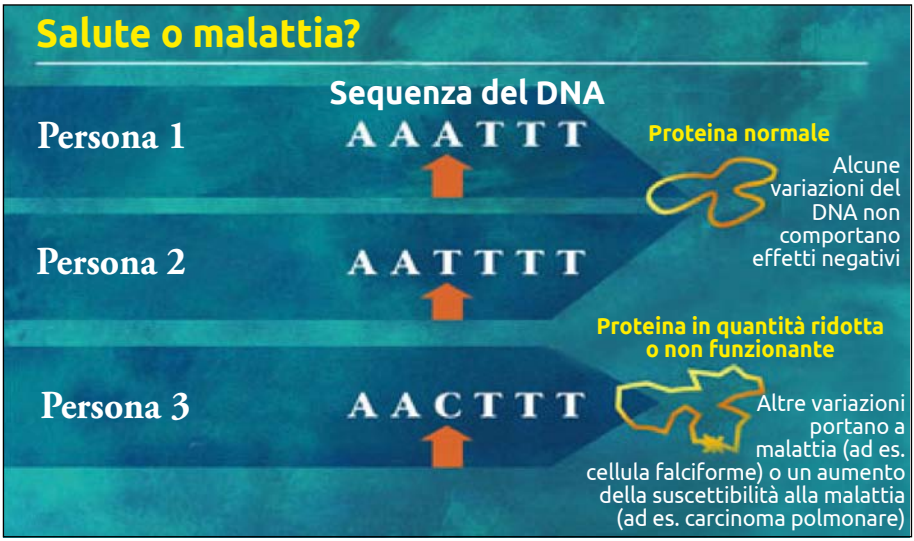

Figura 20. Mutazioni nella sequenza del DNA possono non avere effetti negativi o causare una patologia.

che) si manifestano nel DNA di singole cellule in un certo momento nella vita di una persona. Quest'ultimo tipo di mutazione non si eredita da un genitore e non si trasmette alla prole, a meno che non si verifichi nell'ovulo o in uno spermatozoo. Le mutazioni acquisite possono essere causate da fattori ambientali (inquinanti, virus, radiazioni) o prodursi per un errore durante la replicazione del DNA.

Le variazioni naturali nei geni di solito hanno effetti indesiderati scarsi o assenti sulla salute di un individuo (ad es. il tipo sanguigno, il colore dei capelli o degli occhi). Le normali variazioni genetiche che producono le differenti caratteristiche degli individui nella popolazione generale hanno una frequenza abbastanza elevata e sono chiamate **polimorfismi.**

Una mutazione genica che porta a variazioni nella sequenza del DNA in una particolare posizione viene chiamata polimorfismo a singolo nucleotide, o SNP (Single Nucleotide Polymorphism) ("snip"). Gran parte degli SNP non ha effetti sulla salute o sullo sviluppo. Alcune di queste differenze genetiche, tuttavia, si sono dimostrate molto importanti nello studio della salute umana. I ricercatori hanno scoperto che gli SNP possono aiutare a prevedere la risposta di un individuo a certi farmaci, la suscettibilità a fattori ambientali come le tossine e il rischio di sviluppare particolari malattie. Gli SNP possono essere anche utilizzati per tracciare l'ereditarietà di geni malattia all'interno di famiglie.

Come osservato in precedenza, non tutte le mutazioni genetiche hanno conseguenze nefaste; alcune mutazioni alterano la sequenza del DNA di un gene ma non cambiano la funzione della proteina prodotta dal gene. Le mutazioni genetiche creano la diversità genetica, che a sua volta mantiene sane le popolazioni. Tuttavia, alcune mutazioni possono determinare la mancanza o la malconformazione di alcune proteine e questo può causare una malattia (ad es. fibrosi cistica, anemia a cellule falciformi). Le malattie genetiche ereditarie sono in gran parte recessive, il che significa che un soggetto deve ereditare due copie del gene mutato in questione per sviluppare la malattia; pertanto due adulti geneticamente simili hanno maggiore probabilità di trasmettere a un bambino due copie del gene difettoso; questa è una delle ragioni per cui il matrimonio tra parenti stretti viene scoraggiato.

Il cancro di solito deriva da una serie di mutazioni all'interno di una singola cellula; le mutazioni possono essere ereditarie o somatiche, o entrambe. Spesso un gene difettoso, danneggiato o assente è il principale responsabile dell'insorgenza di un tumore. Il gene p53, per esempio, crea una proteina che impedisce alle cellule mutate di dividersi. Senza tale proteina, le cellule si dividono senza controllo e diventano tumori.

Una singola mutazione nella sequenza del gene MYD88 causa la sostituzione di un aminoacido (leucina) con un altro aminoacido (prolina) in posizione 256 (MYD88 L265P). Questa mutazione determina un'anomalia a cascata nella maggioranza dei pazienti con WM. Sono attualmente in corso di sviluppo terapie innovative che hanno come target questa mutazione e le vie di segnalazione ad essa associate. La mutazione MYD88 L265P, quando si manifesta nel complesso sistema di segnalazione del linfocito B, attiva un enzima chiamato tirosina kinasi di Bruton (BTK), che stimola la sopravvivenza delle cellule neoplastiche attraverso l'attivazione della proteina NF kappa-B. L'Ibrutinib colpisce specificatamente la mutazione inibendo la BTK e quindi la replicazione delle cellule della WM.

Tipi di mutazioni geniche

Come precedentemente osservato, le mutazioni derivano da danno del DNA che non è stato riparato (spesso causato da radiazioni o sostanze chimiche), da errori nel processo di replicazione, o da inserzione o delezione di segmenti di DNA nei geni (generalmente ad opera di virus).

Le mutazioni puntiformi, spesso causate da sostanze chimiche o da un malfunzionamento della replicazione del DNA, scambiano un singolo nucleotide con un altro all'interno della regione del gene che codifica la proteina e possono essere classificate a seconda dell'errore che ne deriva:

- Una mutazione silente codifica per un cambio in una coppia di basi del DNA, che determina l'inserimento nella proteina dello stesso aminoacido e non ha effetti sulla struttura e sulla funzione della proteina.
- Una mutazione missenso codifica per un cambio in una coppia di basi di DNA, che determina la sostituzione di un aminoacido e può o meno avere effetti sulla struttura e sulla funzione della proteina (Figura 21).

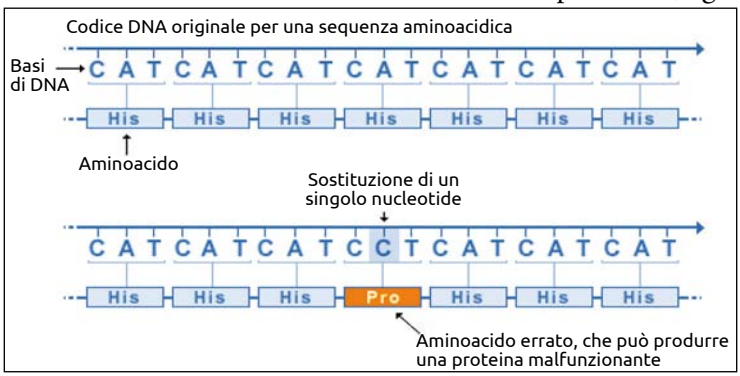

Figura 21. Una mutazione missenso. Un cambiamento in un nucleotide determina la sostituzione di un aminoacido con un altro, alterando quindi la proteina. Può o meno avere un impatto sulla struttura e sul funzionamento della proteina.

- Una mutazione nonsenso codifica per un cambiamento in una coppia di basi di DNA che segnala prematuramente alla cellula di interrompere la costruzione di una proteina, determinando una proteina tronca che funziona male o non funziona affatto.
- Una mutazione frameshift è una mutazione genetica che si verifica quando la sequenza normale del DNA di un gene viene interrotta dall'inserzione o dalla delezione di uno o più nucleotidi, purché non in numero pari a tre o a un multiplo di tre (cioè uno o più codoni). A causa della natura di tripletta dell'espressione genica ad opera dei codoni, l'inserzione o la delezione può modificare la cornice di lettura (gruppi di 3 basi, ciascuno codificante per un particolare aminoacido), determinando una proteina completamente differente, e generalmente non funzionante, rispetto all'originale. Le inserzioni e le delezioni si considerano mutazioni frameshift.
- Le inserzioni aggiungono uno o più nucleotidi nel DNA, cambiandone la sequenza e possono significativamente alterare la struttura e la funzione della proteina.
- Le delezioni rimuovono uno o più nucleotidi dal DNA e ne cambiano la sequenza, alterando la struttura e la funzione della proteina. Piccole inserzioni o delezioni possono aggiungere o rimuovere una o alcune paia di basi all'interno di un gene; grandi inserzioni o delezioni possono aggiungere o rimuovere un gene intero o numerosi geni contigui (Figura 22).

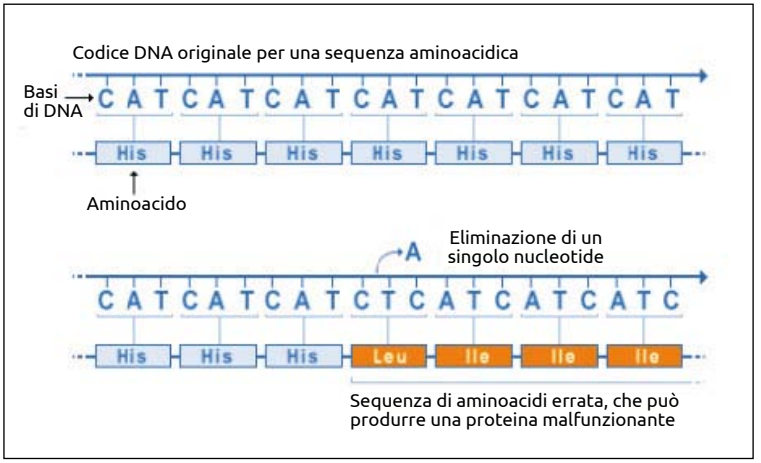

Figura 22. Una mutazione frameshift. In questo caso, l'eliminazione di un singolo nucleotide altera la sequenza di lettura dei codoni, determinando una proteina differente.

Materiale genetico estraneo (per lo più DNA, ma anche RNA) può essere introdotto artificialmente nella cellula mediante un processo chiamato transfezione. La transfezione può essere transitoria se il DNA non è integrato permanentemente nel genoma della cellula, ma i geni estranei possono cionondimeno essere espressi per un tempo limitato (24-96 ore) o può essere considerata stabile se il DNA estraneo viene effettivamente inserito nel genoma della cellula. La transfezione è una tecnica di ricerca molto utile e frequentemente impiegata.

Anomalie cromosomiche

Le anomalie genetiche che derivano da modificazioni nella struttura dei cromosomi possono influire su molti geni e causare errori nella struttura e funzione di proteine, che a loro volta possono causare difetti di crescita, sviluppo e funzione. Questi cambiamenti possono verificarsi in qualsiasi momento: durante la formazione delle cellule riproduttive, nello sviluppo fetale iniziale, o dopo la nascita. Un'anomalia cromosomica può essere il risultato di una porzione mancante, extra o irregolare di DNA cromosomico. Segmenti di DNA possono subire un riarrangiamento all'interno di un cromosoma o possono essere trasferiti tra due o più cromosomi. Le dimensioni e la localizzazione dei cambiamenti strutturali cromosomici possono causare problemi medici significativi o non aver alcun impatto sulla salute di un individuo. I riarrangiamenti cromosomici strutturali più frequenti includono:

- Traslocazioni – si verificano quando un segmento cromosomico si stacca da un cromosoma e si sposta su un altro. Le traslocazioni possono essere bilanciate se non viene guadagnato o perso materiale genetico, o sbilanciate in caso contrario.
- Delezioni – si verificano quando una rottura nel cromosoma determina la perdita di materiale genetico.
- Duplicazioni – si verificano quando una porzione di cromosoma viene duplicata, determinando la presenza di materiale genetico extra.
- Inversioni – si verificano quando una porzione di un cromosoma va incontro a rottura, viene capovolta e quindi reinserita nello stesso cromosoma; può esserci o meno perdita di materiale genetico.

Predisposizione genetica

Una predisposizione genetica è la maggiore probabilità su base genetica, o suscettibilità, di sviluppare una malattia dovuta alla presenza di una

o più mutazioni genetiche ereditate. Queste mutazioni genetiche possono contribuire allo sviluppo di una malattia ma non la causano in modo diretto. È importante quindi osservare che le persone con predisposizioni genetiche non sempre sviluppano la malattia alla quale sono predisposte. Benché i geni possano essere un fattore predittivo affidabile di certe malattie, anche lo stile di vita, l'ambiente o il contributo di altri geni non ancora identificati possono essere importanti, forse anche di più, come fattori che contribuiscono allo sviluppo della malattia in questione.

Essenzialmente gli individui che possono essere predisposti a una patologia a causa di geni ereditati non sempre esprimeranno i geni ereditati e conseguentemente svilupperanno la malattia.

Alla valutazione della predisposizione genetica mediante test genetici si accompagna la reale preoccupazione di un successivo utilizzo di tali dati per fini discriminatori. Le compagnie assicurative che si occupano di polizze sanitarie e di polizze sulla vita e anche i datori di lavoro potrebbero richiedere un test genetico per rifiutare chiunque abbia geni che potrebbero suggerire un rischio elevato di malattia. Paesi come gli Stati Uniti hanno leggi che proibiscono la discriminazione basata su fattori genetici ma, come con qualsiasi altra forma di discriminazione, è comunque possibile violare o aggirare queste leggi.

GENETICA DI BASE APPLICATA ALL'IMMUNOLOGIA

Struttura genetica dell'immunoglobulina

Le immunoglobuline sono un gruppo straordinariamente diversificato di molecole biologiche. Quando si considerano i milioni di forme antigeniche differenti esistenti nell'ambiente e la capacità delle immunoglobuline di fornire siti di legame sufficientemente diversi per riconoscerle, ci si può veramente meravigliare di fronte alla complessità della natura e dei meccanismi dell'evoluzione. Noi produciamo più forme diverse di immunoglobuline che di tutte le altre proteine del corpo messe insieme. In realtà noi produciamo più tipi di immunoglobuline di quanti sono i geni del nostro genoma! Come può essere possibile tutta questa diversità? Proliferano numerose teorie sulla formazione degli anticorpi e in questa sezione esamineremo dapprima più in dettaglio la molecola dell'immunoglobulina e successivamente tenteremo di fornire una spiegazione semplificata della sua genetica di base.

Nella sezione precedente sulle IMMUNOGLOBULINE, abbiamo presentato la molecola Ig a forma di "Y" a quattro catene. Le due più grandi catene pesanti (H), all'incirca due volte le dimensioni delle catene leggere (L) più piccole, determinano la classe o l'isotipo dell'immunoglobulina (ad es. IgG, IgM, IgA, IgE o IgD). Qualunque tipo di catena leggera (kappa o lambda) si può combinare con qualunque tipo di catena pesante, ma tutte le catene leggere e tutte le catene pesanti di una singola molecola di immunoglobulina sono identiche. Le catene sono tenute insieme da forti ponti disolfuro per formare una struttura bilateralmente simmetrica (Figura 11). La IgA, e in particolare la IgM, forma polimeri composti da molteplici molecole di Ig (le IgM formano una struttura a cinque unità denominata pentamero, tenuta insieme da una catena a "J" al centro).

Le catene H e L sono entrambe composte da **domini** ripiegati di forma globulare, ciascuno dei quali è lungo 100-110 aminoacidi e contiene un solo legame disolfuro intracatena. Le catene leggere contengono sempre due domini, mentre le catene pesanti contengono quattro o cinque domini. Tipicamente, i domini sono separati da brevi tratti di catena non ripiegati.

Se si comparano diverse immunoglobuline, la sequenza delle catene H e L risulta ampiamente variabile. Questa variabilità è particolarmente evidente a livello della porzione Fab di Ig, corrispondente alle estremità della struttura a "Y" (denominata anche dominio N-terminale). Per questo motivo, tale dominio è denominato **regione variabile**, abbreviata rispettivamente in VH o VL, a seconda che il dominio si trovi sulla catena pesante o sulla catena leggera.

Gli altri domini che seguono su entrambe le catene sono più costanti nella sequenza degli aminoacidi e sono denominati CL o CH1, CH2, CH3, ecc. a seconda che il dominio si trovi sulla catena leggera o su quella pesante. Le funzioni biologiche della molecola di immunoglobulina derivano dalle proprietà della **regione costante**, che è identica per le immunoglobuline di ciascuna classe. È anche il tratto di legame della porzione Fc con le diverse cellule del sistema immunitario che esprimono i recettori Fc. Il sito di legame all'antigene (Fab) della molecola Ig è formato dai domini VL e VH, che sono sempre posizionati direttamente uno di fronte all'altro. Ciascuna unità di base a quattro catene contiene due siti distinti ma identici di legame con l'antigene.

La specificità antigenica di una data molecola Ig è determinata dalle sequenze combinate dei suoi domini VL e VH e per questo motivo può variare ampiamente tra le immunoglobuline. Infatti, tre **regioni ipervariabili** di 9-12 aminoacidi di lunghezza si trovano in ciascuno dei domini

VL e VH. Il legame con l'antigene interessa principalmente queste regioni ipervariabili, pertanto le sequenze di queste regioni sono i determinanti principali della specificità antigenica. Nella maggior parte delle immunoglobuline, un breve segmento di aminoacidi si trova tra le regioni CH1 e CH2 delle catene H. Questa regione permette la flessibilità tra i bracci Fab della molecola di anticorpo a forma di Y ed è denominata **regione cerniera.** Essa consente ai due bracci Fab di aprirsi e chiudersi per facilitare il legame con i due antigeni. Tale regione cerniera può essere scissa da enzimi quali la papaina o la pepsina, per produrre i frammenti distinti Fab e Fc dell'immunoglobulina (Figura 23).

Ricombinazione dei geni immunoglobulinici

I geni immunoglobulinici si formano nelle cellule B mediante riarrangiamento del DNA. Affinché il sistema immunitario sia in grado di

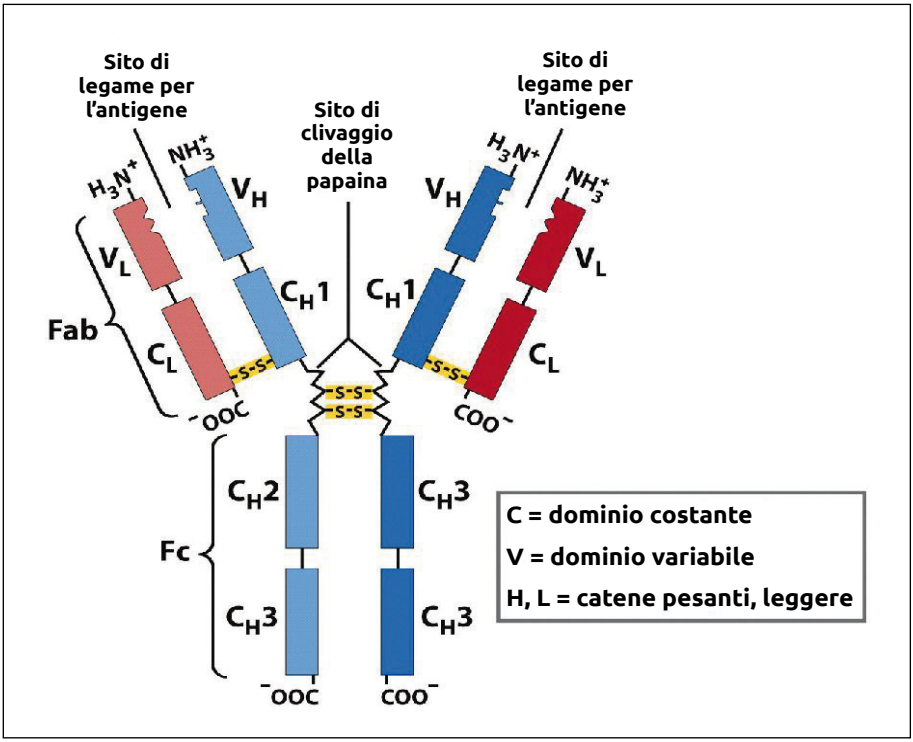

Figura 23. Schema di una molecola di anticorpo IgG che mostra la struttura a quattro catene e i domini di base. [Adattata da Lehninger Principles of Biochemistry Quinta Edizione, W.H. Freeman and Company, 2008].

produrre la varietà, in pratica illimitata, di immunoglobuline dalle specificità quasi infinite per combattere qualsiasi antigene sia possibile trovare nell'ambiente, l'apparato genetico della cellula B deve essere in grado di produrre numerosissime sequenze di dominio variabile. La sequenza dei domini costanti, invece, è in genere la stessa per tutte le catene pesanti o leggere di una data classe di immunoglobuline. Pertanto, le immunoglobuline sono composte da un numero relativamente piccolo di diversi domini costanti collegati secondo varie combinazioni ad un assortimento quasi illimitato di sequenze del dominio variabile.

Sintesi delle catene leggere

Nella differenziazione di una cellula B immatura in una plasmacellula produttrice di anticorpi, i segmenti genici V e C delle catene leggere kappa sono uniti da un breve tratto di DNA denominato segmento di giunzione (da non confondere con la catena J delle IgM). Nei cromosomi riarrangiati questo segmento di giunzione si unisce prima al segmento genico V e poi al segmento genico C (Figura 24). Questo riarrangiamento si verifica mediante un processo complesso denominato trasposizione. Di conseguenza, i geni della catena leggera ricombinano i segmenti V e J per formare un gene per il dominio VL.

Dopo la trasposizione, l'intera sequenza genetica (il gene V e il gene J, insieme con il singolo gene C), è trascritta in un grande trascritto primario di RNA nel nucleo della cellula. Hanno luogo ulteriori modificazioni o splicing di segmenti di DNA non necessari e l'RNA messaggero che ne

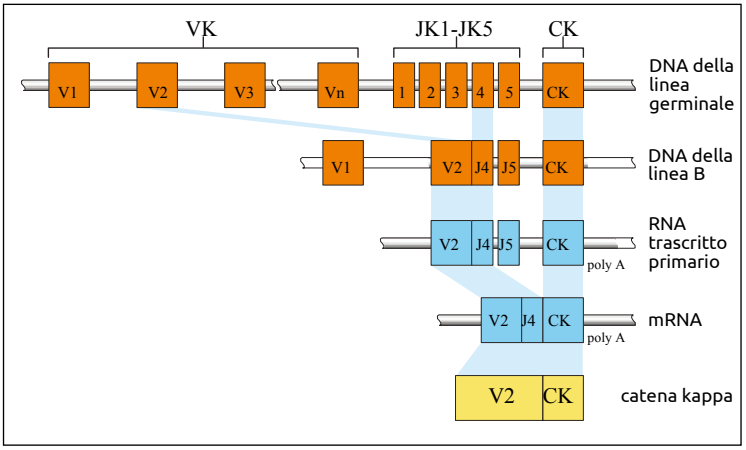

Figura 24. Produzione della catena kappa nell'uomo. [Adattata da Immunology Sixth Edition, Roitt, I., et al., 2001].

risulta è trasportato fuori dal nucleo e tradotto dai ribosomi nella catena leggera completa. Le catene leggere sono successivamente unite alle catene pesanti per formare l'immunoglobulina che viene secreta dalla cellula.

La sintesi delle catene leggere lambda è simile a quella delle catene leggere kappa salvo per il fatto che nella catena leggera lambda vi sono sette sequenze geniche C, ciascuna con il proprio segmento J. Il segmento V della catena leggera lambda si combina con uno dei segmenti J e poi con il suo segmento C corrispondente (Figura 25).

Sintesi delle catene pesanti

La regione variabile delle catene pesanti è derivata dai geni dei segmenti V e J. Tuttavia, contrariamente ai geni delle catene leggere, per formare un gene per il dominio VH viene utilizzato anche un terzo tipo di segmento genico, denominato il segmento DH (dalla parola inglese Diversity) (Figura 26). Tra i segmenti JH e VH sul cromosoma 14 si trova un nu-

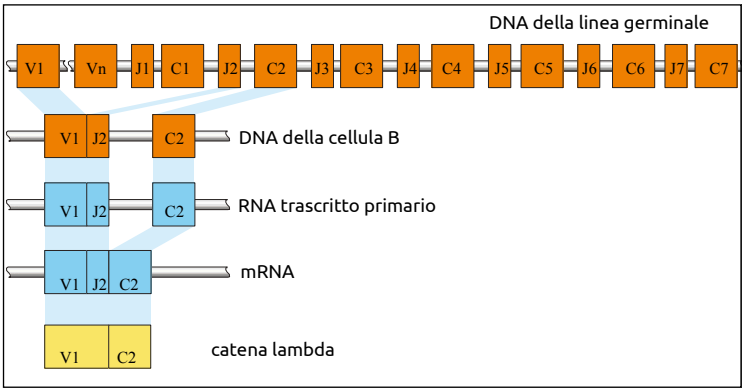

Figura 25. Produzione della catena lambda nell'uomo. [Adattata da Immunology Sixth Edition, Roitt, I., et al., 2001].

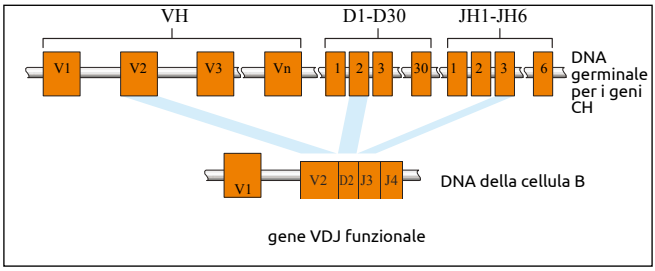

Figura 26. Ricombinazione VDJ della catena pesante nell'uomo. [Adattata da Immunology Sixth Edition, Roitt, I., et al., 2001].

mero sconosciuto di sequenze DH. L'utilizzo del segmento DH permette di aumentare ulteriormente la diversità delle catene pesanti. Una cellula B deve pertanto completare due riarrangiamenti del DNA o trasposizioni. Deve prima unire un segmento DH e un segmento JH e poi fissarli su un segmento VH. Tutto questo è denominato giunzione VDJ (dalle parole inglesi Variable, Diversity e Joining). Nel processo di giunzione tra VJ e VDJ possono esserci delle imprecisioni, così che il sito in cui un segmento si fonde con l'altro può leggermente variare. Di conseguenza, anche la sequenza codificante del DNA che rimane alla giunzione di questi segmenti può variare, con conseguente ulteriore diversità nella regione variabile dell'immunoglobulina. Ciò può avvenire nella sintesi della sequenza VJ della catena leggera e nella sequenza VDJ della catena pesante. La sequenza del gene VDJ di una catena pesante si combina con un particolare segmento genico CH che a sua volta determinerà la classe dell'immunoglobulina (IgM, IgG, ecc.). Il resto del processo che conduce a una catena pesante completa è simile a quello delle catene leggere.

Ipermutazione somatica e switch di classe o commutazione isotipica

I geni delle catene pesanti e leggere delle immunoglobuline possono subire modificazioni strutturali (ipermutazione somatica) a seguito di uno stimolo antigenico. Sembra che la regione del DNA che codifica per la regione variabile sia particolarmente soggetta a mutazioni. Queste mutazioni che si verificano nei geni delle immunoglobuline durante la vita di una singola cellula B possono ulteriormente aumentare la varietà di anticorpi prodotti dalla cellula B. Le ipermutazioni somatiche avvengono nei centri germinativi dei linfonodi e le cellule che producono un anticorpo ad affinità più elevata sono selezionate per la sopravvivenza.

La commutazione isotopica (CSR) è un meccanismo mediante il quale una singola cellula B che produceva un'immunoglobulina dotata di una sola specificità e classe può in effetti cambiare, passando, ad esempio, da una classe IgM a una classe IgG. Il meccanismo di questa commutazione di classe implica un riarrangiamento a livello del DNA. Questo processo piuttosto complesso, che si verifica sotto l'influenza dell'antigene e delle cellule T helper, implica la trasposizione del segmento VDJ a un altro dei geni della regione C. Il meccanismo di commutazione di classe è irreversibile (una cellula non può ritornare a una classe precedente) e fornisce flessibilità alla risposta immunitaria.

FISIOPATOLOGIA DELLA MACROGLOBULINEMIA DI WALDENSTRÖM

Sequenze geniche VDJ della catena pesante nella WM

La WM è un tumore delle cellule B che è caratterizzato dalla presenza di una varietà di morfologie cellulari: cellule B, cellule linfoplasmacitoidi e plasmacellule. Questo pleomorfismo, (ovvero l'assunzione di varie forme distinte) indica una sorta di differenziazione all'interno della popolazione di cellule tumorali.

Poiché la WM è un tumore maligno delle cellule B, possiamo identificare le cellule tumorali mediante la sequenza del riarrangiamento genico VDJ tra i segmenti di giunzione, di variabile e di diversità (VDJ) della catena pesante dell'immunoglobulina.

Nell'uomo esistono 6 famiglie VH di geni della regione variabile. Nelle persone normali, VH3 (55%) e VH4 (26%) sono i segmenti variabili più comunemente ritrovati nelle catene pesanti delle cellule B. Le cellule B che esprimono VH3 sembrano essere quasi sempre il bersaglio per lo sviluppo della WM.

Ipermutazione somatica nella WM

È stato notato che la sequenza genica VDJ dell'IgM presente nella maggioranza delle cellule WM mostra segni di estesa ipermutazione somatica, facendo presumere che la cellula WM derivi da una cellula B stimolata dall'antigene. Tuttavia, ulteriori studi hanno mostrato che le ipermutazioni somatiche in questione non sono tipiche di una selezione guidata dall'antigene e alcuni pazienti WM non mostrano segni di ipermutazione somatica nella sequenza VDJ del gene dell'IgM. Le ipermutazioni somatiche normali si verificano più spesso nei centri germinativi di organi linfoidi secondari, il che suggerisce che la cellula WM possa derivare da una cellula B memoria che bypassa il centro germinativo.

Ricombinazione con switch di classe nella WM

Le cellule WM sono di solito incapaci di subire una ricombinazione con switch di classe (CSR). L'esposizione a molecole biologiche come CD40L e IL-4, che indurrebbero una CSR nelle cellule B normali, non ha

alcun effetto sulle cellule B nella WM. L'incapacità di eseguire la trasposizione necessaria per modificare la classe di immunoglobuline può indicare una regione "switch" difettosa nel gene. Si dice perciò che le cellule WM sono esclusivamente "pre-switch". Questa affermazione rimane controversa in quanto alcune ricerche hanno suggerito che le cellule WM o LPL, in alcune circostanze, possono andare incontro a CSR.

Rilevanza della ricombinazione dei geni dell'immunoglobulina per la WM

Le evidenze più recenti che ci vengono presentate dalla ricerca genetica sembrano indicare che la WM possa derivare da una cellula con memoria IgM-positiva appartenente al sottogruppo di cellule B VH3 che subisce un'ipermutazione somatica in assenza di selezione antigenica, bypassa il centro germinativo e ha un possibile "difetto" genetico che impedisce la ricombinazione con switch di classe, da cui deriva una persistente produzione di IgM. Come detto in precedenza, queste affermazioni sull'origine delle cellule WM e della CSR sono, oggi, continuamente messe in discussione dalla scienza immunologica.

STRUMENTI UTILIZZATI NELLA RICERCA GENETICA

Questa sezione presenta in breve alcuni degli strumenti moderni utilizzati dai ricercatori nel campo della genetica. Molti di questi test, in passato molto costosi, sono diventati più semplici ed economici e si stanno diffondendo nei laboratori clinici per la diagnosi routinaria e il monitoraggio di molte malattie. Certamente, questi strumenti stanno rendendo possibile lo sviluppo di terapie più mirate, dirette in modo specifico a componenti genetiche, modificazioni epigenetiche e vie proteiche specifiche che provocano malattie come i tumori.

L'immunofenotipizzazione è utilizzata per identificare le cellule in base ai tipi di antigeni o marcatori presenti sulla loro superficie (ad es. le cellule WM e il marcatore di superficie CD20). Questi marcatori sono di solito proteine funzionali di membrana implicate nella comunicazione, nell'adesione o nel metabolismo delle cellule. I marcatori vengono identificati in un campione se si legano ad anticorpi specifici marcati con una colorazione o con un'altra sostanza che li renda individuabili al microscopio o

con altra strumentazione apposita. L'immunofenotipizzazione può essere eseguita su sezioni tissutali (fresche o fissate) e su sospensione cellulare ed è molto utile nella diagnosi delle leucemie e dei linfomi.

Esistono due tipi fondamentali di immunofenotipizzazione:

- L'**immunoistochimica**: gli antigeni di superficie espressi sulle cellule di una sezione tissutale possono essere identificati con anticorpi legati ad enzimi (di solito perossidasi di rafano o fosfatasi alcalina). Quando il tessuto è esposto a un substrato speciale, gli anticorpi marcati con l'enzima legati a questi antigeni di superficie precipitano e inducono il substrato a cambiare colore. Il cambiamento di colore che ne risulta può essere individuato al microscopio.
- La **citometria a flusso**: gli antigeni di superficie presenti sulle cellule possono essere identificati con anticorpi marcati con colorazioni fluorescenti. Le cellule marcate con anticorpo sono sospese in un flusso di liquido. Questo flusso passa attraverso uno strumento chiamato citometro a flusso, che è uno strumento di rilevamento elettronico, in grado di analizzare migliaia di cellule al secondo, di identificarle e di classificarle in base alle dimensioni, alla morfologia e ai marcatori di superficie marcati con colorazione fluorescente.

Il sequenziamento completo del genoma consente al ricercatore di decodificare l'intera sequenza del DNA di un organismo – in breve, di "leggere" il suo "progetto genetico". Nel caso della specie umana questo include 3 miliardi di nucleotidi del DNA. Il DNA di una cellula viene estratto e potenti computer mettono insieme e analizzano le sequenze dei geni. Il sequenziamento dell'intero genoma può dare indicazioni sulla posizione di geni specifici, compresi i geni responsabili dei tumori. L'analisi dei risultati può inoltre far capire ai ricercatori come i geni agiscano insieme per dirigere la crescita, lo sviluppo e il mantenimento delle cellule e di un intero organismo. Il sequenziamento dell'intero genoma, necessitando di una così potente capacità di elaborazione dei dati, è costoso e non disponibile su larga scala, benché il suo costo stia diminuendo.

Al contrario, il sequenziamento dell'esoma permette ai ricercatori di estrarre e analizzare solo il contenuto di DNA che codifica per le proteine, che rende conto di circa l'1-2% del DNA di una cellula. Il sequenziamento dell'esoma rappresenta perciò un'alternativa meno costosa e più efficiente rispetto al sequenziamento dell'intero genoma.

La reazione polimerasica a catena (Polymerase Chain Reaction, PCR)

è una tecnica utilizzata per produrre molteplici copie esatte di un segmento di DNA. La PCR si basa sulla capacità di un enzima chiamato DNA polimerasi di sintetizzare nuovi filamenti di DNA complementari al DNA target originale. La PCR può essere usata per analizzare quantità estremamente piccole di un campione amplificando una sequenza specifica di DNA fino a un miliardo di volte. Un metodo simile può essere utilizzato per amplificare l'RNA. La PCR è estremamente utile nella ricerca e nella diagnosi di leucemie e linfomi ed è ampiamente usata per altre applicazioni di biotecnologia, medicina e genetica, tra cui la medicina legale, i test di paternità e l'individuazione di malattie infettive.

Il microarray utilizza un supporto (come una lastrina di vetro o di plastica) su cui sono fissate secondo uno schema regolare centinaia di molecole di sequenze note di DNA o proteine. Il DNA o le proteine del campione sono marcate con coloranti fluorescenti e poste sul vetrino del microarray. Ogni DNA o proteina presenti nel campione si legherà a uno spot complementare sulla lastrina. Successivamente il ricercatore utilizza uno scanner speciale per misurare l'intensità fluorescente di ciascuno spot. Se un gene o una proteina è molto attivo nel campione, genera un'area di intensa fluorescenza. Un gene o una proteina meno attivi produrranno uno spot meno luminoso, mentre un gene o una proteina inattivi o mancanti non produrranno alcuna fluorescenza. I risultanti pattern di espressione dei geni o delle proteine nelle cellule tumorali possono essere comparati con quelli delle cellule normali, fornendo al ricercatore informazioni su quali geni o proteine sia importante studiare in un particolare tumore.

POSTFAZIONE

La scienza dell'immunologia continua a meravigliare e sconcertare. Nuove scoperte sono esitate in terapie migliori per le innumerevoli malattie del sistema immunitario esistenti. Quasi ogni giorno vengono fatte scoperte sempre più nuove ed eccitanti e trattamenti innovativi e più sicuri continueranno sicuramente a essere sviluppati per aiutare i pazienti che soffrono di malattie del sistema immunitario.

Il continuo studio e l'identificazione dei messaggeri chimici delle citochine e la possibilità sempre maggiore di manipolare lo stesso sistema immunitario promettono di far ottenere terapie mediche estremamente precise. I progressi sconcertanti della genetica molecolare, la sorprendente scoperta della prevalenza della mutazione MYD88 L256P nei pazienti con WM e l'uso abituale di metodiche e strumenti avanzati di ricerca possono portare a terapie più specializzate e personalizzate, basate sul profilo genetico del singolo paziente.

La prestigiosa rivista scientifica *Science* ha considerato l'immunoterapia contro il cancro la *Scoperta scientifica dell'anno* nel 2013. Questo ha condotto all'uso di nuovi farmaci per attivare il sistema immunitario e a nuove terapie che utilizzano cellule immunitarie modificate per il trattamento del cancro, incluse le neoplasie dei linfociti e delle plasmacellule. Queste ricerche hanno mostrato che il sistema immunitario può riconoscere ed eliminare i tumori. Le sperimentazioni cliniche che usano questi trattamenti stanno dimostrando la possibilità di ottenere un controllo a lungo termine della malattia e di essere potenzialmente un trattamento che porta alla guarigione.

Più recentemente, è stato fatto un passo in avanti attraverso l'editing del genoma (chiamato anche gene editing), un insieme di tecnologie che consente l'addizione, la rimozione o l'alterazione del genoma in una specifica posizione. Una tecnica recente, conosciuta come CRISPR-Cas9 (clustered regularly interspersed short palindromic repeats) o proteina 9 associata al CRISPR, è un metodo rapido, economico, accurato ed efficiente di editing genomico, che ha generato molto entusiasmo.

Il CRISPR-Cas9 è stato adattato da un metodo di editing genomico usato in natura dai batteri. I batteri catturano dei ritagli di DNA dai virus

che li invadono e li usano per creare dei segmenti di DNA chiamati CRISPR arrays. Questi ultimi permettono ai batteri di "ricordare" il virus (o altri virus strettamente imparentati). Se il virus li attacca ancora, i batteri producono segmenti di RNA dai CRISPR arrays che servono a prendere di mira il DNA del virus. Quindi, i batteri usano l'enzima Cas9 o un enzima simile per "tagliare" il DNA del virus, disabilitandolo.

Il sistema CRISPR-Cas 9 funziona in modo analogo in laboratorio. I ricercatori creano un piccolo frammento di RNA con una breve "sequenza guida" che si lega ad una specifica sequenza-bersaglio del DNA in un genoma. Il frammento di RNA si lega anche all'enzima Cas9. Come per i batteri, l'RNA modificato viene usato per riconoscere la sequenza del DNA, e l'enzima Cas9 taglia il DNA nel punto desiderato. Una volta che il DNA è tagliato, il ricercatore utilizza il meccanismo di riparazione del DNA proprio della cellula per aggiungere o togliere pezzetti di materiale genetico o per effettuare delle variazioni al DNA rimpiazzando un segmento esistente con una sequenza di DNA preparata "su misura".

L'editing del genoma è studiato in molteplici ricerche su una larga varietà di malattie, inclusi i disordini a carico di un singolo gene, come la fibrosi cistica, l'emofilia, e l'anemia falciforme. È promettente anche per il trattamento e la prevenzione di patologie più complesse, come i tumori, le patologie cardiache, le malattie mentali, e l'infezione da virus dell'immunodeficienza umana (HIV).

https://ghr.nlm.nih.gov/primer/genomicresearch/genomeediting (accessed 1/7/18)

Spero che il lettore interessato possa terminare la lettura di questa rassegna delle basi dell'immunologia nella WM con un rinnovato senso di speranza. Mi auguro anche che questa pubblicazione abbia incoraggiato molti pazienti affetti da WM e coloro che li assistono a continuare ad approfondire la conoscenza delle complessità e delle meraviglie del sistema immunitario. Vogliate sostenere la ricerca su questa malattia affascinante e spesso misteriosamente sconcertante. I ricercatori oggi ci stanno dicendo che la cura definitiva si profila all'orizzonte!

RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare la International Waldenström's Macroglobulinemia Foundation (IWMF) e in particolare gli ex presidenti Ben Rude e Judith May, l'attuale presidente Carl Harrington, i membri passati e presenti del Consiglio della Fondazione per la loro incredibile dedizione e tutti i meravigliosi volontari che fanno parte di questa attiva comunità per l'opportunità di aiutare i miei amici e compagni affetti da WM – auguro a tutti noi di continuare a crescere nel nostro percorso verso la sopravvivenza.

Questa pubblicazione, e tutte le pubblicazioni della IWMF a cui ho partecipato, non sarebbe stata possibile senza l'assistenza editoriale essenziale, molto apprezzata e profondamente necessaria dei miei amici e volontari, Sue Herms, Alice Riginos, Linda Nelson, and Drs. Kyle and Ansell per le loro correzioni e suggerimenti. Grazie! Grazie!

Un grande grazie pure ai miei insegnanti passati e futuri.

I miei familiari sono la mia fonte di ispirazione e sono loro riconoscente per la loro approvazione e il loro amore.

Guy Sherwood MD
Primavera 2014
Inverno 2018

GLOSSARIO

Affinità: una misura della forza di legame di un singolo antigene con il suo anticorpo.

Agglutinazione: l'aggregazione dell'antigene mediante anticorpi. L'agglutinazione si applica ai globuli rossi così come ai batteri e alle particelle inerti rivestite da un antigene.

Allele: una delle numerose forme alternative dello stesso gene che producono effetti diversi.

Allergene: antigene responsabile della produzione di reazioni allergiche inducendo la formazione di IgE.

Aminoacidi: queste molecole, che costituiscono la struttura di base delle proteine, sono composte da carbonio, azoto, idrogeno e ossigeno e possono formare lunghe catene chiamate polipeptidi, che sono i mattoni delle proteine.

Anemia emolitica autoimmune: emolisi, o distruzione di globuli rossi, tramite autoanticorpi, come si osserva in alcune malattie, compresi i linfomi, dopo l'utilizzo di alcuni farmaci e per ragioni spesso non chiare. La malattia da agglutinine fredde è un'anemia emolitica autoimmune osservata in alcuni pazienti affetti da WM.

Angiogenesi: formazione di nuovi vasi sanguigni. L'angiogenesi tumorale, ovvero la crescita di nuovi vasi sanguigni per alimentare le cellule tumorali, è generata da una sostanza chimica solubile rilasciata dalle stesse cellule tumorali, sta diventando un bersaglio sempre più importante delle terapie biologiche contro il cancro.

Anticorpi (Ab): chiamati anche immunoglobuline. Molecole strutturalmente correlate prodotte dalle cellule B che sono specifiche per l'antigene;

sono divise in cinque classi fondamentali o isotipi (IgG, IgM, IgA, IgE, IgD) in base alla struttura e all'attività biologica.

Antigene: qualunque molecola estranea che reagisce con un anticorpo preformato e con recettori specifici espressi sulle cellule T e B; termine usato genericamente per descrivere sostanze utilizzate per l'immunizzazione.

Apoptosi: processo di morte cellulare programmata.

Auto-anticorpo: anticorpo diretto contro un autoantigene proprio dell'organismo (self), ovvero contro un normale componente tissutale. L'anticorpo IgM che causa la neuropatia periferica è considerato un autoanticorpo.

Avidità: somma di molteplici affinità, ad esempio quando un anticorpo si lega a un antigene in diversi siti.

Azione autocrina: capacità di una citochina di agire sulla cellula che l'ha prodotta.

Azione paracrina: indica un tipo di funzione in base a cui una sostanza, come un ormone o una citochina, viene sintetizzata da una cellula e rilasciata, influenzando la funzione di altre cellule vicine.

Basofili: globuli bianchi che si colorano di blu con specifici coloranti basici; sono implicati nel rilascio di istamina e serotonina quando sono stimolati, di solito in una reazione allergica.

Bifunzionale: nel caso degli anticorpi, ciò significa avere due funzioni (ad es. legame con l'antigene alle estremità Fab e attivazione delle cellule del sistema immunitario o del complemento all'estremità Fc).

CAR T cell therapy: un tipo di immunoterapia oncologica che lavora con il sistema immunitario, utilizzando i linfociti T del paziente. La terapia CAR T cell è costruita aggiungendo un nuovo recettore alle cellule T, chiamato recettore dell'antigene chimerico o CAR, formando le così dette cellule CAR T. Queste nuove cellule ingegnerizzate, che esprimono il recettore CAR che si lega ad uno specifico antigene tumorale, introdotte nell'organismo cercano ed attaccano le cellule maligne. Dato che la maggioranza delle terapie con le cellule CAR T usa i nostri stessi linfociti T,

che vengono prelevati per aggiungere l'antigene specifico CAR e quindi combattere il tumore, ogni terapia è individuale e può avere degli effetti indesiderati personali.

Catena leggera Kappa: uno dei due tipi di catene leggere presenti nella molecola di anticorpo di base. Entrambi i tipi di catene leggere, kappa o lambda, sono presenti in tutti gli individui e possono combinarsi con qualunque tipo di catena pesante, ma in una molecola di anticorpo le due catene leggere e le due catene pesanti sono dello stesso tipo. Le catene leggere sono presenti anche come strutture a due unità (dimeri) nell'urina in alcune condizioni anormali, in particolare nel mieloma multiplo e sono denominate proteine di Bence-Jones.

Catena leggera Lambda: si veda **Catena leggera Kappa.**

Catene leggere: le più piccole delle catene che compongono una normale molecola di anticorpo.

Catene pesanti: la più grande delle catene che compongono una normale molecola di anticorpo.

CD34: recettore della superficie cellulare tipico delle cellule staminali ematopoietiche (Hematopoietic Stem Cell, HSC); utile per identificarle nella citometria a flusso e per isolarle.

CD4: proteina recettore della superficie cellulare delle cellule T-helper e di altri globuli bianchi. CD4 induce le cellule T a proliferare in risposta agli antigeni e le cellule B a produrre anticorpi. Inoltre CD4 funge anche da recettore per il virus dell'AIDS.

CD8: proteina recettore della superficie cellulare che è un marcatore per le cellule T con attività di suppressor e citotossica; si lega agli antigeni MHC di classe I sulle cellule presentanti l'antigene.

Cellula staminale linfoide: cellula staminale progenitrice dei linfociti.

Cellule B o linfociti B (derivati dal midollo osseo): i globuli bianchi, formati nel midollo osseo dalle cellule staminali ematopoietiche, sono i precursori dei plasmociti differenziati terminalmente che producono gli

anticorpi. Le cellule B portano l'anticorpo e gli antigeni dell'MHC di classe II sulla loro superficie cellulare. La WM è un tumore delle cellule B.

Cellule CD4/T-helper/Th: sottoclasse funzionale di cellule T, che esprimono il marcatore CD4 sulla loro superficie e aiutano le cellule B bersaglio a produrre anticorpi. Inoltre, le cellule CD4 facilitano la generazione di cellule T citotossiche (Tc). Le cellule CD4 riconoscono l'antigene in associazione con le molecole MHC di classe II.

Cellule CD8/T-citotossiche/Tc: è una sottoclasse funzionale di cellule T che esprimono il marcatore CD8 sulla loro superficie. Le cellule CD8 possono uccidere le cellule maligne o quelle infettate da un virus che hanno sulle loro membrane cellulari frammenti antigenici presentati dalle molecole MHC di classe I.

Cellule dendritiche: serie di cellule immunitarie presenti nei tessuti, che catturano gli antigeni e migrano ai linfonodi e alla milza, dove sono particolarmente attive nel presentare l'antigene processato alle cellule T.

Cellule effettrici: linfociti o fagociti che producono l'effetto finale di distruzione o neutralizzazione dell'antigene.

Cellule memoria: cellule B a lunga emivita che sono già state sensibilizzate da un antigene ma che non hanno subito la differenziazione terminale in plasmacellule. Reagiscono più rapidamente dei linfociti naif quando sono stimolate nuovamente con lo stesso antigene.

Cellule natural killer (cellule NK): globuli bianchi che hanno una capacità intrinseca di distruggere varie cellule bersaglio.

Cellule processanti l'antigene: tipo specializzato di cellula, che ha sulla superficie cellulare antigeni dell'MHC di classe II, implicata nel processamento e nella presentazione dell'antigene alle cellule T helper.

Cellule progenitrici: cellule derivate dalle cellule staminali ematopoietiche che a loro volta fungono da cellule staminali intermedie per altri tipi di cellule ematiche che si sviluppano durante il processo di maturazione e differenziazione cellulare.

Cellule staminali ematopoietiche (Hematopoietic Stem Cell, HSC): situate nel midollo osseo, le HSC sono il progenitore comune di tutte le cellule funzionali che si trovano nel sangue e nel sistema immunitario. Negli adulti, rappresentano meno dello 0,01% delle cellule del midollo osseo e danno origine a una più ampia popolazione di cellule progenitrici a differenziazione intermedia. Queste cellule progenitrici a sua volta si dividono e si differenziano ulteriormente attraverso diversi stadi nelle cellule mature responsabili di compiti specifici. Le cellule staminali sono anche in grado di rinnovare se stesse; questo potenziale di immortalità e futura proliferazione è la loro più importante caratteristica.

Cellule T (derivate dal timo) / linfociti T: sono probabilmente le cellule più complesse del sistema immunitario, data la diversità di tipi di cellule T, l'ampia gamma di citochine, fattori di crescita e modulatori immunitari prodotti dalle cellule T attivate, la complessità dell'interazione delle cellule T con gli antigeni e la complessità di maturazione delle cellule T nel timo.

Cellule T citotossiche (cellule Tc): cellule T CD8 che rispondono alla presentazione da parte dell'MHC di classe I di antigeni virali o tumorali sulla superficie di una cellula bersaglio, portando alla distruzione o alla lisi della cellula bersaglio infettata o maligna tramite la cellula Tc.

Cellule T helper 1 (cellule Th1): cellule CD4 T che producono citochine che sono associate a reazioni infiammatorie cellulo-mediate, all'attivazione del complemento e/o dei macrofagi e alla citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente.

Cellule T helper 2 (cellule Th2): cellule CD4 T che producono citochine che forniscono un aiuto ottimale per forti risposte anticorpali e allergiche.

Centromero: punto di costrizione di un cromosoma che unisce i suoi due bracci. Durante la divisione cellulare il centromero svolge un ruolo importante nella duplicazione del DNA.

Chemochine: citochine prodotte da cellule immunitarie specializzate che hanno proprietà di attivazione cellulare e incoraggiano la migrazione o l'attrazione di una cellula bersaglio attraverso il loro gradiente di concentrazione.

Citochine: è un termine generico per indicare proteine non anticorpali rilasciate da una popolazione di cellule che agiscono come facilitatori intracellulari, come accade ad esempio nella generazione di una risposta immunitaria.

Citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente (Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity, ADCC): fenomeno per il quale le cellule bersaglio, rivestite da un anticorpo, sono distrutte da cellule killer specializzate (e da altre cellule effettrici come i macrofagi) che presentano recettori per la porzione Fc dell'anticorpo. Questi recettori consentono alle cellule effettrici di legarsi al bersaglio rivestito dall'anticorpo e distruggerlo.

Citotossicità complemento-dipendente (Complement-Dependent Cytotoxicity, CDC): meccanismo di distruzione cellulare tramite attivazione della cascata di proteine del complemento, che ha inizio con la formazione di complessi antigene-anticorpo.

Codoni: strutture nucleotidiche di base a tre unità che codificano per un particolare aminoacido.

Complessi antigene-anticorpo: composti formati dalla fissazione di un anticorpo a un antigene; la maggior parte di tali complessi è innocua, ma alcuni possono causare danno tissutale tramite l'attivazione del sistema immunitario o inducendo una reazione infiammatoria.

Crioglobuline: proteine anticorpali anomale individuate in laboratorio raffreddando il siero a meno 32° Celsius, temperatura alla quale le proteine diventano insolubili e formano un precipitato. Alla normale temperatura dell'organismo di 37° Celsius le crioglobuline sono solubili. I campioni sierici di pazienti con crioglobuline devono essere conservati al caldo nell'attesa di essere testati.

Crioglobulinemia: malattia clinica caratterizzata dalla presenza di crioglobuline nel siero; spesso associata a depositi di complessi antigene-anticorpo nei reni e in altri tessuti. Sono stati descritti tre tipi di crioglobulinemia: tipo 1 (monoclonale); tipo II (moclonale-policlonale misto) riscontrato per la prima volta nella WM e osservato anche nelle malattie autoimmuni; tipo III (policlonale misto) presente nelle malattie autoimmuni, nelle infezioni e in altre malattie.

CRISPR-Cas9: una tecnologia unica che permette a genetisti e medici di modificare parti del genoma rimuovendo, addizionando o alterando parti della sequenza del DNA.

Cromosomi: strutture condensate a bastoncello ubicate all'interno del nucleo cellulare, che contengono i geni.

DNA (acido deossiribonucleico): molecola che contiene il materiale ereditario nell'uomo e in quasi tutti gli altri organismi viventi.

Dominio: segmento compatto di una molecola di anticorpo, composto da circa 100-110 aminoacidi disposti intorno a un legame disolfuro e codificato da un unico segmento di DNA.

Ematopoiesi: processo di formazione delle cellule ematiche.

Emivita/emivita dell'anticorpo: misura del tempo medio di sopravvivenza delle molecole di anticorpo dopo la loro formazione, di solito espressa come il tempo richiesto per eliminare il 50% di una quantità nota di anticorpo dall'organismo - varia a seconda della classe di anticorpo.

Eosinofili: globuli bianchi che si colorano di rosso con coloranti acidi specifici; sono coinvolti nelle reazioni contro i parassiti e in alcune reazioni di ipersensibilità che implicano l'intervento delle IgE.

Epigenoma: comprende i composti chimici che modificano, o marcano, il genoma indicandogli cosa fare, dove farlo e quando farlo. Le modificazioni, che non fanno parte dello stesso DNA, possono passare da una cellula all'altra durante la divisione e da una generazione alla successiva.

Eritrociti (globuli rossi): queste cellule contengono emoglobina che si lega all'ossigeno quando le cellule passano attraverso i polmoni e successivamente lo rilascia ai tessuti dell'organismo. I globuli rossi rappresentano poco meno della metà del volume del sangue nei soggetti sani.

Eritropoietina (EPO): ormone, prodotto principalmente dai reni, che è necessario per la normale produzione dei globuli rossi. Rilasciato nel torrente ematico in risposta a una diminuzione dei livelli di ossigeno nel sangue (come nell'anemia), l'EPO interagisce con i recettori dell'EPO

sui progenitori dei globuli rossi per aumentare la produzione dei globuli rossi. La epoetina alfa (Epogen, Procrit) e la darbepoetina alfa (Aranesp) sono forme sintetiche di EPO che possono essere usate nel trattamento dell'anemia.

Fab: frammento di anticorpo contenente il sito di legame all'antigene, formato da una catena leggera e da parte della catena pesante.

Fagociti: termine che indica le cellule del sistema immunitario (macrofagi e neutrofili) che sono capaci di ingerire microrganismi e altre particelle estranee rivestite con anticorpi o complemento. Questo processo è facilitato da specifici recettori presenti sulla superficie delle cellule denominati recettori Fc.

Fagocitosi: processo tramite cui le cellule inglobano materiale e lo racchiudono in un'area speciale (fagosoma) all'interno della cellula.

Fattori di stimolazione delle colonie (Colony-Stimulating Factor, CSF): gruppo di citochine che controllano la differenziazione delle cellule staminali ematopoietiche.

Fc: frammento di anticorpo contenente il sito di legame alle cellule effettrici e al complemento, formato da parte delle catene pesanti.

Funzioni effettrici: nel contesto del sistema immunitario, questo termine si riferisce a risultati finali delle cellule attivate del sistema immunitario, tra cui la fissazione delle proteine del complemento e la fagocitosi.

G-CSF (fattore di stimolazione delle colonie di granulociti): citochina che stimola il midollo osseo a produrre granulociti e cellule staminali e a rilasciarli nel torrente ematico.

Globuli bianchi (GB): si veda **Leucociti.**

Immunità: condizione di essere immune; protezione contro le malattie infettive conferita dalla risposta immunitaria prodotta dall'immunizzazione, da un'infezione precedente o da altri fattori non immunologici.

Immunità acquisita (immunità adattativa): immunità derivante dallo

sviluppo dell'immunità attiva o passiva. Implica l'attivazione dei globuli bianchi e la generazione di anticorpi.

Immunità innata (immunità non adattativa): comprende gli elementi protettivi presenti dalla nascita e prontamente disponibili per proteggere un soggetto da un'infezione. Esempi di immunità innata comprendono la barriera cutanea, la mucosa delle vie aeree superiori, il riflesso della tosse, il pH acido dello stomaco e le lacrime. Anche elementi interni hanno un ruolo nell'immunità innata, tra cui la febbre, proteine specializzate che si trovano nel sangue, alcune sostanze chimiche e alcune cellule immunitarie che agiscono come sentinelle aspecifiche nei confronti di qualunque invasore esterno.

Immunizzazione: induzione dell'immunità tramite (1) la stimolazione del sistema immunitario e la successiva produzione di anticorpi mediante l'esposizione ad un antigene per conferire protezione contro la malattia (ad es. immunità attiva tramite la somministrazione di un vaccino) o tramite (2) il conferimento di una reattività immunitaria specifica in soggetti precedentemente non immuni mediante la somministrazione di cellule linfoidi sensibilizzate o di siero di soggetti immuni (ad es. immunità passiva tramite la somministrazione di IgG per via endovenosa).

Immunocomplesso crioprecipitabile: precipitato che si forma quando un complesso anticorpo-crioglobulina è esposto a una temperatura inferiore alla normale temperatura corporea di 37° Celsius. I segni clinici comprendono dolore articolare, un rash cutaneo che non impallidisce, intolleranza al freddo (in particolare a livello delle estremità come dita delle mani e dei piedi e naso) e altri sintomi.

Immunogeno: sostanza capace di indurre una risposta immunitaria; nella maggior parte dei contesti è sinonimo di antigene (ma non sempre).

Immunoglobuline (Ig): si veda **Anticorpi**.

Interferoni (IFN): famiglia di proteine immunoregolatrici prodotte soprattutto dalle cellule T in risposta a DNA, virus, antigeni e altre sostanze di solito associate a cellule infette o maligne. Gli interferoni incrementano le attività distruttrici dei macrofagi.

Interleuchine (IL): famiglia di fattori prodotti da linfociti, monociti e

altre cellule che inducono la crescita e la differenziazione di cellule linfoidi e di cellule staminali ematopoietiche.

Ipermutazione somatica: processo che avviene durante la maturazione delle cellule B e che interessa la regione genica delle catene anticorpali, permettendo di affinare la specificità dell'anticorpo.

Isoemoagglutinine: anticorpi IgM e IgG che si formano naturalmente contro gli antigeni dei globuli rossi dei maggiori gruppi sanguigni.

Isotipi: nell'ambito degli anticorpi, sono le classi presenti in tutti i soggetti normali (ad es. IgG, IgM, IgA, IgE, IgD).

Leucociti: globuli bianchi prodotti nel midollo osseo; comprendono i linfociti, i fagociti e alcune cellule ausiliarie.

Linfochine: termine che indica le citochine prodotte dai linfociti. L'interferone, le interleuchine e i fattori stimolanti le colonie sono linfochine.

Linfonodi: parte del sistema linfoide secondario; organi a forma di fagiolo presenti in ascelle, inguine, collo e addome che agiscono come filtri per la linfa che li attraversa. I linfonodi sono la sede principale in cui l'antigene viene intrappolato dai linfociti, che a loro volta possono attivare una risposta immunitaria.

Lisozima: enzima presente nella saliva, nelle lacrime e in altri fluidi corporei che possiede attività antibatterica.

Macrofagi: globuli bianchi che interagiscono con gli antigeni e li presentano alle cellule T, attivandole. I macrofagi che circolano nel sangue sono chiamati monociti, mentre quelli che risiedono in alcuni tessuti sono chiamati macrofagi tissutali. I macrofagi sono capaci di fagocitosi e secernono varie sostanze che potenziano la risposta immunitaria nei confronti degli agenti infettivi e delle cellule maligne.

Malattia da agglutinine fredde: anemia emolitica autoimmune provocata dall'auto-anticorpo IgM che si lega ai globuli rossi alle temperature raggiunte dal sangue nei capillari della cute e dei tessuti sottocutanei, provocando la distruzione dei globuli rossi (emolisi).

Marcatori CD (cluster di differenziazione): molecole della superficie cellulare dei leucociti e delle piastrine che sono identificabili con anticorpi monoclonali (ad es. CD20 e rituximab) e possono essere usate per differenziare le popolazioni cellulari.

Mastociti: cellule non mobili distribuite nella vicinanza dei vasi sanguigni nella maggior parte dei tessuti; queste cellule sono piene di granuli contenenti fattori pro-infiammatori e sono spesso associate a reazioni allergiche.

Midollo osseo: tessuto spongioso che occupa la cavità centrale delle ossa che è sede dell'ematopoiesi. Dopo la pubertà, il midollo situato nella colonna vertebrale, nelle coste, nello sterno, nelle anche, nelle spalle e nel cranio è il più attivo nella formazione delle cellule ematiche. Nell'adulto, le ossa delle mani, dei piedi, delle gambe e delle braccia contengono cellule adipose invece che midollo osseo attivo.

Milza: la milza, la più grande struttura del sistema linfoide, è un organo simile a una ghiandola situato nel quadrante addominale superiore sinistro. Funge da deposito del sangue, produce i linfociti e le plasmacellule e funziona da "filtro" per il sangue rimuovendo dalla circolazione i globuli rossi danneggiati.

Molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) di classe I: proteine espresse sulla superficie di pressoché tutte le cellule che sono usate per presentare il materiale antigenico alle cellule T citotossiche CD8. L'MHC di classe I è quindi importante nel riconoscimento del self da parte del sistema immunitario e per identificare una cellula infettata da un virus o maligna.

Molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) di classe II: proteine espresse sulla superficie delle cellule B, dei macrofagi, delle cellule dendritiche e di altre cellule ausiliarie del sistema immunitario. L'MHC di classe II è caratterizzato dalla capacità di stimolare i linfociti.

Monochine: termine che indica le citochine prodotte dai macrofagi che agiscono come facilitatori delle risposte immunitarie che non coinvolgono anticorpi o il complemento.

Monociti: macrofagi mobili che sono presenti nel torrente ematico e che rappresentano il 2-5% dei globuli bianchi circolanti.

Monoclonale: gruppo di cellule derivate da una singola cellula ancestrale mediante una divisione ripetuta.

Mutazione: cambiamento nella sequenza nucleotidica di un gene. Una mutazione germinale viene ereditata mentre una mutazione somatica viene acquisita durante la vita di un individuo.

Neuropatia periferica (NP): sintomo clinico che si verifica a causa di un problema transitorio o permanente nel funzionamento dei nervi esterni al midollo spinale. I sintomi della neuropatia periferica possono comprendere intorpidimento, debolezza, sensazione di bruciore e perdita dei riflessi. Il dolore può essere lieve o grave e disabilitante.

Neutrofili: il più abbondante tipo di granulociti, hanno una breve durata di vita, sono mobili e fanno parte del sistema immunitario innato.

Neutrofili polimorfonucleati: si veda **Neutrofili.**

Nucleotide: subunità del DNA e dell'RNA, composto da una base azotata, da uno zucchero (desossiribosio o ribosio) e uno o più gruppi fosfato.

Organi e tessuti linfoidi secondari: comprendono organi incapsulati ben organizzati come la milza e i linfonodi e accumuli non incapsulati di tessuto linfoide; di solito sono il luogo in cui le cellule immunitarie incontrano per la prima volta l'antigene. In generale, i linfociti sono generati negli organi linfoidi primari e agiscono negli organi e nei tessuti linfoidi secondari.

Organi linfoidi primari (organi linfoidi centrali): organi linfoidi in cui i linfociti completano le fasi iniziali della loro maturazione; nell'adulto sono il midollo osseo e il timo.

Piastrine: cellule che si formano nel midollo osseo dalle cellule staminali ematopoietiche che circolano nel sangue e sono necessarie alla coagulazione e al controllo del sanguinamento.

Plasmacellule: globuli bianchi differenziati terminalmente della linea del-

le cellule B che producono anticorpi. Nel mieloma multiplo, la plasmacellula diventa maligna e nella maggior parte dei casi produce una grande quantità di anticorpi IgG.

Plasmaferesi: rimozione, trattamento e restituzione delle componenti ematiche. Questa procedura è utilizzata come terapia in diversi tipi di malattie ematiche, tra cui la WM.

Policlonale: derivato da cellule diverse. Normalmente le IgM sono policlonali perché derivano da molte cellule B diverse, in contrapposizione alla IgM monoclonale prodotta dalla cellula WM.

Polimorfismo: in genetica, designa l'esistenza nella stessa popolazione di due o più fenotipi geneticamente determinati. Un esempio è rappresentato dal dimorfismo sessuale (differenza di aspetto tra i sessi).

Proteasomi: complessi proteici all'interno della cellula la cui funzione è di degradare proteine non necessarie o danneggiate.

Proteine del complemento: gruppo di proteine sieriche implicate nel controllo dell'infiammazione, nell'attivazione dei fagociti e nell'attacco alle membrane di superficie che provoca la lisi cellulare. Il sistema può essere attivato tramite interazione con gli anticorpi del sistema immunitario.

Reattanti della fase acuta: proteine che aumentano e diminuiscono con l'infiammazione acuta. Ne sono esempio la proteina C reattiva, la proteina del complemento C3, il fibrinogeno, l'aptoglobina e la transferrina.

Recettori delle cellule T (T-Cell Receptor, TCR): strutturalmente correlati agli anticorpi, i recettori delle cellule T sulla superficie delle cellule T interagiscono con le molecole MHC di classe I o classe II che sono loro presentate dalle cellule presentanti l'antigene del sistema immunitario. L'attivazione dei TCR porta a varie funzioni svolte dalle cellule T. I TCR sono incapaci di riconoscere l'antigene libero non legato.

Recettori Fc: molecole di superficie su una varietà di cellule effettrici che si legano alla regione Fc degli anticorpi. Sono specifici per le diverse classi anticorpali.

Regione cerniera: la porzione di una catena pesante dell'anticorpo tra le regioni Fab e Fc che conferisce flessibilità alla molecola e consente ai due siti di combinazione di operare in modo indipendente.

Regione costante: porzione terminale delle catene leggere e pesanti di un anticorpo, che non varia tra le diverse classi anticorpali e si lega alle cellule effettrici e alle proteine del complemento del sistema immunitario dell'organismo.

Regione variabile: porzione delle catene leggere e pesanti di un anticorpo che è principalmente responsabile del legame degli antigeni. Questa regione è soggetta a manipolazione/mutazione genetica frequente.

Regioni ipervariabili: porzioni delle catene leggere e pesanti dell'anticorpo che hanno una sequenza di aminoacidi altamente variabile tra le diverse molecole di anticorpo e che insieme costituiscono il sito di legame con l'antigene.

Ribosomi: grandi strutture molecolari intra-cellulari composte da due subunità che sono la sede della sintesi proteica.

Ricombinazione o switch di classe (CSR): processo tramite cui una singola cellula B o la sua progenie possono legare i segmenti genici codificanti per la parte costante (C) di una catena pesante di immunoglobulina ai segmenti genici variabili (V) ricombinati per produrre una classe (o isotipo) di anticorpo diversa con la stessa specificità. Questo processo è irreversibile (cambiamento dalla produzione di IgM a IgG, ma non il contrario).

RNA (acido ribonucleico): acido nucleico che svolge un ruolo importante nel codificare, decodificare, regolare ed esprimere i geni.

Tessuto linfoide associato alle mucose (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue, MALT): termine generico per il tessuto linfoide associato all'apparato gastrointestinale, all'albero bronchiale e alle altre mucose.

Timo: principale sito di differenziazione delle cellule T, il timo è considerato un organo linfoide primario ed è localizzato nella cavità toracica al di sopra del cuore.

Traduzione: processo tramite il quale i ribosomi producono le proteine.

Trascrizione: il primo stadio di espressione genica, in cui un particolare segmento di DNA è copiato in un RNA messaggero tramite l'enzima RNA-polimerasi.

Trasposizione: evento genetico in cui un segmento di DNA si sposta in un'altra posizione oppure è sostituito e/o scambiato con un altro segmento genetico.

Viscosità sierica (VS): proprietà fisica del siero in termini di "densità". La viscosità sierica è influenzata dalla concentrazione di varie componenti del siero.