

UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE  
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE



**Corso di Laurea**

**SCIENZE BIOLOGICHE**

**IMMUNODEFICIENZA COMBINATA GRAVE: STATO DELL'ARTE,  
NUOVI PROGRESSI E SFIDE FUTURE.  
SEVERE COMBINED IMMUNODEFICIENCY: INSIGHTS, ADVANCES  
AND CHALLENGES.**

Tesi di Laurea:

Docente Referente  
Chiar.mo Prof.

GLORIA VENTURINI

GIORGIA GIOACCHINI

Sessione straordinaria  
Anno Accademico

FEBBRAIO 2021  
2019/2020

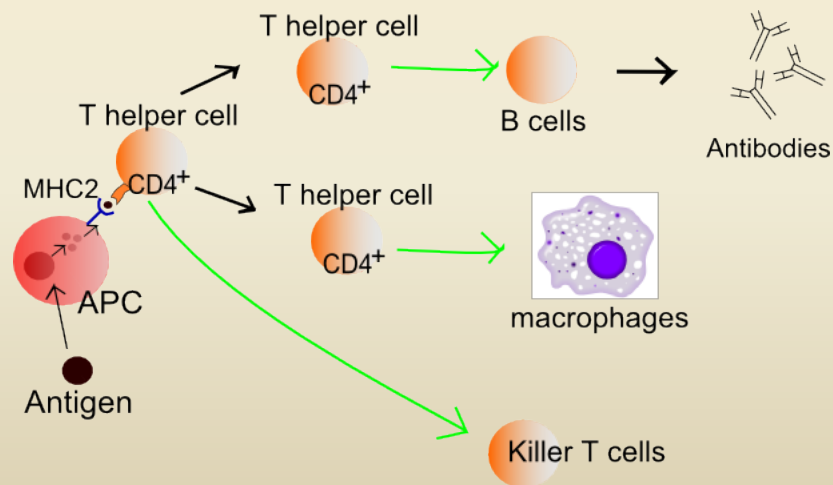
# INTRODUZIONE

L'interesse scientifico riguardante gli aspetti diagnostici, terapeutici e assistenziali delle patologie da deficit del sistema immunitario, siano esse di carattere primario o secondario, emerge con forza a partire dagli anni Cinquanta del XX secolo.

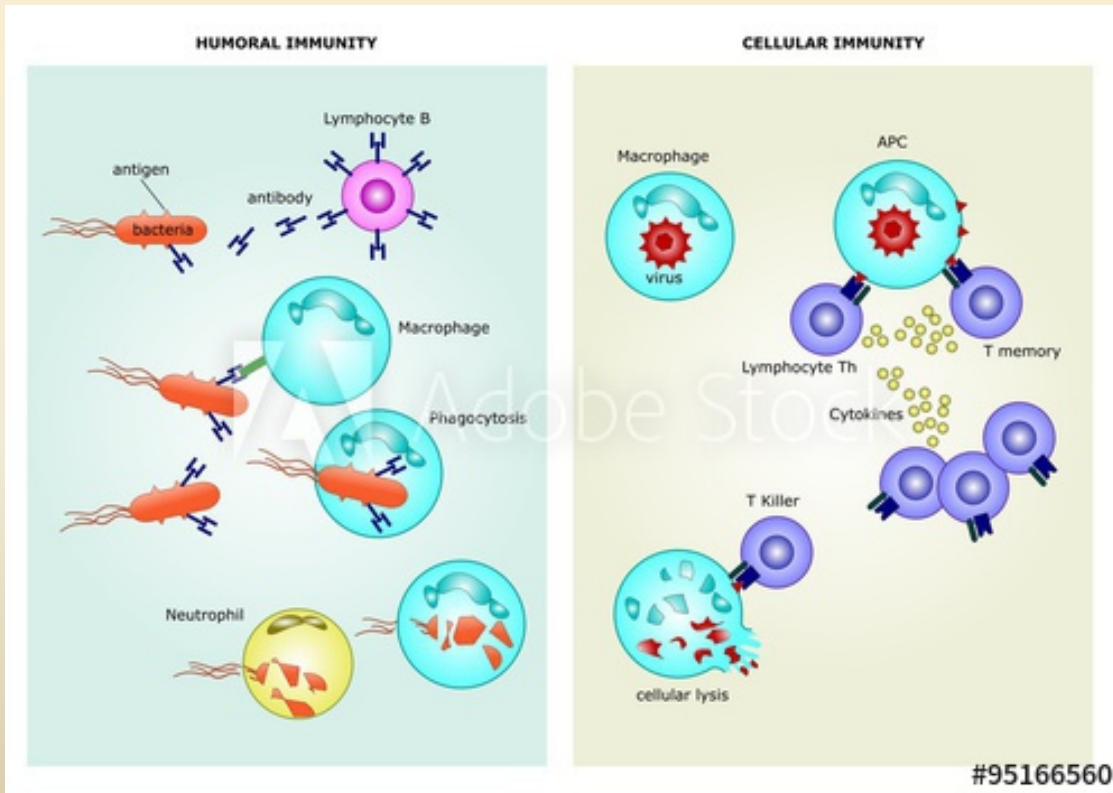
Grazie allo sviluppo di tecniche di biologia cellulare e molecolare utili per identificare difetti strutturali e/o funzionali della risposta immunitaria, il quadro delle malattie del sistema immunitario è stato arricchito significativamente concentrandosi sull'identificazione e sul meccanismo d'azione delle varie sottopopolazioni linfocitarie

# IL SISTEMA IMMUNITARIO

- Il sistema immunitario rappresenta quell'insieme di organi e cellule coinvolte nella risposta immunitaria che deve essere in grado di riconoscere le cellule del proprio organismo ("self") da quelle estranee appartenenti ad un altro organismo ("non-self"). Gli agenti estranei vengono agevolmente riconosciuti dall'organismo grazie a particolari segnali presenti sulla loro superficie, denominati antigeni che risultano essere specifici per ogni particolare agente infettante.



L'immunità è la capacità dell'organismo di difendersi dagli agenti estranei, essa si divide in immunità innata (non specifica) che agisce indistintamente contro patogeni diversi che non sono mai venuti a contatto con l'organismo, e l'immunità acquisita (specifica) che è diretta contro il particolare patogeno e si instaura a seguito di un secondo contatto col medesimo agente.



L'immunità cellulo-mediata coinvolge due tipologie cellulari che sono i macrofagi e i linfociti.

L'immunità anticorpo-mediata o umorale è caratterizzata dall'azione di particolari agenti chiamati Anticorpi o immunoglobuline (Ig).

# LA SCID: SINDROME DA IMMUNODEFICIENZA SEVERA COMBINATA.

Le immunodeficienze sono un gruppo eterogeneo di condizioni patologiche causate da uno o più difetti del sistema immunitario, che determinano una minore capacità di opposizione e resistenza ad agenti patogeni esogeni ed endogeni. Il deficit può riguardare sia l'immunità umorale sia l'immunità cellulare

## **COMBINATA O PRIMARIA**

anomalie genetiche trasmesse come caratteri recessivi, autosomici o legati al sesso

## **ACQUISITA O SECONDARIA**

condizioni patologiche (infezione da HIV, malattie neoplastiche) o conseguenza di trattamenti farmacologici, radio- e chemio-terapici

# Patogenesi e Caratteristiche Cliniche

La SCID è una delle più gravi forme di immunodeficienza primitiva ereditaria la cui principale caratteristica è l'assenza o l'errato funzionamento di popolazioni di linfociti T, con conseguenze che si ripercuotono sia sull'immunità acquisita sia di tipo cellulare che di tipo umorale.

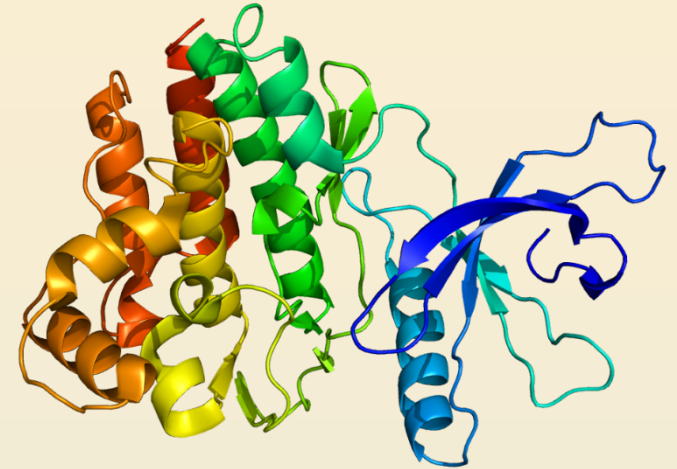
Clinicamente è possibile definire diverse forme di SCID sulla base del fenotipo immunologico. La distinzione principale si basa sull'esame delle popolazioni di linfociti B nei pazienti affetti e si distingue tra:

- SCID con assenza di linfociti T ma presenza di linfociti B  
(T<sup>-</sup>B<sup>+</sup> SCID)
- SCID con assenza sia di linfociti T che linfociti B funzionanti  
(T<sup>-</sup>B<sup>-</sup> SCID)

# Il fenotipo T-B+ JAK3: diagnosi ed approcci terapeutici

La famiglia JAK consta di quattro membri, JAK1, JAK2, JAK3 e TYK2

Nonostante le affinità architetturali, questi due domini non hanno la stessa attività catalitica, uno ha infatti una funzione catalitica, l'altro è denominato dominio pseudochinasi ed è essenzialmente regolatorio.



JAK3 costituisce un'eccezione tra le tirosin-chinasi appartenenti alla famiglia JAK, in quanto si contraddistingue per la peculiarità di complessarsi esclusivamente coi recettori contenenti la sub unità gamma, partecipando, quindi, all'attivazione cellulare indotta da IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15, IL-21.

La specificità d'azione fa di JAK3 una molecola cardine nei processi di sviluppo, maturazione e differenziazione dei precursori emopoietici, ed un fattore fondamentale nello sviluppo delle cellule del sistema immunitario.

Il 10% delle SCID a trasmissione autosomica recessiva presentano mutazioni nella linea germinale di JAK 3

Negli ultimi anni si è aperta una nuova frontiera della farmacologia sperimentale rappresentata dagli inibitori JAK 3 i quali bloccano l'iperattività del dominio ad attività chinasi contrastando i disordini mieloproliferativi e modulando la risposta immunitaria. L'inibitore JAK 3 è un farmaco immunosoppressivo che antagonizza il ruolo dello JAK 3 nello sviluppo di linfociti T ed NK. Perciò negli studi sperimentali oltre che per malattie mieloproliferative viene valutata l'azione dell'inibitore JAK 3 soprattutto per le malattie autoimmuni e la prevenzione del rigetto dei trapianti.



La diagnosi di Jak3-SCID si basa su una profonda linfopenia del tipo T (-) B (+) NK (-), sulla presenza sin dai primi mesi di vita dei caratteristici segni clinici dell'immunodeficienza e sulla storia familiare dalla quale può emergere l'ereditarietà autosomica recessiva di queste condizioni patologiche. La diagnosi definitiva è costituita dall'identificazione della mutazione del gene Jak3 poiché i parametri laboratoristici e clinici sono estremamente variabili e talvolta ingannevoli

Una importante strada terapeutica per i pazienti Jak3-SCID è il trapianto di midollo osseo da donatore compatibile. Questo trattamento è in grado di ripristinare la funzione immunitaria in modo variabile. I linfociti T si ricostituiscono completamente con guadagno dell'immunità cellulare dopo il trapianto. Diversa è la situazione per i linfociti B che spesso rimangono non funzionanti in alte percentuali dopo il trapianto a scapito dell'immunità umorale, e questi pazienti necessiteranno di un trattamento di infusione intravenosa di immunoglobuline. Le cellule NK rimarranno di basso numero anche dopo il trapianto e la loro ricostituzione sarà povera o assente del tutto.

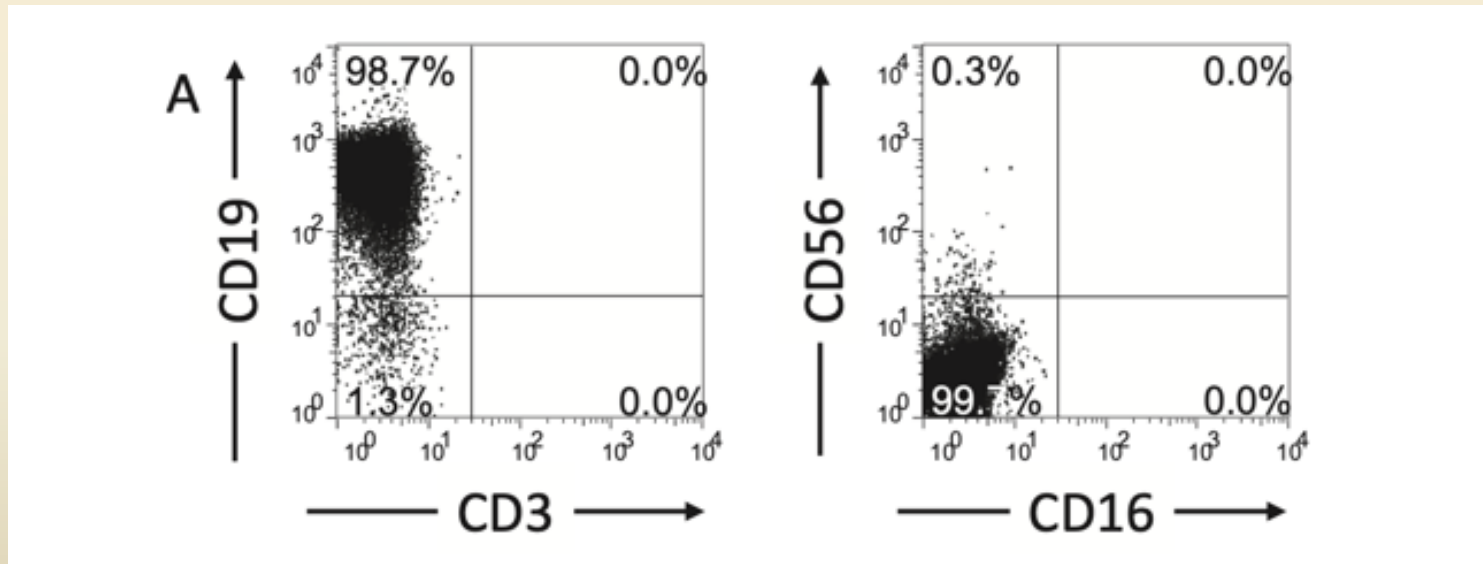
# DIAGNOSI PIDs ATTRAVERSO TECNICHE DI CITOFUORIMETRIA

La citofluorimetria è un processo che permette di caratterizzare cellule in sospensione e analizzare simultaneamente parametri fisici e caratteristiche di fluorescenza di molte migliaia di cellule ogni minuto.

Questa metodica, che integra tecnologie che utilizzano fluidica, ottica, piezoelettrica, computer-grafica, fluorescenza ed immunobiologia, è in grado di dare indicazioni riguardo il ciclo cellulare, i marcatori di superficie, la chimica, la genetica, la fisiologia e la morfologia di singole cellule presenti in popolazioni cellulari eterogenee.

Mentre le analisi genetiche rimangono l'approccio definitivo per stabilire una diagnosi di PID, la citofluorimetria rappresenta uno strumento necessario per la valutazione di pazienti affetti da PID a costi relativamente contenuti. In particolare la SCID, ovvero la forma più grave di PID, è generalmente caratterizzata da assenza di linfociti T e da un ridotto funzionamento dei linfociti B.

Mentre le analisi genetiche rimangono l'approccio definitivo per stabilire una diagnosi di PID, la citofluorimetria rappresenta uno strumento necessario per la valutazione di pazienti affetti da PID a costi relativamente contenuti. In particolare la SCID, ovvero la forma più grave di PID, è generalmente caratterizzata da assenza di linfociti T e da un ridotto funzionamento dei linfociti B.



# Conclusioni

La SCID è una delle forme più gravi di immunodeficienza primaria ed è un'emergenza pediatrica, pericolosa per la vita se riconosciuta troppo tardi. Pertanto, una diagnosi precoce associata ad una buona gestione clinica sono cruciali. Un miglioramento della terapia di supporto, il rilevamento dell'infezione mediante analisi molecolari e regimi chemioterapici meno tossici di condizionamento, hanno significativamente migliorato la sopravvivenza dei pazienti che, per un'ancora più ottimizzazione del risultato, devono essere urgentemente indirizzati presso centri specializzati.

Nel corso degli anni la costante ricerca scientifica nel campo delle PID e lo studio di tecniche sempre più innovative hanno permesso grandi passi avanti, c'è una nuova speranza con lo studio in corso che testa l'anticorpo anti-CD117 come agente mieloablativo non tossico. L'emergere di tecniche per la manipolazione genetica delle cellule staminali ematopoietiche autologhe negli anni '90 ha aperto una nuova finestra terapeutica per la cura permanente dei pazienti con SCID. Il principale vantaggio di questa strategia è evitare gli effetti collaterali causati da reazioni immunologiche allogeniche come il rigetto.

L'avanzare della ricerca molecolare e genetica sicuramente ha aperto grandi finestre su come trattare le malattie ereditarie come le SCID, attualmente abbiamo ancora dati sperimentali sui vari approcci ma di certo non manca la fiducia verso un nuovo e concreto aiuto che può essere dato ai pazienti affetti da immunodeficienza.

## **BIBLIOGRAFIA**

- van der Burg M, Gennery AR, Educational paper. The expanding clinical and immunological spectrum of severe combined immunodeficiency, Eur J Pediatr. 2011 May;170(5):561-71.
- Bousfiha AA et al., A phenotypic approach for IUIS PID classification and diagnosis: guidelines for clinicians at the bedside, J Clin Immunol. 2013 Aug;33(6):1078-87.
- Notarangelo LD, Primary Immunodeficiencies, J Allergy Clin Immunol. 2010 Feb;125(2 Suppl 2):S182-94.
- Kanegane H et al., Flow cytometry-based diagnosis of primary immunodeficiency diseases, Allergol Int. 2018 Jan;67(1):43-54.
- Rivista Italiana di Genetica e Immunologia Pediatrica - Italian Journal of Genetic and Pediatric Immunology, Anno II, numero 1 - gennaio 2010
- Ghoreschi K et al., Janus kinases in immune cell signaling, Immunol Rev. 2009 Mar;228(1):273-87.
- Palmer DC, Restifo NP, Suppressors of cytokine signaling (SOCS) in T cell differentiation, maturation, and function, Trends Immunol. 2009 Dec;30(12):592-602.
- Vainchenker W et al., JAKs in pathology: role of Janus kinases in hematopoietic malignancies and immunodeficiencies, Semin Cell Dev Biol. 2008 Aug;19(4):385-93.
- Li J et al., Impaired IL-7 signaling may explain a case of atypical JAK3-SCID, Cytokine. 2010 Feb;49(2):221-8.
- O'Shea JJ et al., Jak3 and the pathogenesis of severe combined immunodeficiency, Mol Immunol. 2004 Jul;41(6-7):727-37. Review.
- Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey-Abina S., Correction of genetic blood defects by gene transfer, Curr Opin Hematol. 2001 Nov;8 (6) :360-7.
- Fischer A et al., Gene therapy of severe combined immunodeficiencies, Adv Exp Med Biol. 2001;495:199-204.
- Kanegane H, et al., Flow cytometry-based diagnosis of primary immunodeficiency diseases, Allergology International (2017),