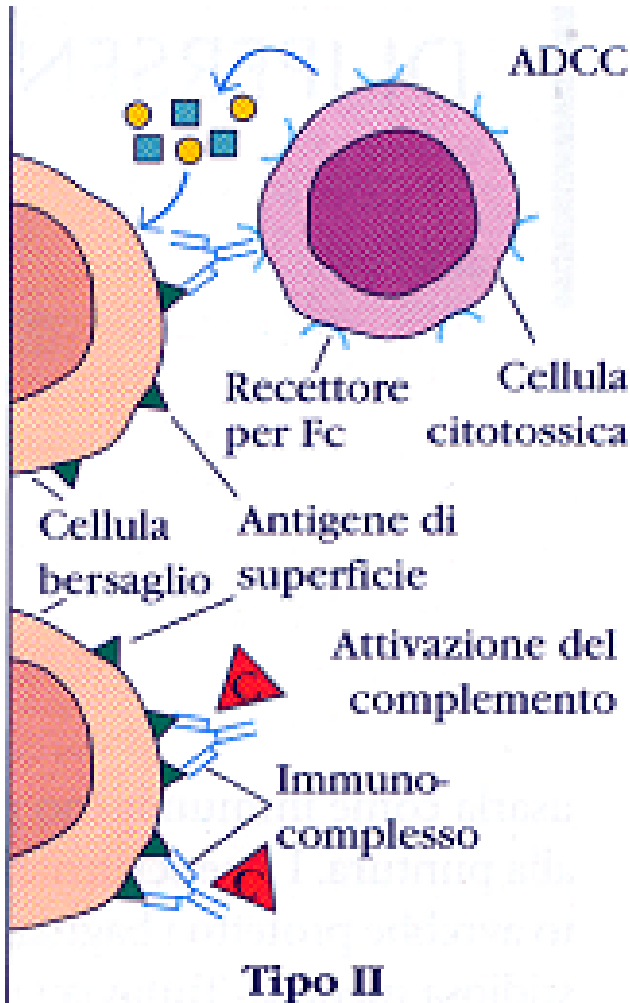


# Ipersensibilità di secondo tipo

**Mediata da IgG e IgM** dirette contro Ag di superficie e della matrice extracellulare

(Ab contro componenti intracellulari non sono patogenetici)

# Meccanismi patogenetici: danno mediato dal complemento



## MECCANISMI DI DANNO

### Attivazione della via classica del C

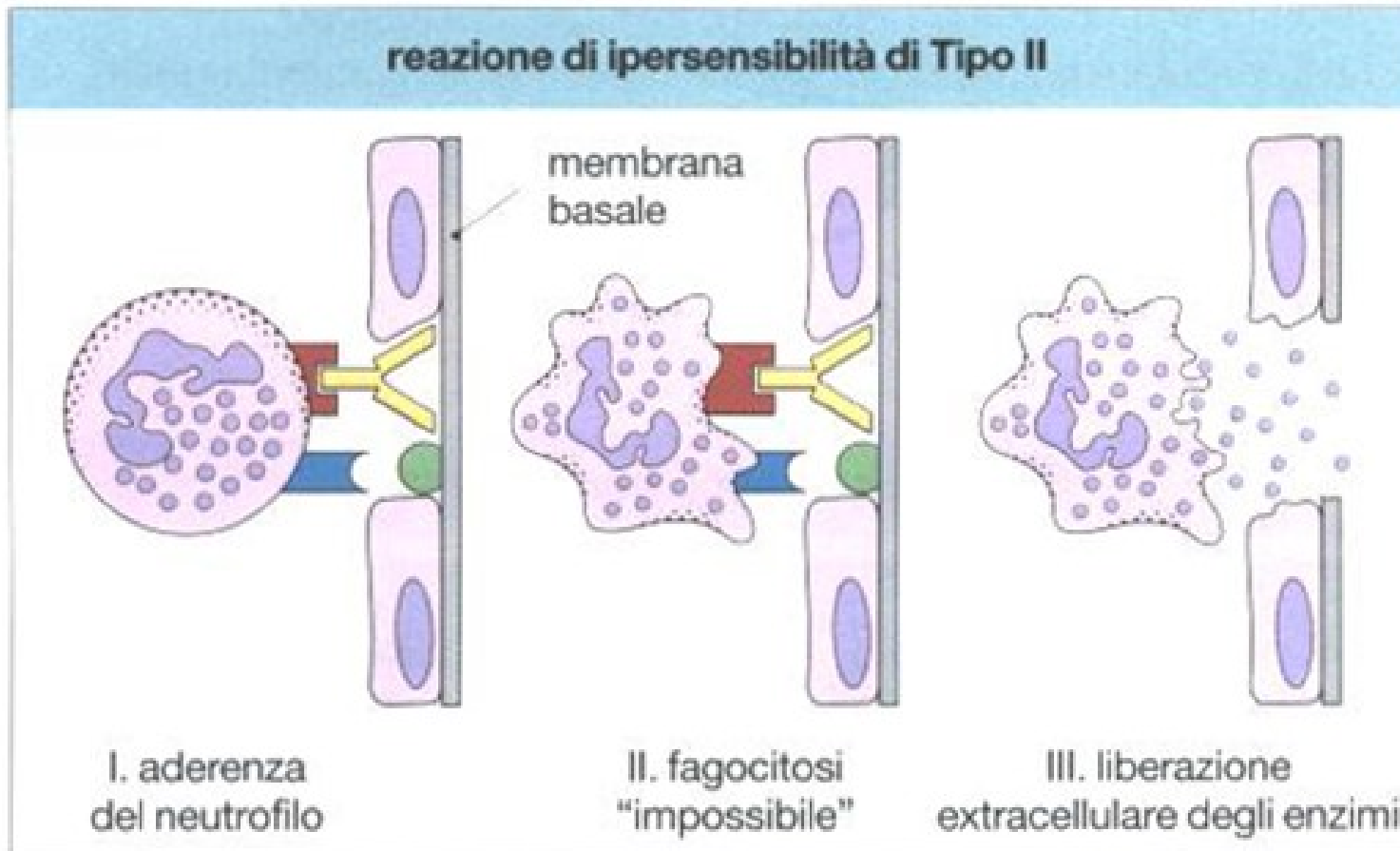
Formazione del **MAC** e inserimento nella cellula bersaglio

**C3a** e **C5a** richiamano **M $\phi$**  e **PMN** nel sito di attivazione

C3a e C5a stimolano i **mastociti** e i **basofili** a produrre chemochine che richiamano altre cellule effettrici

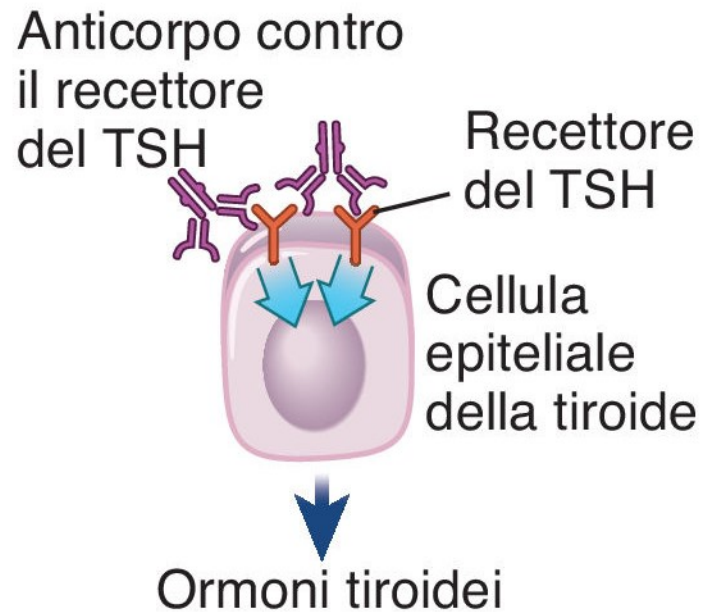
Opsonizzazione con C3b, C3bi, C3d e riconoscimento mediante CR1, CR3 e CR4

# Meccanismi patogenetici: Fagocitosi frustrata

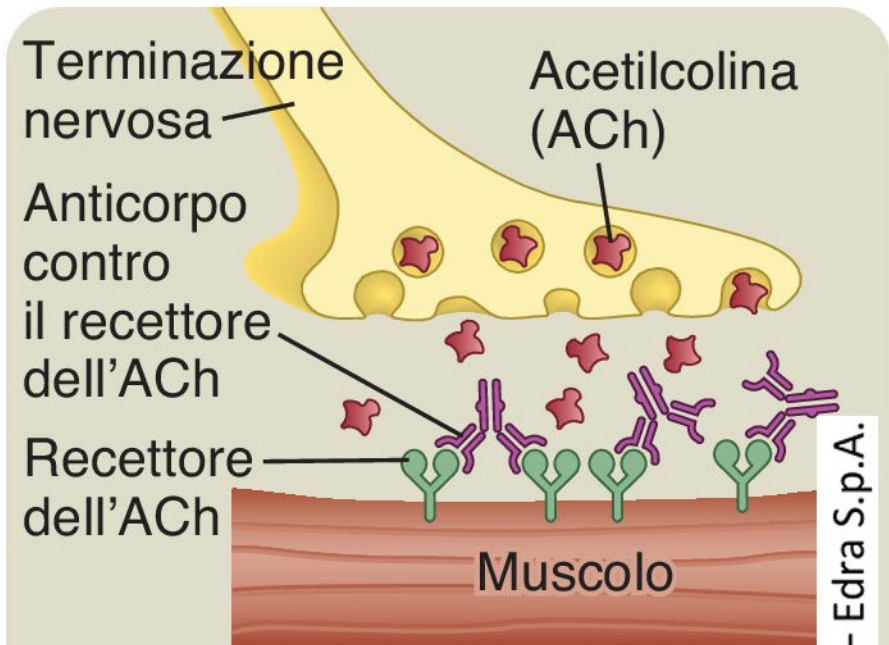


# Meccanismi patogenetici: danno diretto dell'anticorpo

C Risposte fisiologiche anomale senza danno cellulare/tissutale



**L'anticorpo stimola il recettore anche in assenza del suo ligando**



**L'anticorpo impedisce il legame del ligando al recettore**

# Trasfusioni di sangue incompatibile

I cinque sistemi dei gruppi sanguigni principali implicati nelle reazioni trasfusionali

sistema	loci genici	antigeni	frequenza dei fenotipi	
ABO	1	A, B o O	A B AB O	42% 8% 3% 47%
Rhesus	2 loci strettamente correlati: antigene principale=RhD	C o c D E o e	RhD <sup>+</sup> RhD <sup>-</sup>	85% 15%
Kell	1	K o k	K k	9% 91%
Duffy	1	Fy <sup>a</sup> , Fy <sup>b</sup> o Fy	Fy <sup>a</sup> Fy <sup>b</sup> Fy <sup>a</sup> Fy <sup>b</sup> Fy	46% 20% 34% 0,1%
MN	1	M o N	MM MN NN	28% 50% 22%

- **MN** gli epitopi espressi sulla regione N-terminale glicosilata della glicoforina A (una proteina presente sulla superficie dei GR) polimorfismo aa1 e 5
- **Kell**: endopeptidasi dello zinco
- **Duffy** antigen/chemokine receptor (DARC) o CD234.  
(polimorfismi)

The **Kidd** glycoprotein is a transmembrane, multi-pass protein that transports urea across the RBC membrane.

# Anticorpi naturali anti ABO

- Sono IgM
- Sono presenti a basso titolo (1/32-1/64)
- Vengono prodotti dopo i 3 mesi di vita senza un'evidente immunizzazione sebbene sia possibile stimolarne la produzione a seguito del contatto con epitopi identici espressi abitualmente su un'ampia varietà di microrganismi
- Non possono attraversare la placenta

# SISTEMA Rhesus

- Antigeni: C c D E e
  - Sono proteine
  - Presenti solo sui globuli rossi
  - Non ci sono anticorpi naturali
  - Gli alleli sono presenti sul cromosoma 1
  - Vengono ereditati come aplotipo
  - Sono presenti circa 10.000-20000 siti antigenici

# SISTEMA RH

RhD è l'antigene clinicamente più importante a causa della sua elevata immunogenicità.

Esistono dei soggetti in cui l'antigene D è molto debole, al punto che non può essere svelato se non con metodiche particolari; questi soggetti vengono definiti **Du** (variante Du).



# SISTEMA Rhesus

La frequenza dei soggetti Rh- è circa 1%  
negli africani zero nelle popolazioni  
orientali.

Negli europei invece è in media il 16%.

# Trasfusioni di sangue incompatibile

## • incompatibilità ABO (IgM)

- Reazioni a esordio immediato
- Emoagglutinazione
- Attivazione C
- Emolisi intravascolare
  
- Febbre, ipotensione, nausea e vomito, dolori al dorso e al torace
- (danno renale, necrosi tubulare acuta)

## • Reazioni da trasfusione di tipo ritardato 2-6gg (politrasfusi, IgG)

- (Rh, Kidd, Kell, Duffy)
  
- Agglutinazione minore rispetto IgM
  
- opsonizzazione e fagocitosi da parte dei macrofagi fegato e milza (epatosplenomegalia)

Anemia, ittero

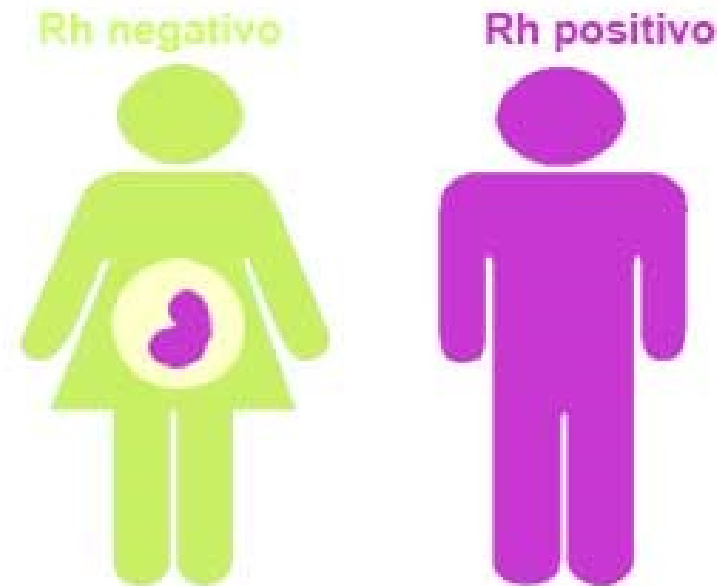
# Trasfusioni di sangue incompatibile

Se il ricevente viene trasfuso con sangue intero è necessario testare il siero del ricevente perché non contenga Ab anti GR del donatore.

La trasfusione di sangue intero è poco frequente, vengono separate le frazioni cellulari e sieriche da utilizzarsi separatamente

**Cross-matching**: serve per testare se nel sangue del ricevente ci sono Ab capaci di reagire con e distruggere GR trasfusi

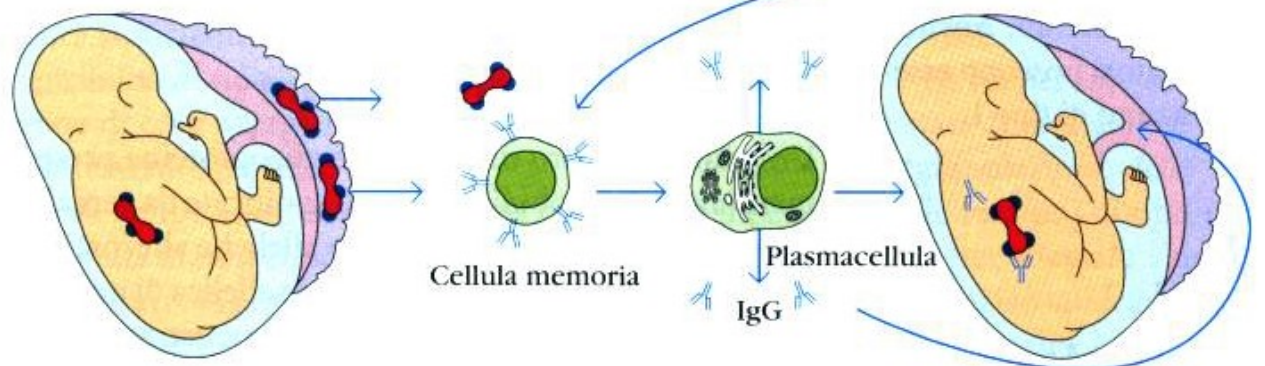
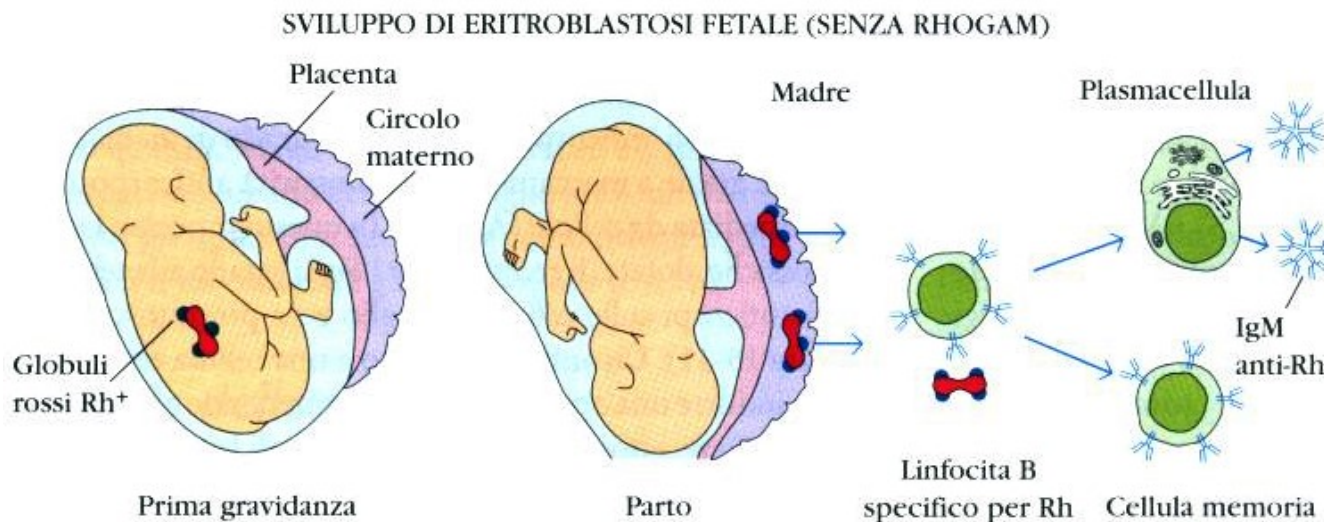
# Malattia emolitica del neonato



Anche reazioni verso altri gruppi sanguigni possono provocare la MEN.

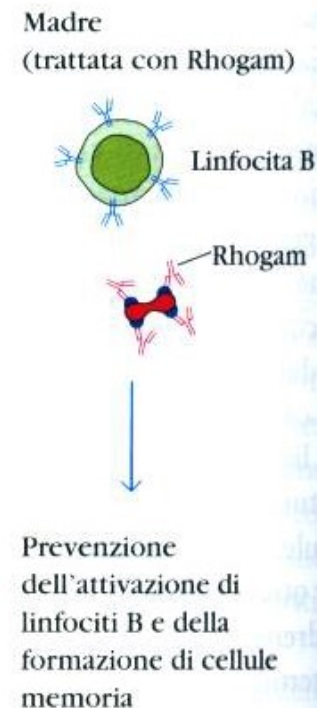
Il secondo Ag coinvolto è l'Ag K del sistema Kell.  
Frequenza bassa e antigenicità inferiore

# Malattia emolitica del neonato



IgG anti-Rh attraversano la placenta e attaccano i globuli rossi fetali causando eritroblastosi fetale

## PREVENZIONE (CON RHOGAM)



# Fisiopatologia della MEN in Utero

- La accelerata distruzione dei globuli rossi porta ad una aumentata produzione con presenza di numerosi globuli rossi nucleati in circolo: *Erythroblastosis fetalis*.

La MEN grave si manifesta in utero con:

- Edema generalizzato del feto: *Hydrops fetalis*
- **Anemia severa** che può condurre a scompenso cardiaco ed a morte

La bilirubina non coniugata prodotta dal feto viene coniugata ed eliminata dal fegato della madre: non c'è ittero nella fase intrauterina

# Fisiopatologia della MEN dopo il parto

## Iperbilirubinemia: ittero neonatale\*

- Continua la distruzione dei globuli rossi e la produzione di bilirubina non coniugata ma..
- Il fegato del neonato non è un grado di coniugare la bilirubina, che si accumula progressivamente fino a raggiungere, nelle forme gravi, livelli tossici per il sistema nervoso causando il *Kernicterus*.

\* La MEN è solo una delle cause di ittero neonatale

# Bambino affetto da MEN

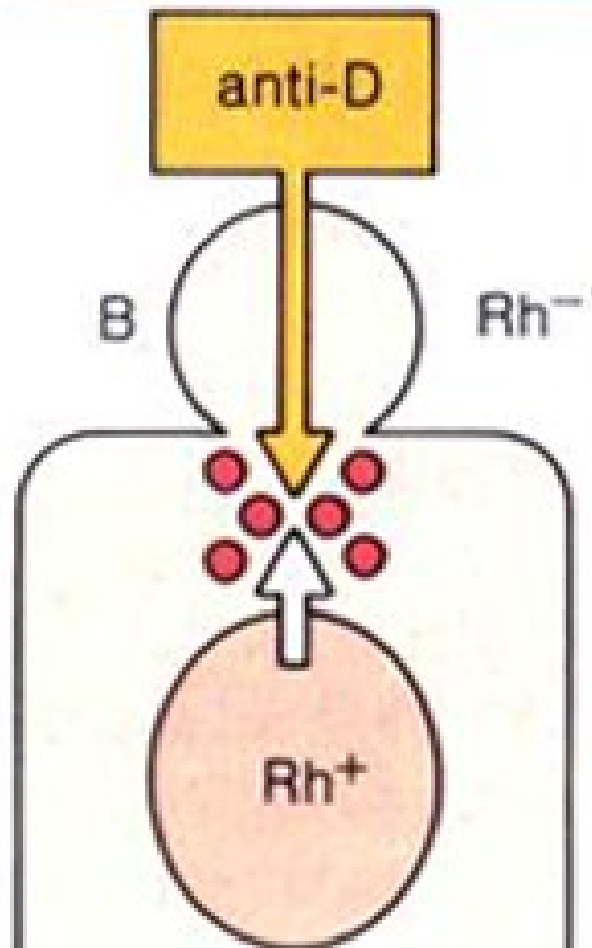
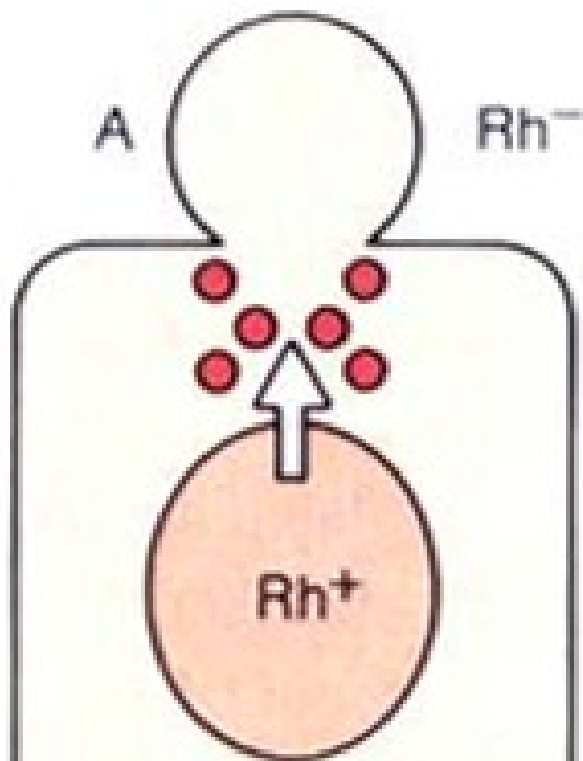


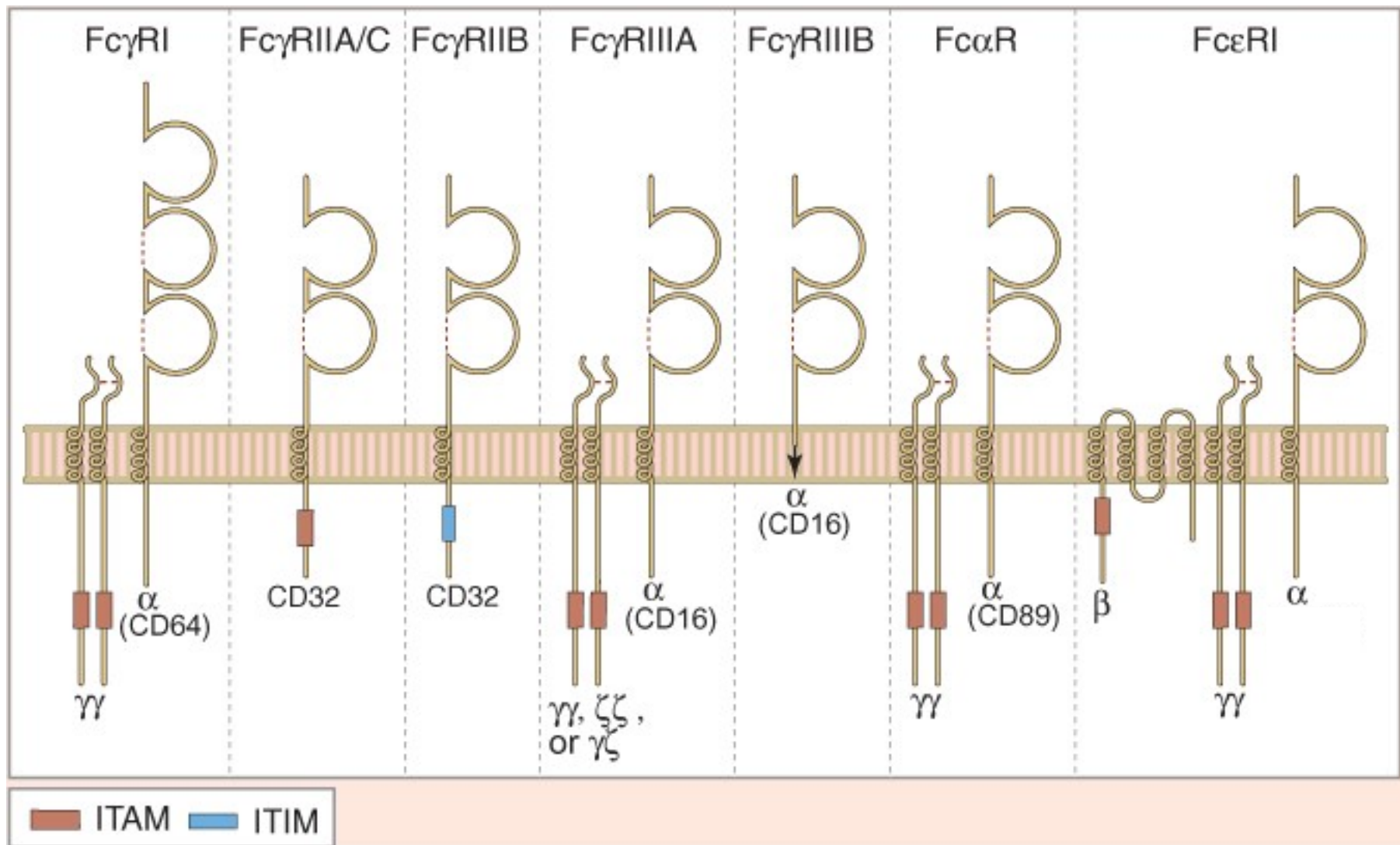
- epato- e splenomegalia associate a distruzione dei GR.
- Bilirubina (prodotto del catabolismo dei GR) molto elevata e petecchie emorragiche facciali dovute ad un'inefficiente funzione piastrinica

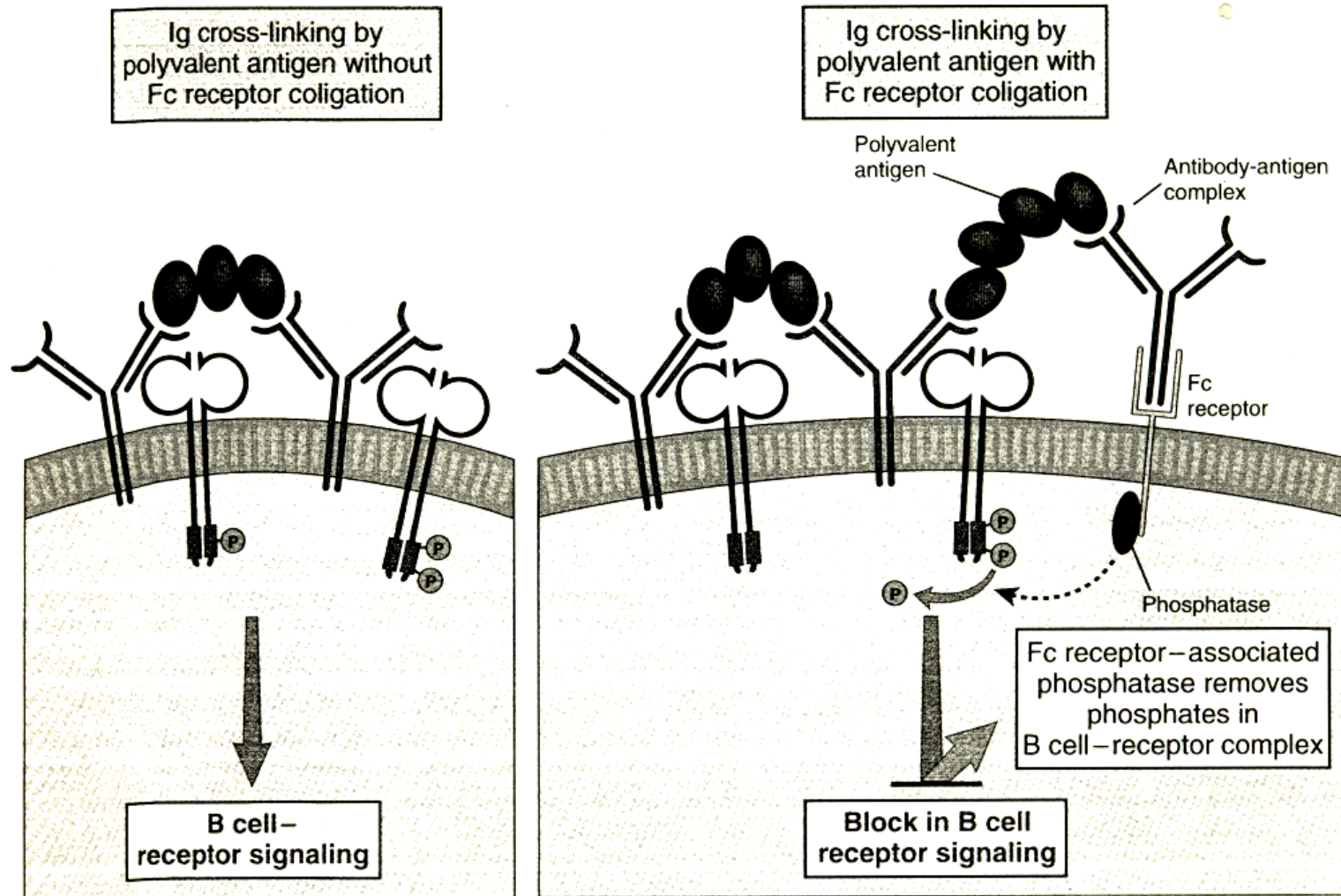


sensibilizzazione

nessuna sensibilizzazione





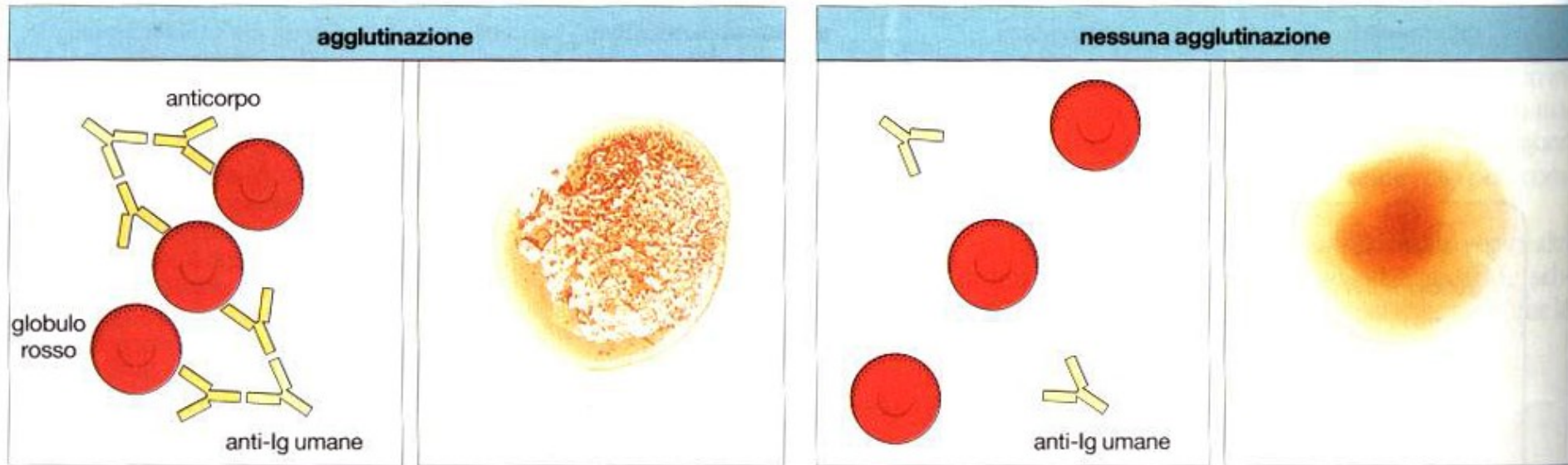


**Figure 9-17 Regulation of B cell activation by antigen-antibody complexes and Ig Fc receptors.**  
 Antigen-antibody complexes can simultaneously bind to membrane Ig (via antigen) and the Fc $\gamma$ RIIB receptor via the Fc portion of the antibody. As a consequence of this simultaneous ligation of receptors, phosphatases associated with the cytoplasmic tail of the Fc $\gamma$ RIIB inhibit signaling by the B cell receptor complex and block B cell activation. Fc, crystallizable fragment; Fc $\gamma$ RIIB, Fc $\gamma$  receptor II; Ig, immunoglobulin.

**Terapia per malattie autoimmuni**  
**Incompatibilità materno-fetale**

# Test di Coombs

## Test antiglobulinico diretto

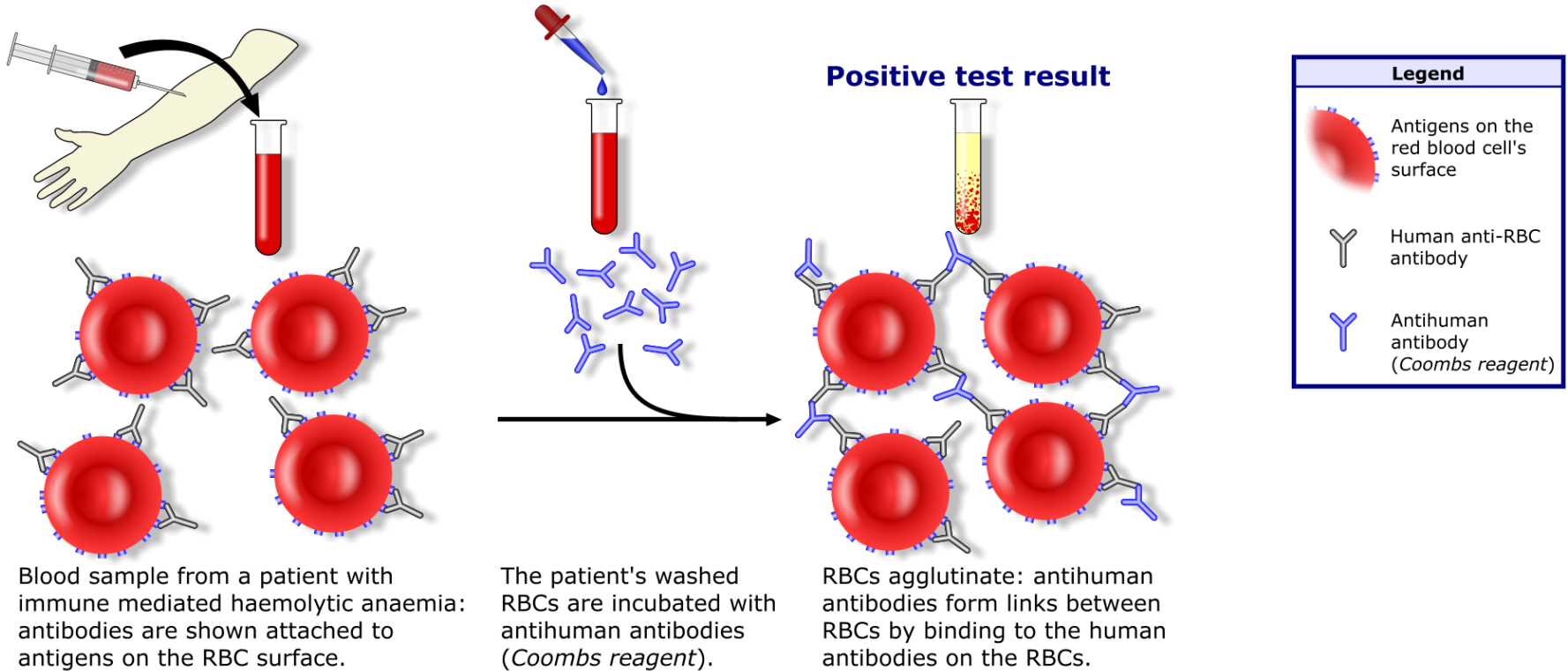


**Fig. 22.10** Questo test, chiamato anche test di Cobms, è utilizzato per identificare gli anticorpi sui globuli rossi di un paziente. In presenza degli anticorpi, gli eritrociti possono essere agglutinati da

anti-immunoglobuline umane. Se non sono presenti anticorpi sui globuli rossi, questi non vengono agglutinati dalle anti-immunoglobuline umane.

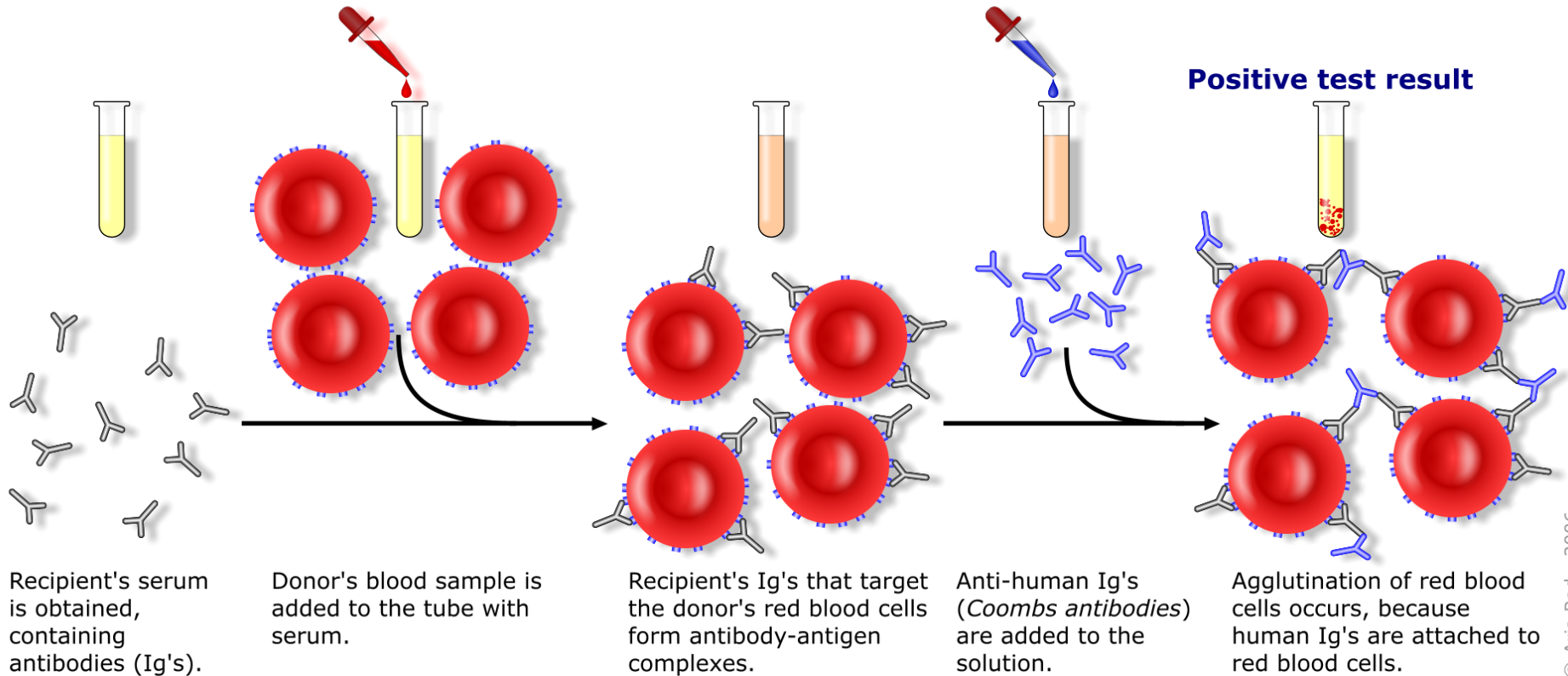
# TEST DI COOMBS DIRETTO

## Direct Coombs test / Direct antiglobulin test



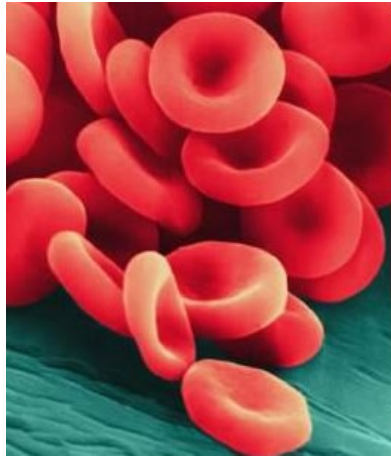
# TEST DI COOMBS INDIRETTO

## *Indirect Coombs test / Indirect antiglobulin test*



# Anemia emolitica autoimmune

## autoAbs contro i GR:



### **autoAbs caldi**

(reagiscono con l'antigene a 37°C)

Ag sistema Rh C,D,E

aumento clearance GR milza e fegato

# Anemia emolitica autoimmune

## autoAbs contro i GR:



### autoAbs freddi

(reagiscono con l'antigene al di sotto di 37°C)

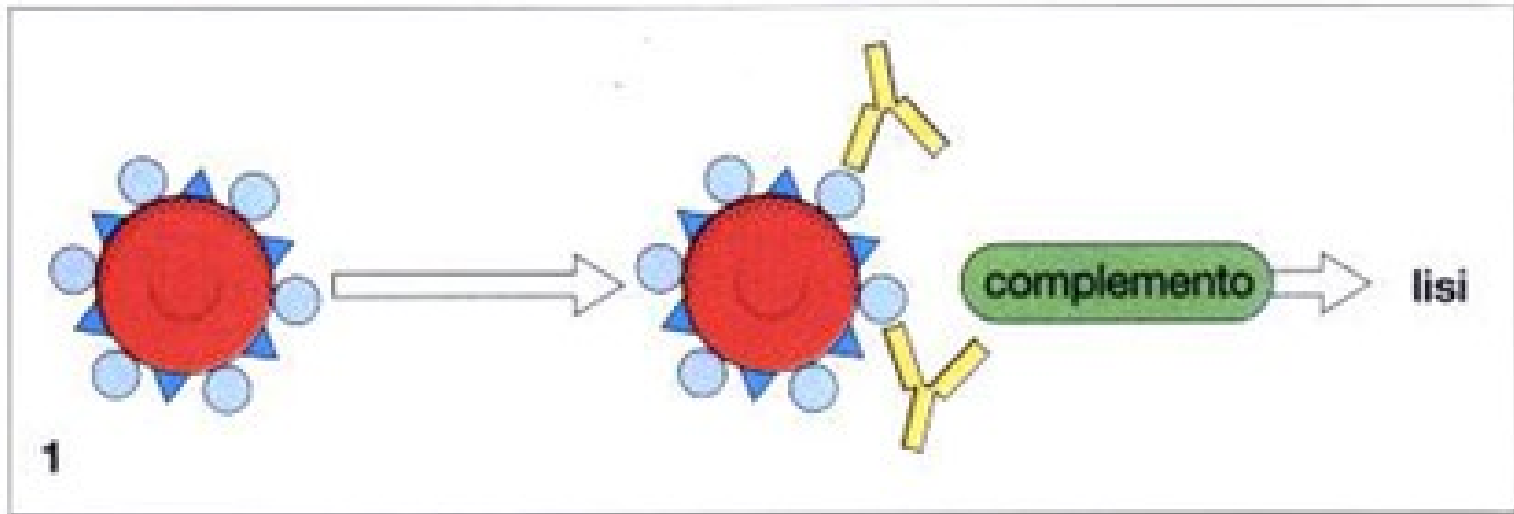
IgM

- fissano avidamente il C
- La reazione Ab-GR avviene nel circolo periferico nei mesi invernali dove la temperatura della cute può scendere sotto 30°C
- Necrosi periferica dovuta all'aggregazione e alla microtrombosi dei piccoli vasi causate dalla distruzione dei GR mediata dal C
- Anemia
- Anziani
- Causa sconosciuta anche se in alcuni casi si pensa dovuta ad Ag cross-reattivi con *Mycoplasma pneumoniae*



# Anemia emolitica indotta da farmaci

## Reazioni verso i globuli rossi indotte da farmaci



### **Abs contro i GR:**

Alcuni antibiotici possono legarsi in maniera aspecifica alla superficie di GR formando un complesso aptene-carrier: lisi mediata da complemento

- **Abs anti piastrine**

70% dei casi di porpora trombocitopenica idiopatica: accelerata rimozione di piastrine dal circolo ad opera di Mf splenici. (In seguito ad infezioni batteriche o virali o malattie autoimmuni ex LES)

- **Abs anti neutrofili (ANCA).**

Diretti contro Ag citoplasmatici dei N

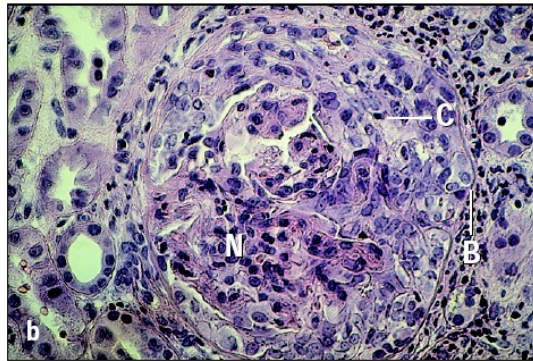
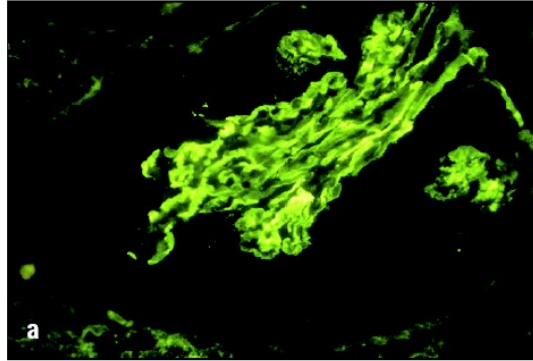
**P-ANCA** localizzati nei granuli perinucleari (LES, Ab anti MPO, vasculite, gromeluronefrite)

**C-ANCA** localizzati nel citoplasma (granulomatosi di Wegener Ab anti-proteinasi 3)

- **Abs anti antigeni tissutali**

(antigeni extracellulari. Ex Sindrome di Goodpasture, pemfigo, miastenia grave)

# Sindrome di Goodpasture



**Fig. 13.12** Gli Autoanticorpi che reagiscono con la membrana basale glomerulare determinano la malattia infiammatoria chiamata **Sindrome di Goodpasture**. Le fotografie in alto mostra una sezione di glomerulo renale preso da una serie di biopsie in pazienti con la Sindrome di Goodpasture. La fotografia a) mostra un glomerulo marcato per evidenziare i depositi di IgG attraverso immunofluorescenza. L'anticorpo contro la membrana basale del glomerulo (marcato in verde) si deposita in maniera lineare. Gli autoanticor-

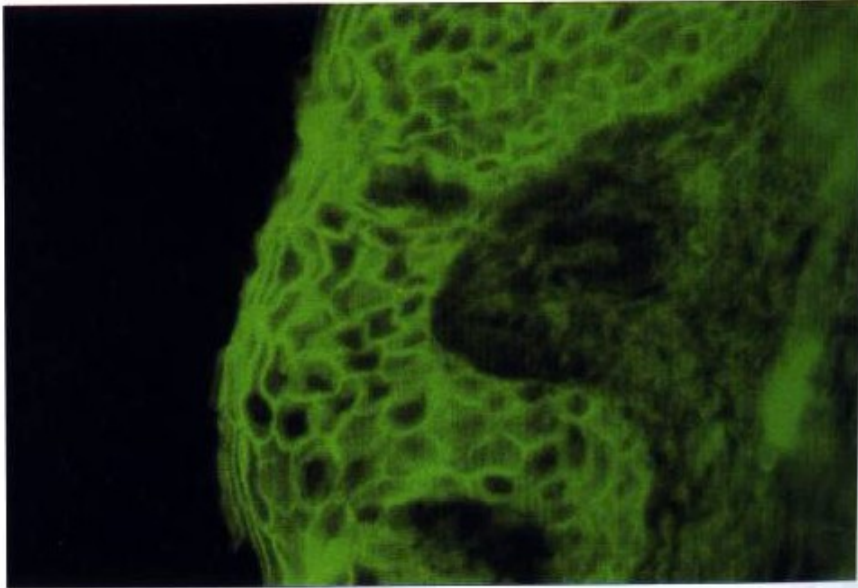
pi causano una attivazione locale delle cellule portanti i recettori per l'Fc, del complemento e l'afflusso dei neutrofili. Nella fotografia b), invece con ematossilina ed eosina si evidenzia una compressione dovuta ad una formazione derivante da una crescente proliferazione di cellule mononucleari (C) all'interno della capsula di Bowman (B), si evidenzia anche in afflusso di neutrofili (N). *Le Fotografie per cortesia di M.Thompson e D.Evans.*

- Ab MB (collagene IV) glomeruli renali e alveoli polmonari
- Attivazione del C con danno diretto
- Danno renale ed emorragie polmonari

**NEFRITE**

# Pemfigo

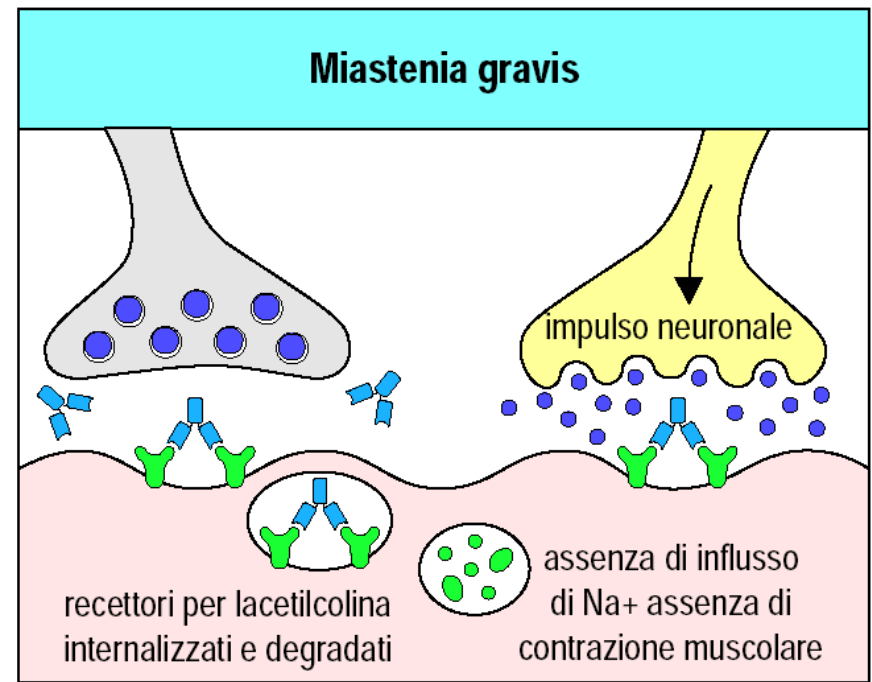
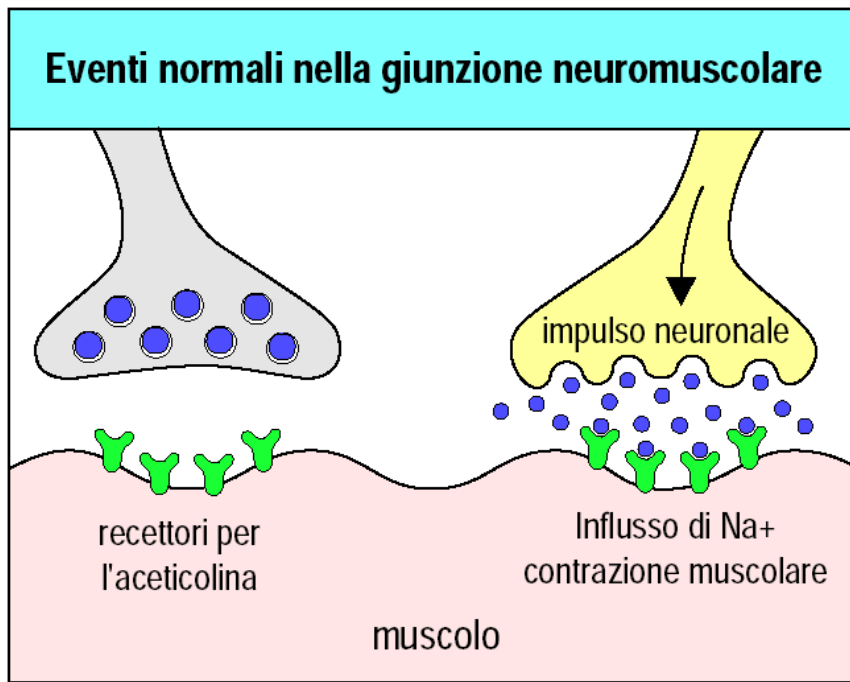
Grave malattia caratterizzata da eruzioni bollose che compaiono sulla cute e sulle membrane mucose



**Fig. 22.13 Autoanticorpi nel pemfigo.** Nel pemfigo, gli anticorpi si legano alle componenti dei desmosomi che partecipano all'adesione cellulare. I più comunemente coinvolti sono la desmogleina-1 e la desmogleina-3, ma anche altre molecole (fra cui la desmocollina) possono agire come autoantigeni. Immunofluorescenza della cute umana colorata con anti-IgA. (Per gentile concessione del Dr. R. Mirakian e di P. Collins.)

- Ab anti componenti dei desmosomi
- Gli Abs interrompono l'adesione cellulare che formano connessioni fra cellule adiacenti con conseguente disgregazione dell'epidermide o delle mucose

HLA-DR4 (DRB1\*0402)



**Fig. 13.10** Gli autoanticorpi inibiscono la funzione dei recettori nella miastenia gravis. In circostanza normale, l'acetilcolina rilasciata dai motoneuroni stimolati durante la giunzione neuromuscolare si lega ai recettori per l'acetilcolina presenti sulle cellule muscolari, avviando la contrazione muscolare ( riquadro di sinistra). La miastenia gravis è provocata da anticorpi contro la subunità  $\alpha$  del recettore per l'acetilcolina, che interviene nella trasmissione neuromuscolare. Questi anticorpi si legano al recettore senza attivarlo e provocano la sua internalizzazione e degradazione ( riquadro di destra). Man mano che il numero dei recettori sul muscolo diminuisce, il muscolo stesso risponde meno all'acetilcolina liberata dai neuroni motori.

IgG e depositi C3 e C9



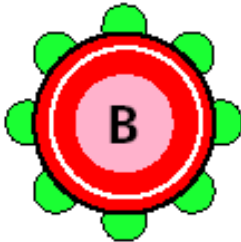

-Bloccano legame acetilcolina al suo recettore

-Aumentano il turnover

# 1-SISTEMA ABO

Sono antigeni complessi composti da glucidi presenti su tutte le cellule

Gli zuccheri conferiscono l'antigenicità e sono montati da transferasi presenti sul cromosoma 9

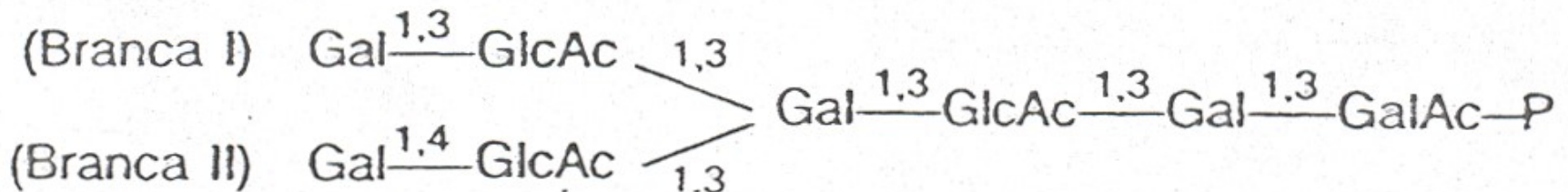
Eritrociti da individui di gruppo sanguigno			
			
Esprimono le strutture carboidrate			
$\begin{array}{c} \text{R-GlcNAc-Gal} \\   \\ \text{Fuc} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{R-GlcNAc-Gal-GalNAc} \\   \\ \text{Fuc} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{R-GlcNAc-Gal-Gal} \\   \\ \text{Fuc} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{R-GlcNAc-Gal-GalNAc} \\   \\ \text{Fuc} \\ + \\ \text{R-GlcNAc-Gal-Gal} \\   \\ \text{Fuc} \end{array}$

# Gli antigeni dei gruppi sanguigni ABO

Gli epitopi sono localizzati sulle unità carboidriche delle glicoproteine e dei glicolipidi *di numerose cellule*

GalAc=Nacetilgalattosamina  
GlcAc=Nacetilglucosamina  
Fuc= fucosio  
Gal= galattosio

Sostanza fondamentale

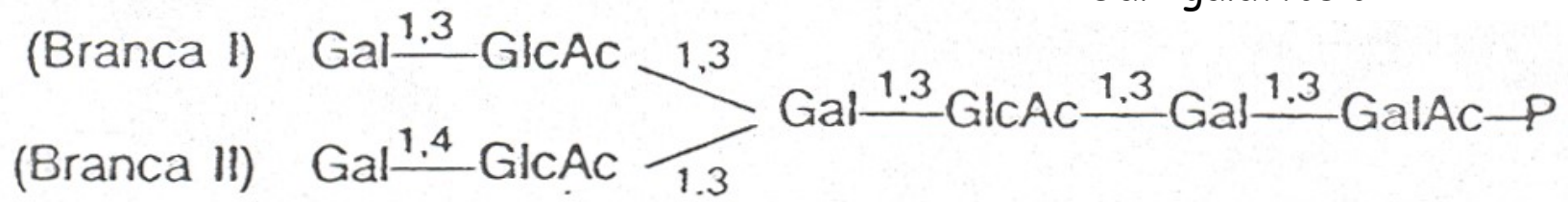


**P = porzione  
lipidica o proteica**

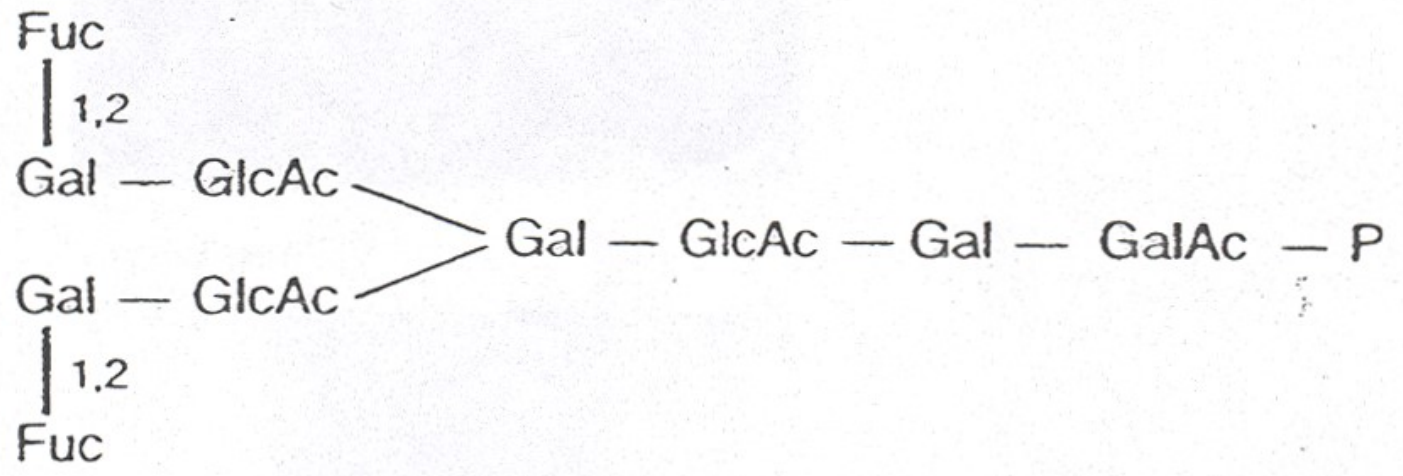
# GRUPPO O

GalAc=Nacetilgalattosamina  
 GlcAc=Nacetilglucosamina  
 Fuc= fucosio  
 Gal= galattosio

Sostanza fondamentale



Effetto del gene *H* (H)

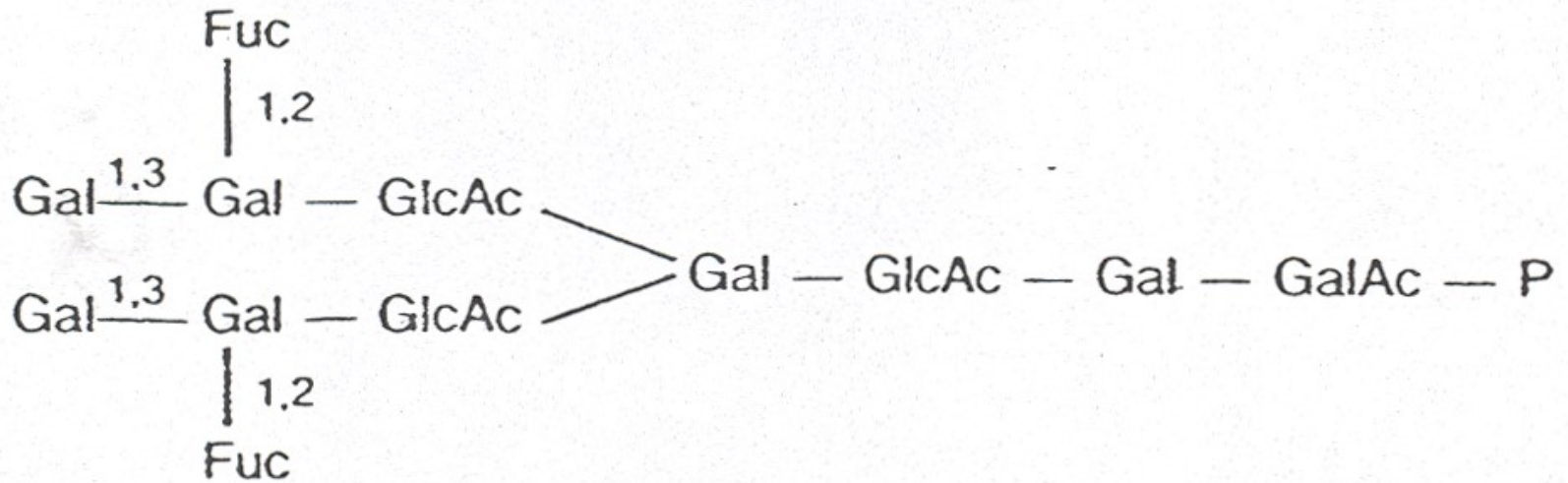


# GRUPPO BOMBAY



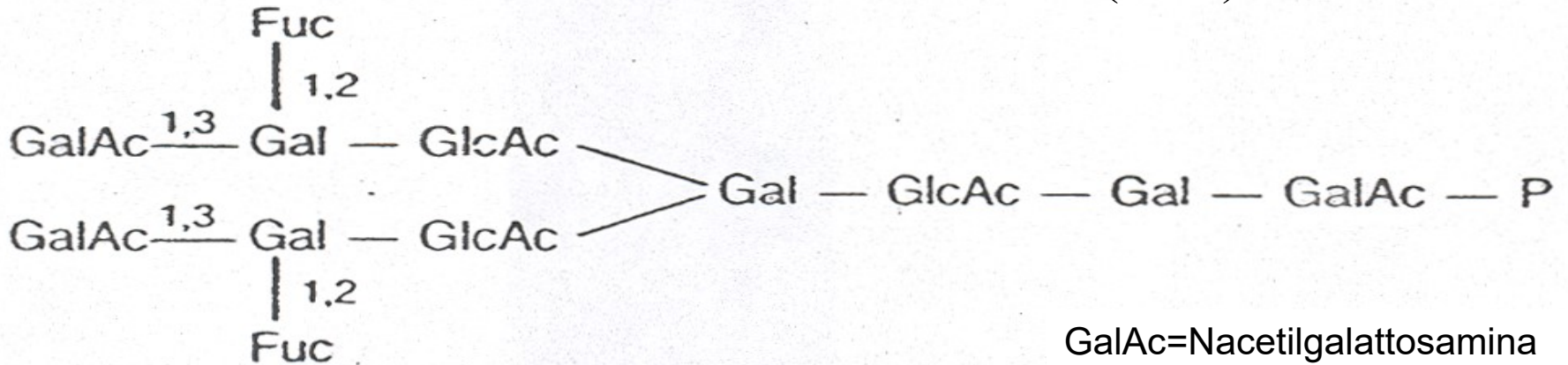
# GRUPPO B

Effetto del gene *H* e *B* (H,B)



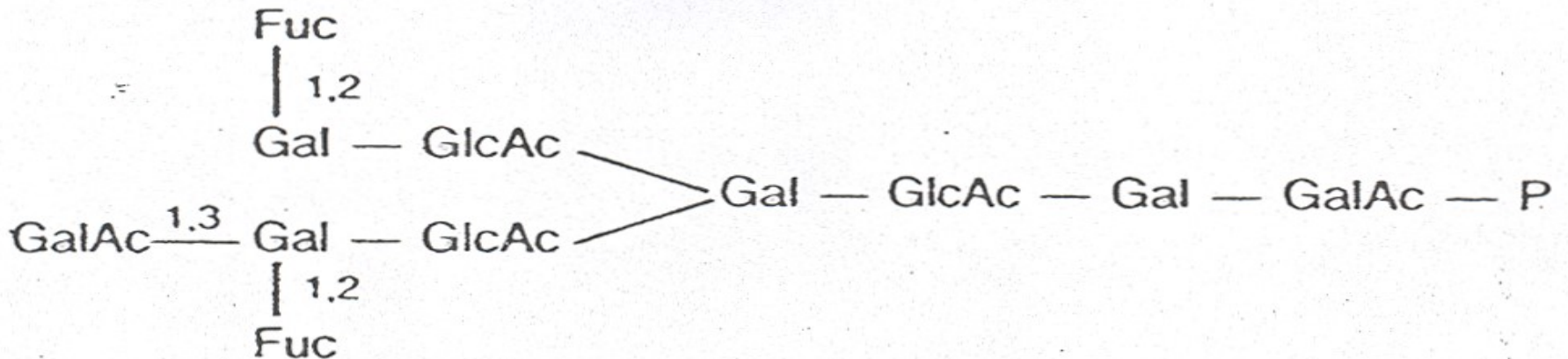
# GRUPPO A

Effetto del gene  $H$  e  $A_1$  ( $H, A_1$ ) (80%)



GalAc=Nacetilgalattosamina  
GlcAc=Nacetilglucosamina  
Fuc= fucosio  
Gal= galattosio

Effetto del gene  $H$  e  $A_2$  ( $H, A_2$ )



FENOTIPO	GENOTIPO
$A_1$	$A_1/A_1, A_1/A_2, A_1/0$
$A_2$	$A_2/A_2, A_2/0$
B	$B/B, B/0$
0	$0/0$
$A_1B$	$A_1/B$
$A_2B$	$A_2/B$

# Nel sistema ABO esistono 4 fenotipi e questi danno origine a 4 possibili gruppi sanguigni

0	40%
A	36%
B	17%
AB	7%

Frequenza nella popolazione italiana

**Tabella 16-1.** Distribuzione dei gruppi ABO nella popolazione americana.

Gruppo sanguigno	Antigeni eritrocitari	Anticorpi sierici	Frequenza (%) nella popolazione americana			
			Bianchi	Neri	Indiani	Asiatici
0	H	Anti-A, Anti-B	45	49	79	40
A	A	Anti-B	40	27	16	28
B	B	Anti-A	11	20	4	27
AB	A e B	-	4	4	<1	5

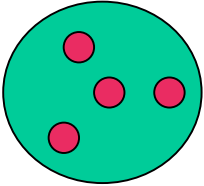
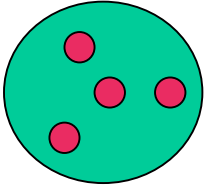
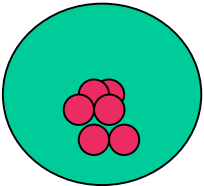
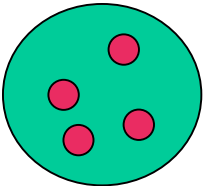
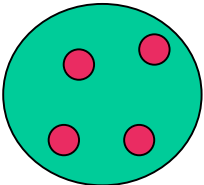
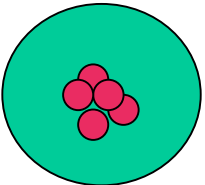
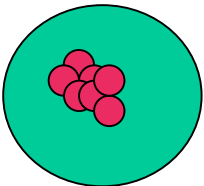
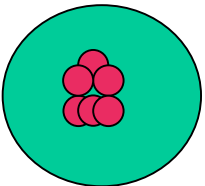
# Effetto del gene secretore

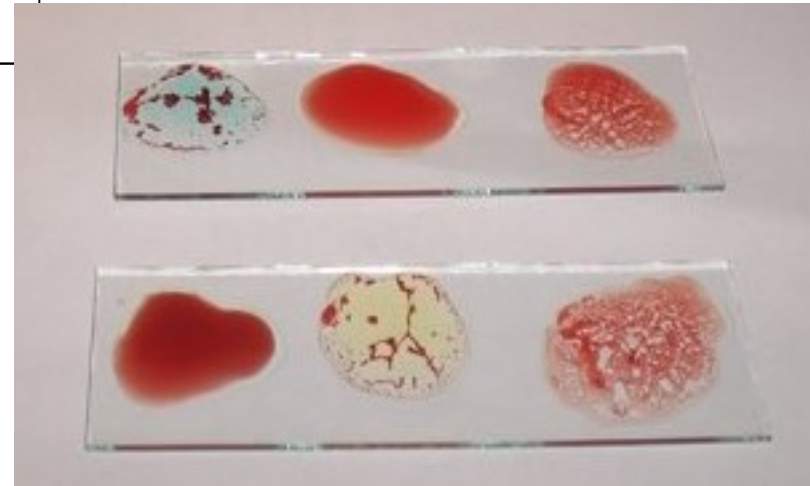
Genotipo	Saliva	Siero
Se Se	+	-
Se se	+	-
se se	-	-

# Anticorpi naturali anti ABO

Gruppo	Antigene	Anticorpo
O	H	A, B
A	$\alpha$	B
B	$\beta$	A
AB	$\alpha\beta$	-


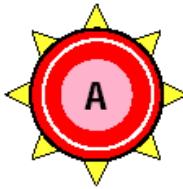
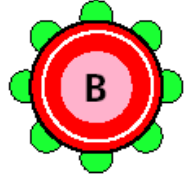




# Reazione di agglutinazione

anticorpi		Gruppo sanguigno
Anti-A	Anti-B	
		O
		A
		B
		AB



# TIPIZZAZIONE DEL SANGUE

## TEST DIRETTO E INDIRETTO

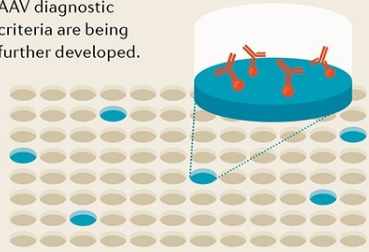
		Eritrociti da individui di gruppo sanguigno			
					
		Esprimono le strutture carboidrate			
Siero da individui con gruppo sanguigno		R-GlcNAc - Gal   Fuc	R-GlcNAc - Gal - GalNAc   Fuc	R-GlcNAc - Gal - Gal   Fuc	R-GlcNAc - Gal - GalNAc   Fuc + R-GlcNAc - Gal - Gal   Fuc
 Anticorpi anti-A e anti-B	nessuna agglutinazione	agglutinazione	agglutinazione	agglutinazione	
 Anticorpi anti-B	nessuna agglutinazione	nessuna agglutinazione	agglutinazione	agglutinazione	
 Anticorpi anti-A	nessuna agglutinazione	agglutinazione	nessuna agglutinazione	agglutinazione	
<b>AB</b> Non hanno anticorpi contro A o B	nessuna agglutinazione	nessuna agglutinazione	nessuna agglutinazione	nessuna agglutinazione	



➔ Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitis (AAV) comprises three autoimmune disorders, granulomatosis with polyangiitis (GPA), microscopic polyangiitis (MPA) and eosinophilic GPA (EGPA), which all involve inflammation and damage in small blood vessels.

### DIAGNOSIS

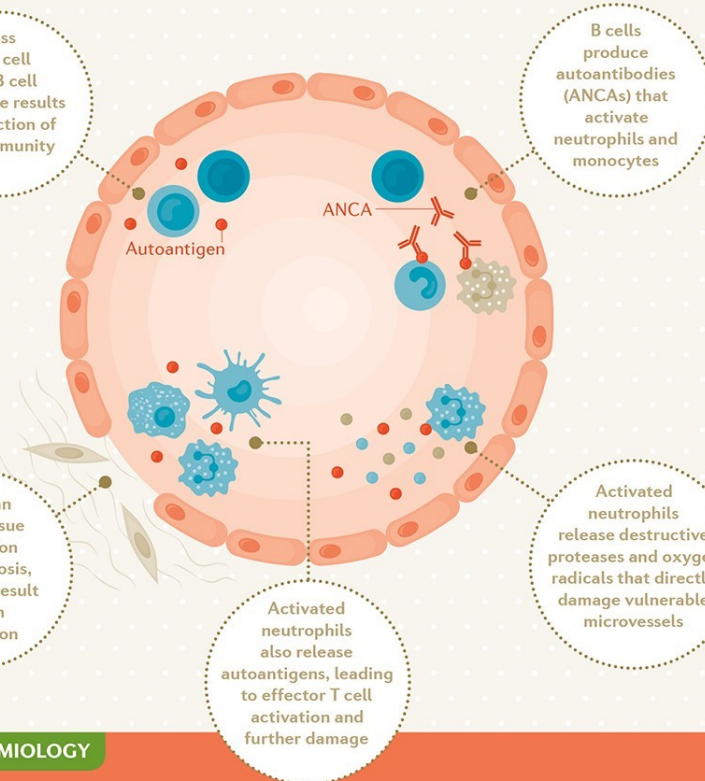
Patients with AAV usually present with non-specific symptoms of systemic inflammation, such as weight loss, fatigue, and joint and muscle pain, and are, therefore, often misdiagnosed. Various tissues and organs are affected in AAV, with frequent involvement of the respiratory tract (for example, asthma in EGPA) and the kidneys (glomerulonephritis). The Chapel Hill Classification defines the AAV subtypes based on vessels affected, manifestations and inflammatory features. Diagnosis of AAV relies on ANCA testing and assessment of clinical, imaging and histopathological evidence. However, detection of ANCAs (either leukocyte proteinase 3 (PR3)-ANCAs or myeloperoxidase (MPO)-ANCAs) is not in itself diagnostic of AAV, as they occur in other conditions. The AAV subtypes show histopathological differences; whereas all AAVs show necrotizing small-vessel vasculitis on biopsy, granulomas occur in GPA and eosinophilic infiltrates in EGPA. AAV diagnostic criteria are being further developed.



### MECHANISMS

Loss of T cell and B cell tolerance results in induction of autoimmunity

B cells produce autoantibodies (ANCAs) that activate neutrophils and monocytes



Injury can lead to tissue destruction and/or fibrosis, which may result in organ dysfunction

Activated neutrophils also release autoantigens, leading to effector T cell activation and further damage

Activated neutrophils release destructive proteases and oxygen radicals that directly damage vulnerable microvessels

GPA and MPA are associated with a loss of immunological tolerance to PR3 or MPO, whereas EGPA can be ANCA-positive (usually MPO-ANCA) or ANCA-negative

### EPIDEMIOLOGY

AAVs are rare disorders, with GPA and MPA being more common than EGPA. AAV incidence varies by ethnicity: GPA is more common in white populations, whereas MPA is more common in Asian

populations. Risk factors for AAV include both genetic and environmental factors, including infection and silica exposure. The use of some drugs, such as propylthiouracil and cocaine-levamisole, is

also associated with ANCA-positive vasculitis with some AAV features. Epidemiological studies of specific AAV subtypes are needed to identify potentially distinct triggers for each subtype.

### MANAGEMENT

Initial treatment to induce disease remission involves reducing inflammation with immunosuppressive drugs, typically glucocorticoids and either cyclophosphamide or rituximab. Thereafter, therapy to maintain remission involves minimizing the glucocorticoid dose and ongoing rituximab, or replacing cyclophosphamide with less-toxic immunosuppressive drugs, such as azathioprine or methotrexate. Organ damage in patients with AAV requires specialist assessment and management.



### OUTLOOK

The understanding of AAV pathogenesis is increasing, leading to improvements in diagnosis and management of these diseases; however, challenges remain. Treatments are fairly non-specific and often have adverse effects, and the optimal duration and intensity of maintenance therapy is unclear. Further advances in knowledge of disease processes, improved diagnostic criteria and the identification of validated biomarkers to assess treatment response and predict relapse should aid in the development of more precise, personalized treatment. Potential treatments, such as immunomodulatory small-molecule inhibitors and monoclonal antibodies, as well as novel biomarkers to predict flares, such as markers of T cell activity or B cell abundance, are in various stages of development.