

Immunoematologia

La realizzazione di una risposta immune è dovuta ad un sistema di cellule, tessuti e organi tra loro strettamente correlati che, nell'insieme, compongono il “sistema immunitario”. L'organismo acquisisce la capacità di discriminare tra “self” e “non self” già nel corso dell'embriogenesi. Tale capacità, che si stabilisce con modalità ancora non completamente chiarite, rende il feto capace di distinguere i normali costituenti del proprio corpo da tutto ciò che è estraneo ad esso. Tutto ciò che viene a contatto col sistema immune prima che tale capacità si sia sviluppata viene riconosciuto come “self” mentre le sostanze e le molecole con cui viene successivamente a contatto sono riconosciute come estranee. Il sistema immunitario risponde alle sostanze estranee o con la produzione di anticorpi, che costituisce la cosiddetta “risposta umorale”, o con l'intervento delle diverse sottopopolazioni dei linfociti T che costituisce la risposta “cellulo-mediata”. L'immunoematologia, si occupa principalmente degli eventi che inducono la risposta umorale e degli effetti che tale risposta comporta; tuttavia i meccanismi che la determinano rientrano nel più ampio contesto dell'immunologia.

Gruppi Sanguigni

Il **sistema ABO** è stato il primo sistema gruppo ematico identificato e rimane ancora oggi il sistema antigenico più importante per la pratica trasfusionale. Infatti, la compatibilità ABO tra donatore e ricevente è il requisito fondamentale per ogni trasfusione. Normalmente ciascun soggetto possiede nel proprio siero degli anticorpi capaci di riconoscere gli antigeni del sistema AB che non sono presenti sulla superficie delle proprie emazie. Questo rapporto di complementarietà permette di eseguire le indagini per la determinazione del gruppo ABO sia sul siero sia sulle emazie.

Poiché la formazione di anticorpi gruppo ematici inizia normalmente solo dopo la nascita, non è possibile la determinazione del gruppo ABO con il test indiretto sul siero di neonati o di bambini al di sotto dei 4-6 mesi. Inoltre nel siero dei neonati possono essere presenti anticorpi anti-A o anti-B di tipo IgG acquisiti passivamente dalla madre per passaggio transplacentare. La produzione di anticorpi anti-A e anti-B inizia nei primi mesi di vita e aumenta nei primi 5 o 6 anni dopodiché rimane più o meno costante fino all'età avanzata per poi decrescere nei soggetti anziani.

I soggetti in grado di realizzare una risposta immune reagiscono agli stimoli antigenici (tipo A e B) producendo anticorpi diretti contro quelle specificità ABO che non possiedono. Così nel siero di soggetti di gruppo O e di gruppo B si formano gli anticorpi anti-A ed in quelli di gruppo O e di gruppo A si formano gli anticorpi anti-B. I soggetti di gruppo AB, possedendo entrambi gli antigeni non formano alcun anticorpo.

I termini “*Rh-positivo*” ed “*Rh-negativo*” si riferiscono alla presenza o assenza sulla membrana eritrocitaria di un antigene universalmente definito **antigene D**. Si tratta, dopo gli antigeni A e B, del più importante antigene eritrocitario per la pratica trasfusionale. A differenza del sistema ABO i soggetti che non hanno l'antigene D di regola non hanno l'anticorpo corrispondente, anti-D, nel siero. La formazione dell'anticorpo è dovuta all'esposizione ad emazie che possiedono l'antigene. Tale esposizione può realizzarsi in seguito a gravidanza o a trasfusione di sangue. Successivi studi familiari hanno dimostrato che la presenza dell'antigene sulle emazie è geneticamente determinata e che il gene responsabile è autosomico dominante. Il gene “Rh” è localizzato sul cromosoma 1. L'adozione di test più sofisticati ha portato al riscontro di anticorpi che riconoscono antigeni e mostrano una evidente correlazione con l'antigene D. I 4 antigeni scoperti dopo l'antigene D, sono stati denominati C, E, c ed e. L'associazione di questi antigeni suggerisce che l'immunogenicità Rh sia legata a molecole di superficie dotate di numerosi determinanti antigenici. In alcune di queste molecole con attività antigenica, è presente l'antigene D, mentre è assente in altre. La composizione di queste configurazioni antigeniche è geneticamente determinata. Per i 5 principali antigeni, è noto

il coinvolgimento di un singolo gene nel determinare contemporaneamente la produzione dell'antigene D e degli antigeni C, c, E ed e. Nonostante siano state identificate e studiate numerose varianti e combinazioni, questi 5 antigeni e i rispettivi anticorpi, costituiscono il fondamento del sistema Rh.

Test di Coombs

Ogni paziente affetto da anemia emolitica da anticorpi (AEA), viene studiato mediante il **test dell'antiglobulina** (test di Coombs) diretto e indiretto.

Il **test di Coombs diretto** consente di svelare la presenza di anticorpi o di frazioni del complemento adesi alla superficie delle emazie preventivamente lavate per asportare proteine aspecificamente adese in superficie. Il test si esegue incubando le emazie del paziente *in vitro* con un siero polivalente antiglobuline umane. Qualora le emazie del paziente siano “sensibilizzate” per la presenza di anticorpi adesi alla superficie, si stabiliscono legami crociati che comportano l’agglutinazione eritrocitaria e la conseguente positività al test.

Il **test di Coombs indiretto** svela la presenza di anticorpi antieritrocitari incompleti nel siero del paziente. Si esegue incubando emazie normali con il siero in esame e con siero antiglobuline umane. In presenza di anticorpi incompleti sensibilizzanti si assiste all’agglutinazione delle emazie. La presenza di questi autoanticorpi plasmatici in forma non legata dipende dalla quantità totale di anticorpi prodotti e dall’affinità di legame fra l’anticorpo e l’antigene eritrocitario. In linea generale, i pazienti che presentano globuli rossi fortemente sensibilizzati hanno una maggiore quantità di autoanticorpi liberi nel plasma.

Un risultato positivo del test dell’antiglobulina diretto non implica necessariamente che le emazie del soggetto abbiano una ridotta sopravvivenza in “vivo”. Un test dell’antiglobulina diretto positivo si riscontra con una frequenza che può raggiungere il 10% dei pazienti ospedalizzati o nei donatori con un’incidenza che varia tra 1 ogni 4000 e 1 ogni 9000, senza che siano presenti segni clinici di emolisi immunitaria.

Diverse possono essere le cause di positività al test di Coombs, tuttavia in alcuni casi non è possibile individuare alcuna causa apparente:

- ↳ *autoanticorpi* diretti verso antigeni eritrocitari che sensibilizzano le emazie con immunoglobuline o complemento o con entrambi;
- ↳ *alloanticorpi* presenti in un paziente recentemente trasfuso che reagiscono con gli antigeni presenti sulle emazie del donatore;
- ↳ *alloanticorpi materni* che attraversano la placenta e sensibilizzano gli eritrociti fetali; la presenza di tali anticorpi si associa spesso con malattia emolitica del neonato;
- ↳ anticorpi diretti contro alcuni farmaci che, come ad esempio la penicillina, si legano alla membrana eritrocitaria.

I risultati del test di Coombs diretto devono riflettere le condizioni realmente presenti *in vivo*; alcuni fenomeni che si verificano *in vitro* associati con le procedure di raccolta, conservazione e preparazione dei campioni di sangue possono influenzare i risultati del test e pertanto prima di intraprendere ulteriori indagini su un paziente con test di Coombs positivo devono essere escluse le possibili cause di sensibilizzazione eritrocitaria *in vitro*. Questi quadri di autosensibilizzazione eritrocitari si verificano con frequenza variabile nelle diverse casistiche. Una positività del test all’antiglobulina diretto, può essere trovato in soggetti sani donatori di sangue (1-2 casi ogni 10.000 donatori). In questi soggetti, la positività al test può persistere per anni senza che essi sviluppino una AEA. Inoltre, un paziente che presenta autoanticorpi sierici anti-eritrocitari (Coombs indiretto), in assenza di una positività per il test all’antiglobulina diretto probabilmente non ha una malattia

autoimmune, ma piuttosto un alloanticorpo stimolato da una precedente trasfusione o da una gravidanza.