

# La memoria immunitaria: chi fa gli anticorpi?



**Rita Carsetti**

*Laboratorio di Sviluppo  
e Funzione dei Linfociti,  
Ospedale Pediatrico  
Bambino Gesù, Roma*

*carsetti@opbg.net*

Si suole dire che le immunoglobuline presenti nel siero rappresentano la nostra memoria immunologica, ovvero l'insieme degli anticorpi diretti verso tutti gli antigeni che il nostro organismo ha incontrato. L'affermazione è sicuramente corretta se ci riferiamo agli anticorpi che derivano dalla risposta immunitaria adattativa. Essi sono il prodotto finale della complessa risposta all'antigene che avviene, per esempio dopo un'infezione o una vaccinazione, nel centro germinativo ed hanno un'alta affinità per l'antigene che li ha indotti. Gli anticorpi adattativi riconoscono il loro antigene in maniera specifica ed esclusiva ed hanno la funzione di terminare l'infezione, eliminando tutti i patogeni dall'organismo e di prevenire la malattia nel caso di un nuovo incontro con lo stesso agente infettivo.

Oltre agli anticorpi adattativi, esistono nel siero anche gli anticorpi naturali. Questi sono prevalentemente di isotipo IgM e sono presenti indipendentemente da una precedente immunizzazione. Essi legano gli antigeni in maniera promiscua, cioè, al contrario degli anticorpi adattativi, non sono molto specifici e possono reagire con molti antigeni diversi per i quali hanno una bassa affinità. Tuttavia, poiché le IgM sono immunoglobuline pentameriche ed hanno dieci siti di legame per l'antigene, la loro avidità ne compensa la bassa affinità. Le IgM inoltre legano e attivano il complemento e perciò rappresentano un'efficiente prima linea di difesa contro i microbi che non abbiamo mai incontrato prima.

Quindi la funzione principale degli anticorpi naturali è quella di limitare la crescita e la diffusione dei patogeni lasciando il tempo alla reazione adattativa di produrre gli anticorpi ad alta affinità. L'importanza degli anticorpi è chiaramente dimostrata dallo studio di pazienti affetti da immunodeficienze primarie o secondarie dei linfociti B. I sintomi più frequenti sono infezioni ricorrenti e croniche delle basse vie aeree causate più frequentemente da batteri capsulati. Talvolta il quadro si complica con episodi di meningite e sepsi ripetute. Frequenti sono anche le infezioni gastrointestinali con diarrea e, in questi casi, le infezioni da enterovirus sono particolarmente aggressive e possono evolvere in meningoencefalite.

Nel sospetto di una immunodeficienza umorale è necessario studiare accuratamente i linfociti B.

La loro frequenza totale nel sangue periferico viene normalmente calcolata identificandoli con un anticorpo contro il marker CD19, che è presente sulle cellule della linea B dagli stadi precoci di sviluppo nel midollo (pro- e pre-B) fino a quelli più maturi in periferia ed è poi perso nelle plasmacellule. Non è sufficiente però sapere che un paziente ha una frequenza normale di linfociti B per escludere il sospetto di immu-

*Gli Autori dichiarano di non  
avere alcun conflitto di  
interesse rispetto all'argomento  
trattato nell'articolo.*

nodeficienza. Infatti, la presenza di linfociti B nel sangue ci dice solo che le fasi precoci di sviluppo nel midollo funzionano, ma le cellule effettrici, che fanno anticorpi, derivano da un processo di maturazione che avviene in periferia e che passa attraverso stadi definiti. Nel sangue periferico ci sono tre popolazioni distinte di linfociti B, che possono essere riconosciute usando i marker CD24 e CD38 (Fig. 1). Le cellule transizionali (CD24<sup>++</sup> CD38<sup>++</sup>) sono cellule relativamente immature che stanno migrando dal midollo agli organi linfatici periferici e qui si svilupperanno in cellule B mature-naive (CD24<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>). Queste ultime sono le cellule che popolano i follicoli linfatici e che, se incontreranno l'antigene per cui sono specifiche, inizieranno la risposta immunitaria e formeranno i centri germinativi. La terza popolazione di linfociti B è quella delle cellule B della memoria, CD24<sup>+++</sup>CD38<sup>-</sup>. Sia gli anticorpi adattativi che quelli naturali vengono prodotti dalle cellule B della memoria. Le cellule B della memoria sono caratterizzate dalla presenza di ipermutazioni somatiche nei geni che codificano per la regione variabile delle immunoglobuline, quella che lega l'antigene. La presenza di mutazioni somatiche dimostra che queste cellule hanno

già avuto una esperienza immunologica e sono state selezionate per la loro maggiore affinità all'antigene.

Le cellule B della memoria (Fig. 2) sono assenti alla nascita ed aumentano progressivamente negli anni con l'esperienza antigenica, data da infezioni e vaccinazioni. Nell'adulto esse sono il 30-50% dei linfociti B e rappresentano un pool molto stabile e longevo.

Una caratteristica fenotipica che identifica precisamente le cellule B della memoria è l'espressione del marker CD27 contemporaneamente ad un marker della linea cellulare B, come il CD19, il CD20 o il CD22 (Fig. 3). Le B della memoria sono di due tipi, riconoscibili studiando l'espressione delle immunoglobuline di superficie IgD ed IgM. Mentre cellule B mature-naive esprimono alti livelli di IgD e medi di IgM, le cellule B della memoria comprendono le IgM memory, che hanno sulla superficie molte immunoglobuline di tipo IgM e poche IgD e le switched memory che esprimono gli altri isotipi, IgG ed IgA.

Negli ultimi anni l'importanza delle cellule B della memoria è stata sottolineata da diverse osservazioni. È stato dimostrato che esse, soprattutto quelle di tipo IgM, diminuiscono drammaticamente nel sangue periferico dei

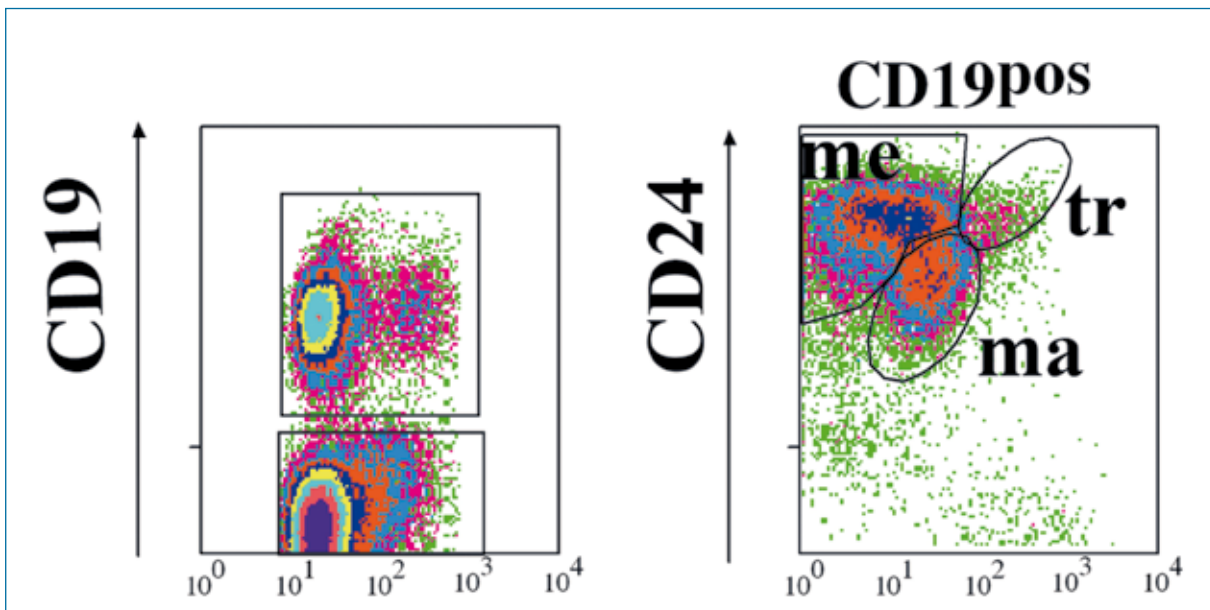


FIG. 1.

Analisi citofluorimetrica dei linfociti B nel sangue periferico. Le cellule sono state colorate con anticorpi diretti contro CD19, CD24 e CD38. Nel pannello di sinistra viene indicata la regione rettangolare che contiene tutte le cellule CD19<sup>pos</sup> e che è stata usata per identificare i linfociti B. Il pannello di destra mostra l'espressione di CD24 e CD38 sui linfociti B. Le regioni indicate contengono rispettivamente le cellule B transizionali (tr), le mature-naive (ma) e le memory (me).

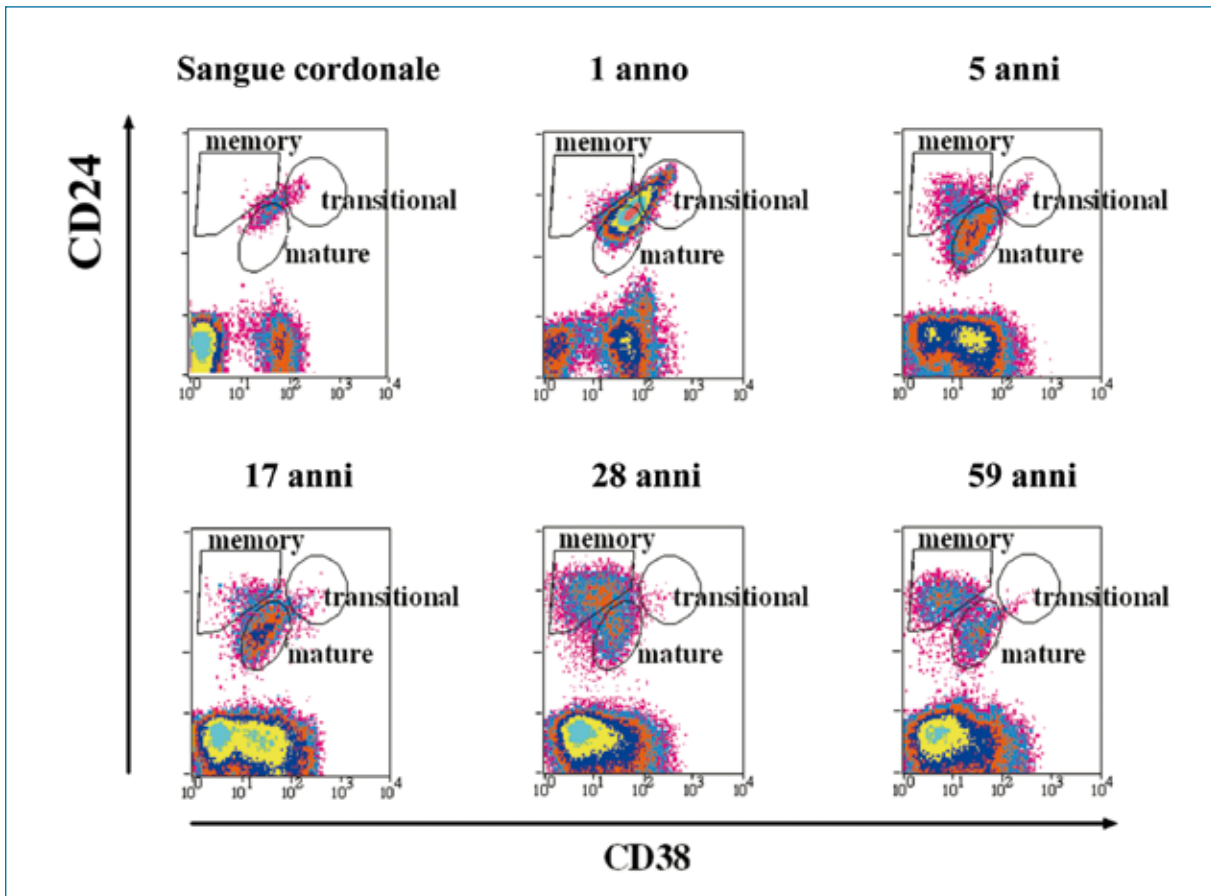


FIG. 2.

Analisi citofluorimetrica del sangue periferico di diversi individui alle età indicate. Il CD24 e il CD38 identificano le diverse popolazioni di linfociti B. Le cellule B della memoria sono assenti alla nascita ed aumentano lentamente con l'età.

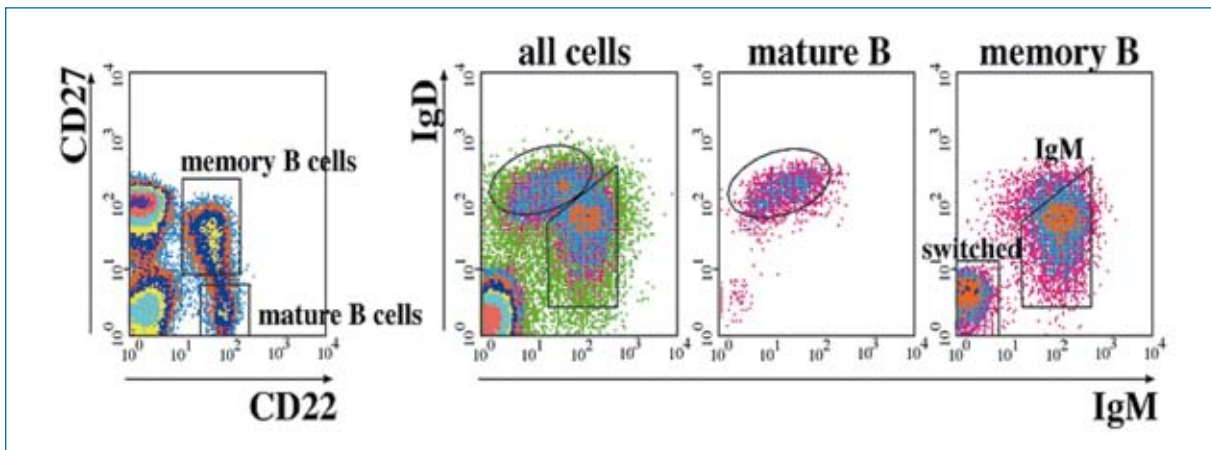


FIG. 3.

Analisi citofluorimetrica delle cellule B della memoria nel sangue dell'adulto. La colorazione è stata fatta usando contemporaneamente quattro anticorpi, anti-CD22, -CD27, -IgM e -IgD. Le cellule B della memoria sono incluse nella regione CD27pos CD22pos. Le cellule che esprimono il CD22, ma non hanno il CD27 sono B mature naive e transizionali (pannello di sinistra). Il pannello centrale mostra la distribuzione di IgM ed IgD sulle cellule CD27neg. Le due popolazioni di cellule B della memoria, IgM memory e switched memory, sono evidenziate nel pannello di destra.

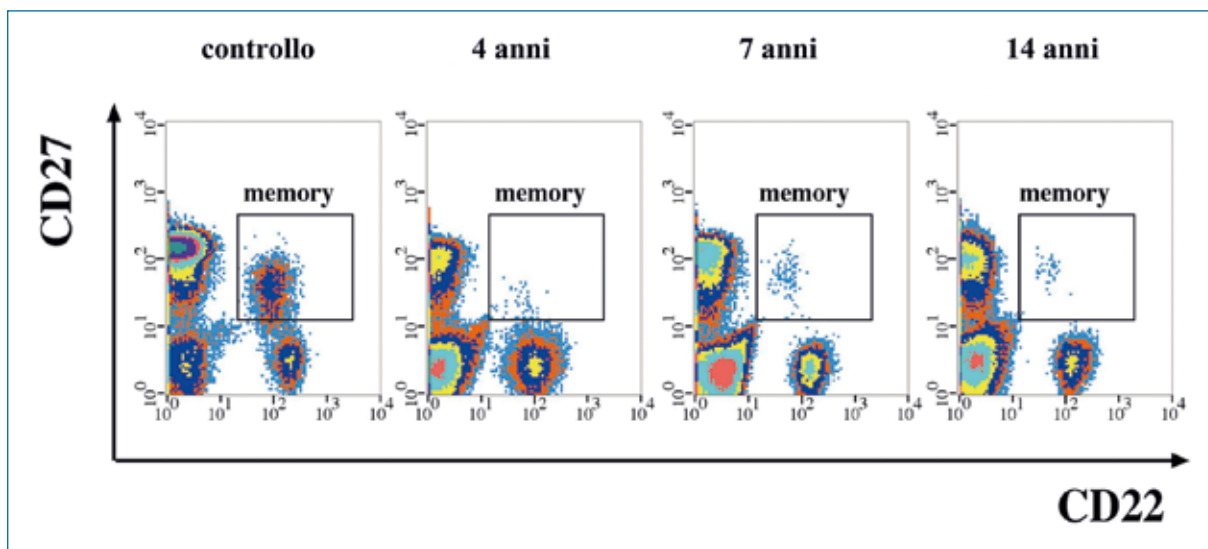


FIG. 4.

Analisi citofluorimetrica dei linfociti B nel sangue periferico di un controllo normale e di tre pazienti splenectomizzati eseguita ai tempi indicati dopo l'intervento. I marker usati sono CD22 e CD27. È evidente la riduzione delle cellule B della memoria.

pazienti splenectomizzati e asplenic (Fig. 4). Poiché l'assenza della milza predispone alle infezioni da pneumococco, le cellule B della memoria sono state studiate in altri gruppi di pazienti che soffrono dello stesso tipo di infezioni. Particolarmente interessante è lo studio dei pazienti affetti da Immunodeficienza Comune Variabile (ICV). Tutti i pazienti con questa sindrome, nonostante la frequenza delle cellule B CD19+ nel sangue periferico possa essere anche normale, non hanno anticorpi nel siero. Per questo il trattamento prevede in tutti i casi la somministrazione di immunoglobuline per via endovenosa o sottocutanea. Le preparazioni contengono anticorpi di tipo IgG ottenuti da individui normali e che quindi rappresentano la memoria immunologica dei donatori stessi. Il trattamento è molto efficace contro la maggioranza delle infezioni, ma non previene le patologie acute e croniche causate dallo pneumococco. Dei pazienti con ICV, solo una parte non soffre da infezioni ricorrenti da pneumococco, mentre nella maggioranza bronchiti e polmoniti ricorrenti portano a bronchiectasie e malattia polmonare cronica. Il confronto (Fig. 5) tra i linfociti B nel sangue periferico dei pazienti con e senza infezioni, dimostra che le cellule B della memoria di tipo switched sono diminuite in tutti i casi, spiegando l'agammaglobulinemia. Le cellule IgM memory invece sono presenti solo nel sangue dei pazienti che non soffrono

da infezioni da *Streptococcus pneumoniae*. Queste osservazioni dimostrano che le IgM memory svolgono un ruolo specifico e indispensabile nella difesa dai batteri capsulati e che la loro funzione non può essere sostituita dalle immunoglobuline di tipo IgG somministrate come terapia sostitutiva. In questa luce è possibile comprendere la predisposizione alle infezioni da pneumococco del neonato. Il bambino non ha cellule della memoria, né di tipo IgM né switched. La funzione di queste ultime è sostituita dagli anticorpi materni, che passano la placenta e che sono di tipo IgG. Non c'è sostituzione per le IgM memory e il bambino sarà predisposto alle infezioni da pneumococco fino a quando non si sarà costruito il suo pool, cosa che avviene normalmente nel secondo anno di vita. Perciò le IgM memory sono un tipo speciale di cellule B, che è specializzato per la difesa contro i batteri capsulati e che ha origine esclusivamente nella milza.

In conclusione (Fig. 6) quando un patogeno cerca di invadere il nostro organismo le cellule B che contribuiscono alla nostra difesa immediata sono quelle della memoria, che mantengono un livello basale di immunoglobuline nel siero e nei tessuti e migrano nei siti di infezione, dove producono anticorpi rapidamente, differenziandosi in plasmacellule. La risposta adattativa, che avviene nel centro germinativo, porta alla produzione di nuove

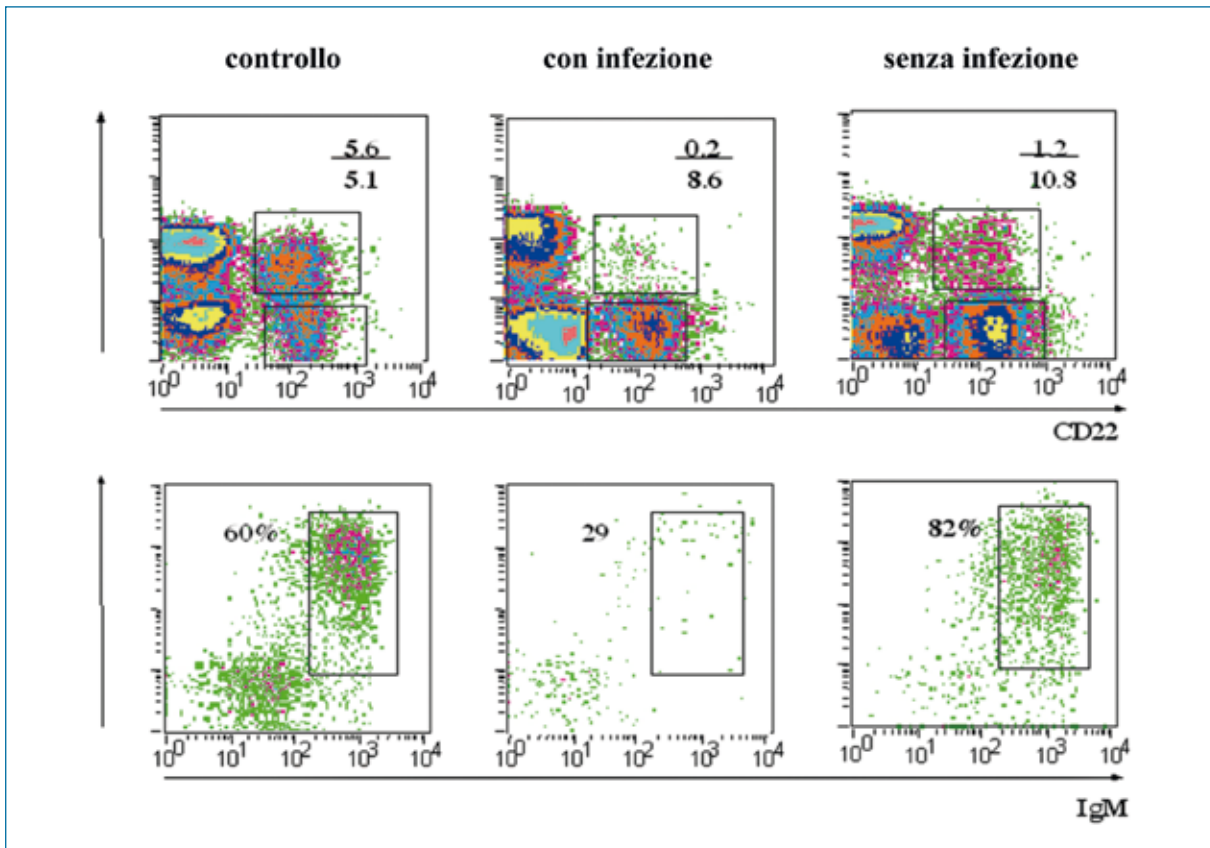


FIG. 5.

Analisi citofluorimetrica del sangue di un controllo normale e due pazienti affetti da ICV, uno con infezioni ricorrenti e bronchiectasie ed uno senza sintomi polmonari. Le cellule del sangue periferico sono state marcate con anticorpi anti-CD22, -CD27, -IgM e -IgD. I pannelli superiori mostrano l'identificazione delle cellule B della memoria. Nei pannelli inferiori vengono mostrate le due popolazioni di cellule B della memoria.

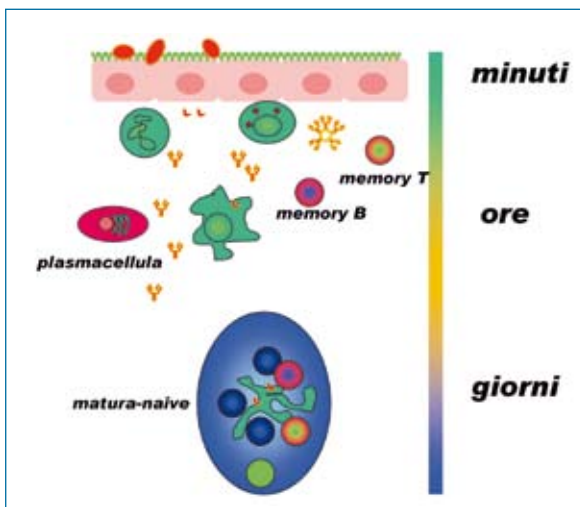


FIG. 6.

Rappresentazione schematica della risposta immunitaria con l'indicazione dei ruoli delle diverse popolazioni di linfociti B e dei tempi richiesti per il loro intervento.

cellule della memoria e plasmacellule, ma richiede una-due settimane di tempo. Questo tempo è necessario perché le cellule mature-naive nel follicolo proliferino, acquistino mutazioni somatiche, vengano selezionate e si differenzino.

## BIBLIOGRAFIA DI RIFERIMENTO

Ochsenbein AF, Zinkernagel RM. *Natural antibodies and complement link innate and acquired immunity*. Immunol Today 2000;21:624-30.

Zinkernagel RM. *On natural and artificial vaccinations*. Annu Rev Immunol 2003;21:515-46.

Carsetti R, Rosado MM, Wardmann H. *Peripheral development of B cells in mouse and man*. Immunological Review 2004;197:179-91.

Carsetti R. *Characterisation of B cell maturation in the peripheral immune system*. Methods in Molecular Biology 2004;271:25-35.

Kruetzmann S, Rosado MM, Weber H, Germing U, Tournilhac O, Peter HH, et al. *Human IgM memory B cells controlling Streptococcus pneumoniae infections are generated in the spleen.* J Exp Med 2003;197:939-45.

Carsetti R, Rosado MM, Donnanno S, Guazzi V, Soresina A, Meini A, et al. *The loss of IgM memory B cells correlates with clinical disease in Common Variable Immunodeficiency.* J Allergy Clin Immunol 2005;115:412-7.

Carsetti R, Pantosti A, Quinti I. *Impairment of the antipolysaccharide response in splenectomized patients is due to the lack of immunoglobulin m memory B cells.* J Infect Dis 2006;193:1189-90.

Weller S, Braun MC, Tan BK, Rosenwald A, Cordier C, Conley ME, et al. *Human blood IgM «memory» B cells are circulating splenic marginal zone B cells harboring a prediversified immunoglobulin repertoire.* Blood 2004;104:3647-54.

Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. *Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies).* Clin Immunol 1999;93:190-7.

Weller S, Faili A, Garcia C, Braun MC, Le Deist FF, de Saint Basile GG, et al. *CD40-CD40L independent Ig gene hypermutation suggests a second B cell diversification pathway in humans.* Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:1166-70.

Moschese V, Carsetti R, Graziani S, Chini L, Soresina AR, La Rocca M, et al. *Memory B-cell subsets as a predictive marker of outcome in hypogammaglobulinemia during infancy.* J Allergy Clin Immunol 2007;120:474-6.

Quinti I, Soresina A, Spadaro G, Martino S, Donnanno S, Agostini C, et al. *Long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with common variable immunodeficiency.* J Clin Immunol 2007;27:308-16.

