

“Immunological Homunculus” ή “Immunculus”: από τη θεωρία στην κλινική πράξη

Θ.Γ. Κωνσταντινίδης
Ιατρός Βιοπαθολόγος

Η διάγνωση των περισσότερων νοσολογικών οντοτήτων στηρίζεται, κατά βάση, σε κλινικά κριτήρια. Η αποτελεσματικότητα, εντούτοις, των θεραπευτικών σχημάτων, που διατίθενται σήμερα, υπαγορεύει την ανάγκη διάγνωσης της νόσου σε πρωιμότερα στάδια, όπου το σύνολο των κλινικών παραμέτρων δεν έχει ακόμα εκδηλωθεί. Σ' αυτό το πλαίσιο, έχει αναζητηθεί και μελετηθεί ένα πλήθος αυτοαντισωμάτων (auto-Ab), που στρέφονται κατά οργανοειδικών και μη οργανοειδικών αντιγόνων. Οι μέθοδοι που έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι τώρα μας δίνουν δυνατότητα για την ανίχνευση μεμονωμένων αυτοαντισωμάτων στον ορό του ασθενούς και όχι σύνολο των κυκλοφορούντων αυτοαντισωμάτων.

Πριν από 100 χρόνια περίπου προτάθηκε από τον Ilya Mechnikov η άποψη ότι το ανοσιακό σύστημα αφενός μας προστατεύει από παθογόνους παράγοντες, π.χ., ιούς, βακτήρια, αφετέρου παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης του οργανισμού. Πολλά σενάρια έχουν προταθεί για την κατανόηση των μηχανισμών με τους οποίους ανοσιακό σύστημα συμμετέχει στη διατήρηση της ομοιόστασης. Ο καθηγητής Cohen IR από το ερευνητικό κέντρο Weizmann Institute, Israel χρησιμοποίησε για πρώτη φορά τον όρο “Immunological Homunculus” (1989), αργότερα ο καθηγητής A. Poletaev από το P.K. Anokhin' Research Institute of Normal Physiology R.A.M.S. ανέπτυξε τη θεωρία “Immunculus” (2003). Σύμφωνα με το “Immunculus”, στον οργανισμό ενός υγιούς ανθρώπου κυκλοφορούν φυσικά αυτοαντισώματα (natural autoantibodies (na-Ab) που στρέφονται κατά των όλων μορίων του οργανισμού που φέρουν αντιγονικούς επίτοπους. Το σύνολο των αυτοαντισωμάτων είναι πολύ σταθερό και οι μεταβολές των αντικατοπτρίζουν τη λειτουργικότητα και

παθοφυσιολογικές μεταβολές στον οργανισμό. Κατά τη γνώμη του A. Poletaev μόνο τα αυτοαντισώματα τάξεως γ (IgG) έχουν τη δυνατότητα να αντικατοπτρίζουν τη λειτουργικότητα των οργάνων (Immunological mirror), γι' αυτό προτείνει να παρακολουθηθούν τα επίπεδά τους για πρόγνωση και πρόληψη των νοσημάτων. Σε αντίθεση με τις ορμόνες τα na-Ab έχουν μεγάλο χρόνο ζωής (λεπτά/ώρες οι πρώτες, βδομάδες/μήνες τα δεύτερα).

Οι θεωρίες “Immunological Homunculus” και “Immunculus” αποτελούν τη βασική υποδομή της μεθόδου ανίχνευσης στον ορό πολλαπλών κυκλοφορούντων αυτοαντισωμάτων.

Σήμερα στα εξής ερευνητικά κέντρα: The Medical Research Center “Immunculus”, Russia, The Weizmann Institute of Science, Israel και The BioRad Laboratories USA γίνονται προσπάθειες ανίχνευσης συστημάτων, που δίνουν τη δυνατότητα να προσδιοριστούν ταυτόχρονα έως και 1.200 αυτοαντισώματα. Τα συστήματα που πέρασαν όλες τις δοκιμασίες και έχουν πάρει έγκριση για διαγνωστική χρήση είναι τα ELI-test complex του ερευνητικού κέντρου Mrc. “Immunculus” Russia.

Η μέθοδος των συστημάτων ELI-test complex βασίζεται στην ανοσοενζυμική τεχνική. Στις ανοσοενζυμικές τεχνικές ο προσδιορισμός της ενζυματικής δράσης του συμπλέγματος αντιγόνου-αντισώματος-ενζύμου μπορεί να γίνει είτε σε ομοιογενή φάση (υγρή) είτε σε ετερογενή φάση (στερεή φάση). Όταν ο προσδιορισμός γίνεται σε ετερογενή φάση, η τεχνική λέγεται ανοσοπροσροφητική μέθοδος με σύνδεση ενζύμου, ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), η οποία αποτελεί τη βάση των συστημάτων ELI-test. Η τεχνική ELI-test complex έχει αποδειχθεί μια γρήγορη και ευαίσθητη μέθοδος ποσοτικής (quan-

titative) ή ημι-ποσοτικής (semi-quantitative) ανίχνευσης φυσικών αυτοαντισωμάτων που στρέφονται κατά των οργανοειδικών αντιγόνων. Είναι σημαντικό να τονιστεί εδώ ότι όχι μόνο η αύξηση του τίτλου, αλλά και η μείωση (Εικ. 1) έχει μεγάλη προγνωστική αξία.

Υπάρχουν οι εξής ομάδες των ELI-test συστημάτων για την ανίχνευση οργανοειδικών αυτοαντισωμάτων:

– ELI-Cardio-Test: στη στερεή φάση προσροφώνται αντιγόνα καρδιοκυττάρων CoM-015-15, CoS-05-40 (membrane myocardial antigens), NO-sυνθετάση και β-αδρενεργικοί υποδοχείς.

– ELI-Nefro-Test: οι πλάκες μικροτιτλοποίησης καλύπτονται με διαλυτά και μεμβρανικά αντιγόνα KiM-05-300, KiM-05-40, KiS-07-120.

– ELI-Neur-Test: ανιχνεύουμε αυτοαντισώματα που στρέφονται κατά της πρωτεΐνης S 100, MBP-myelin basic protein, GFAP-protein of intercurrent astrocytes' filament.

– ELI-Viscero-Test 24 παραμέτρων: προσροφώμενα αντιγόνα είναι τα εξής:

Immune system:	Endothelium: 15. ANCA	Liver: 10. HeS-08	Adrenal gland: 20. Adr-
1. dsDNA	Lungs: 4. LuM-02	11. HMMP	DE/CM-0
2. RF	4. LuM-02	Thyroid gland:	Prostate
3. beta2-GPI	5. LuS-0.6	16. Tg.	gland/spermato
Myocardium:	Kidneys: 6. KiS-07	17. TSH Rec.	zoids:
12. β-Adreno-receptors	7. KiM-05	Pancreatic gland:	21. Spr-06
13. CoM-02	Stomach: 8. GaM-02	18. Insulin	22. S 100
Blood platelets:	Intestinum: 9. ItM-07	19. Insulin receptors	23. GFAP
14. TrM-03			24. MBP

– ELI-Gamma-Test: δίνουν τη δυνατότητα να προσδιορίσουμε στον ορό του ασθενούς τα αυτοαντισώματα που στρέφονται κατά της ιντερφερόνης-γ και των υποδοχέων της.

– ELI-Pulmo-Test: τα προσροφώμενα αντιγόνα είναι τα εξής: LuM-0.1-230, LuS-0.6-300, LuS-0.6-80 (μεμβρανικά αντιγόνα παρεγχύματος πνευμόνων).

– ELI-P (pregnancy)-Complex: λόγω μεγάλης ευαισθησίας και χαμηλού κόστους είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν ως ομαδικές δοκιμασίες (screening test) σε προγράμματα ελέγχου εγκύων γυναικών.

Ο έλεγχος μιας γυναίκας με τα συστήματα ELI-P-Complex πρέπει να γίνει πριν την εγκυμο-

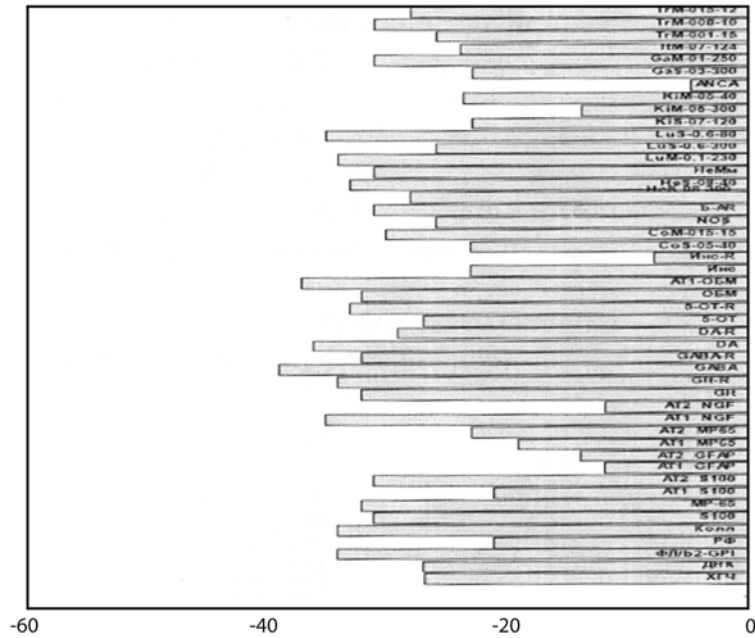
σύνη, στο πρώτο και δεύτερο τρίμηνο. Η μέθοδος μας δίνει δυνατότητα να προσδιορίσουμε αυτοαντισώματα που στρέφονται κατά των πρωτεϊνών S100, MP-65, ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη κ.λπ.

– ELI-Dia-Test: ανιχνεύουμε αυτοαντισώματα που στρέφονται κατά της ινσουλίνης και υποδοχέων της, GFAP (protein of intercurrent astrocytes' filaments).

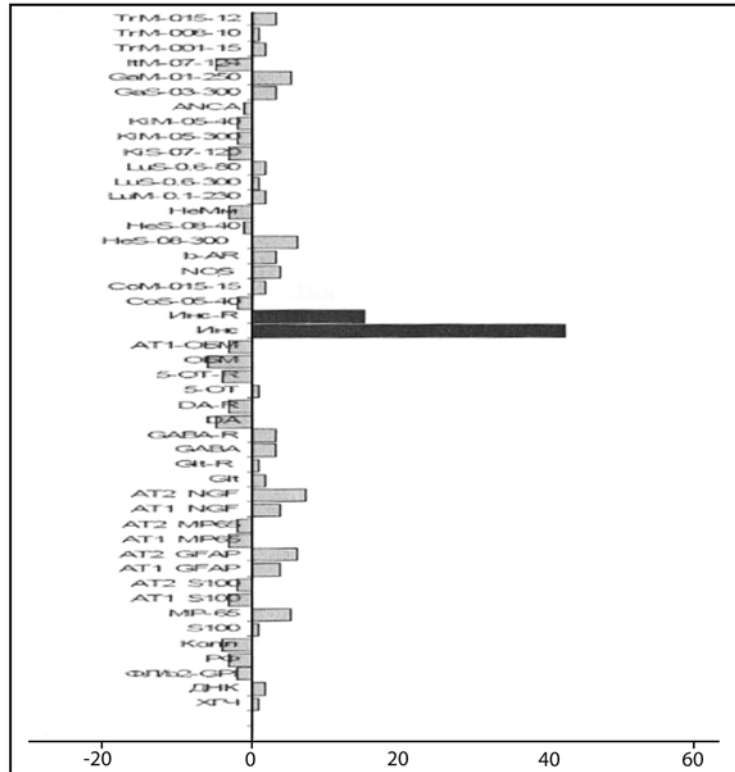
Παθολογικά αυξημένα επίπεδα αυτοαντισωμάτων κατά της ινσουλίνης (Εικ. 2) αντικατοπτρίζουν παθοφυσιολογικές αλλαγές των β-κυττάρων των νησιδίων του Langerhans και παρατηρούνται στον ορό ασθενών με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 (Σ.Δ.). Από την άλλη πλευρά αντισώματα κατά της ινσουλίνης σε φυσιολογικές συνθήκες προστατεύουν την ορμόνη από υδρόλυση, επομένως παθολογικά χαμηλά επίπεδα των αντισωμάτων οδηγούν σε αυξημένη υδρόλυση της ορμόνης με υποϊνσουλιναμία και υπεργλυκαιμία. Το φαινόμενο αυτό συχνά παρατηρείται σε ασθενείς με Σ.Δ. τύπου 2. Επίσης στον ορό των ασθενών με Σ.Δ. 2 ανιχνεύονται αυτοαντισώματα κατά των υποδοχέων της ινσουλίνης. Η παθολογική αύξηση αντισωμάτων κατά της πρωτεΐνης GFAP παρατηρείται στον ορό των ασθενών με διαβητική νευροπάθεια.

Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων αποτελεί σημαντικό σκαλοπάτι εφαρμογής της μεθόδου, απαιτεί γνώσεις και εμπειρία όσο του εργαστηριακού ιατρού τόσο και κλινικού. Πρέπει να τονιστεί ότι καταστάσεις όπως οξεία λοίμωξη (αποστήματα) και σήψη σχετίζονται με γενικευμένη πολυκλωνική αντίδραση β-λεμφοκυττάρων, κατά συνέπεια, τα επίπεδα των αυτοαντισωμάτων αυξάνονται σημαντικά. Σε φάση ανάρρωσης παρατηρείται σταδιακή πτώση συγκέντρωσης των περισσότερων αυτοαντισωμάτων. Σε σπάνιες περιπτώσεις μετά από οξεία λοίμωξη παρατηρείται απότομη πτώση και αρνητικοποίηση των αυτοαντισωμάτων που διαρκεί έως και 4 εβδομάδες. Επομένως σε έναν ασθενή η οξεία λοίμωξη είναι αντένδειξη για προσδιορισμό αυτοαντισωμάτων με τη μέθοδο ELI-test.

Η εξέταση μπορεί να προγραμματιστεί μόνο σε ασθενείς οι οποίοι παραμένουν απύρετοι τις τελευταίες 2 εβδομάδες και πρέπει να επαναληφθεί σε 15-20 ημέρες. Η άμεση επανάληψη της εξέτασης επί αρνητικού αποτελέσματος μετά από δεύτερη εξέταση στα πλαίσια προληπτικού



Εικόνα 1. Ασθενής με γενικευμένη ανοσοκατασταλτική αντίδραση (παρτηρείται σε κακοήθειες τελικού σταδίου).



Εικόνα 2. Ασθενής με επιβαρυσμένο ιστορικό (Σ.Δ. στον συγγενή πρώτου βαθμού).

ελέγχου δεν είναι απαραίτητη (Poletaev).

Στον ορό των ασθενών με κακοήθειες παρατηρείται σημαντική αύξηση auto-Ab κατά των πρωτεϊνών S 100, MBP-myelin basic protein, MP-65. Κατά τη γνώμη του καθηγητή Poletaev η αύξηση αυτή είναι παρανεοπλαστική αντίδραση. Σε κακοήθειες τελικού σταδίου παρατηρείται γενικευμένη ανοσοκαταστολή και αρνητικοποίηση όλων των αυτοαντισωμάτων (Εικ. 1).

Τα αυτοαντισώματα έχουν σημαντική θέση στην πρόληψη, διάγνωση των νοσημάτων σε πρωιμότερα στάδια και επιλογή θεραπευτικών σχημάτων. Σήμερα τα συστήματα ELI-test χρησιμοποιούνται στο Ισραήλ στα πλαίσια ιατρικής εξέτασης των νεοσύλλεκτων του ισραηλινού στρατού (καθηγητής Cohen IR). Τα συστήματα ELI-test έχουν χαμηλό κόστος, είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν ως ομαδικές δοκιμασίες (screening test). Στο 2nd Moscow International Conference "Immunophysiology: Natural Autoimmunity in Physiology and Pathology" στα πλαίσια της αντίληψης ότι "The aim of disease prediction is disease presentation" (καθηγητής Notkins AL) τέθηκε η ερώτηση: ποιο πρέπει να είναι το επόμενο βήμα; Η αναζήτηση και μελέτη καινούριων συστημάτων όπως ELI-complex θα μπορούσε να ενδυναμωθεί με τη συνεργασία όλων των εμπλεκόμενων επιστημόνων ώστε η αλλαγή της κατεύθυνσης από τη διάγνωση και θεραπεία των νοσημάτων προς την πρόγνωση και πρόληψη των νοσημάτων θα μπορούσε να είναι το επόμενο βήμα (Notkins AL).

Βιβλιογραφία

1. Poletaev AB, Stepanyuk VL, Gershwin ME. *Integrating immunity: The immunoculus and self-reactivity*, Journal of Autoimmunity 2008; 30: 68-73.
2. Poletaev A, Osipenko L. *General network of natural autoanti-*

bodies as immunological homunculus (Immunculus). Autoimmun. Rev 2003; 2: 264-271.

3. Poletaev AB, Morozov SG, Kovaliov IE. *The regulatory meta-system (immuno-neuroendocrine regulation of general homeostasis)*. Medicine Publishers, Moscow, 2002.

4. Leslie D, Lipsky P, Notkins AL. *Autoantibodies as predictors of disease*. J Clin Invest 2001; 108: 1417-1422.

5. Notkins AL. *New predictors of diseases*. Sci Am 2007; 296: 72-9.

6. Cohen IR. *Biomarkers, self-antigens and the immunological homunculus*. J. Autoimmun 2007; 29: 246-9.

7. Cohen IR, Young DB. *Autoimmunity, microbial immunity and the immunological homunculus*. Immunol Today 1991; 12: 105-110.

8. Schwartz M, Cohen IR. *Autoimmunity can benefit self-maintenance*. Immunol Today 2000; 21: 265-268.

9. Quintana FJ, Cohen IR. *The natural autoantibody repertoire and autoimmune disease*. Biomed Pharmacother 2004; 58: 276-281.

10. Shoenfeld Y. *The idiotypic network in autoimmunity: antibodies that bind antibodies and bind antibodies*. Nat Med 2004; 10(1): 17-8.

11. Marai I, Carp H, Shai S, Shabo R, Fishman G, Shoenfeld Y. *Autoantibody panel screening in recurrent miscarriages*. Am J Reprod Immunol 2004; 51: 235-240.

12. Shoenfeld Y, Carp HJ, Molina V, Blank M, Cervera R, Balasch J, Tincani A, Faden D, Lojaco A, Doria A, Konova E, Meroni PL. *Autoantibodies and prediction of reproductive failure*. Am J Reprod Immunol 2006; 56: 337-344.

13. Williams Jr RC. *Autoimmune disease etiology e a perplexing paradox or a turning leaf?* Autoimmun. Rev 2007; 6: 204-8.

14. Tauber AI. *The immunological self. A centenary perspective*. Perspect Biol Med 1991; 35: 74-86.

15. Nobrega A, Hauray M, Grandien A, et al. *Global analysis of antibody repertoires. II. Evidence for specificity, self-selection and the immunological "Homunculus" of antibodies in normal serum*. Eur J Immunol 1993; 23: 2851-2859.

16. Lutz HU. *Homeostatic roles of naturally occurring antibodies: an overview*. J Autoimmun 2007; 29: 287-94.

17. Lacroix-Desmazes S, Kaveri SV, Mouthon L, Ayoub A, Malanchere E, Coutinho A, Kazatchkine MD. *Self-reactive natural autoantibodies in healthy individuals*. J Immunol Methods 1998; 216: 117-137.

18. Poletaev AB. *Elevated serum immunoreactivity to S-100 protein in healthy mothers and their sick children: possible significance in inborn psychoneuropathology*. Dev Brain Dysfunct 1996; 9: 17-21.

19. Shoenfeld Y, Isenberg DA. *Natural Autoantibodies: Their Physiological role and regulatory significance*. CRC Press, Boca Raton, FL, 1993.

20. Cohen AD, Shoenfeld Y. *The viral autoimmunity relationship*. Viral Immunol 1995; 8: 1.

Πᾶν τὸ πολὺ τῆ φύσει πολέμιον

Το υπερβολικό είναι εχθρικό στη φύση

Ιπποκράτης