

ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ HISTORY OF MEDICINE

Η Ανοσολογία χθες – σήμερα – αύριο Μια σύντομη αναδρομή στην εξέλιξη της Ανοσολογίας

Περιγράφεται συνοπτικά η ιστορία της Ανοσολογίας από το 1798, όταν ο Jenner ανέπτυξε το εμβόλιο της ευλογιάς, έως σήμερα με έμφαση στις ανακαλύψεις που αποτέλεσαν σταθμούς για την εξέλιξη αυτού του κλάδου της επιστήμης. Κατά το 2ο μισό του 20ού αιώνα σημειώθηκε μια πραγματική έκρηξη στην έρευνα, που συνετέλεσε στην κατανόηση των μηχανισμών λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς και στην κλινική διάγνωση και θεραπεία νοσημάτων με ανοσολογικούς χαρακτήρες. Οι κυριότεροι σταθμοί σε αυτή την εξέλιξη ήταν η ανακάλυψη της δομής και της λειτουργίας των αντισωμάτων, της σημασίας του θύμου για τη διαφοροποίηση των Τ-κυττάρων και την εξασφάλιση της ανοχής στο «ίδιο», καθώς και του μηχανισμού των αναδιατάξεων των γονιδίων των Igs και TCR που παράγουν το τεράστιο ρεπερτόριο αναγνώρισης των αντιγόνων, η ανακάλυψη και οι εφαρμογές των μονοκλωνικών αντισωμάτων. Επίσης, τονίζεται η σημασία του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας, που χαρακτηρίζεται από τεράστιο πολυμορφισμό και διαδραματίζει κύριο ρόλο όχι μόνο με την έκφραση των αντιγόνων μεταμόσχευσης, αλλά και στην αναγνώριση του «ιδίου» και τη ρύθμιση της ανοσοαπάντησης. Η εκδήλωση αυτοάνοσων νοσημάτων αποδίδεται σήμερα σε έναν ειδικό συνδυασμό γενετικών, ανοσολογικών, ορμονικών και περιβαλλοντικών παραγόντων που αποτελούν ακόμη αντικείμενο έρευνας. Αναμένεται ότι οι γνώσεις από πειραματικά ζωικά μοντέλα θα βοηθήσουν στην εφαρμογή θεραπευτικών ανοσοπαρεμβάσεων. Τέλος, γίνεται αναφορά στα επιτεύγματα της ανοσογενετικής, τα οποία έχουν συντελέσει και στην αναγνώριση μεγάλου αριθμού γονιδιακών διαταραχών που οδηγούν στην εκδήλωση συνδρόμων πρωτοπαθών ανοσοανεπαρκειών, καθώς και στις μελλοντικές προοπτικές που αφορούν στις εφαρμογές της ανοσογονιδιοματικής και μιας σφαιρικής γονιδιοματικής και πρωτεωμικής ανάλυσης στο πλαίσιο της «Ανοσολογίας συστημάτων».

1. ΤΑ ΠΡΩΤΑ ΒΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ

Αν ανατρέξει κάποιος στο βάθος των αιώνων θα διαπιστώσει ότι η έννοια της ανοσίας υπήρχε από παλιά: Όταν είχε παρατηρηθεί ότι, όποιος είχε αναρρώσει από μια λοιμώδη νόσο, συνήθως δεν προσβαλλόταν και πάλι από την ίδια νόσο.¹ Η σύγχρονη όμως έννοια της ανοσίας αρχίζει να γίνεται αντιληπτή όταν το 1798 ο Jenner ανέπτυξε για πρώτη φορά το εμβόλιο κατά της ευλογιάς.² Στη συνέχεια, ακολούθησε μια συμβιωτική σχέση της Ανοσολογίας με τη Μικροβιολογία, που άνθισε κατά το τέλος του 19ου και τις αρχές του 20ού αιώνα. Έτσι, εξαπλώθηκε η πρακτική της ενεργητικής ανοσοποίησης με την ένεση εξασθενημένων μικροβίων ή των τοξινών τους και η παθητική ανοσοποίηση με την ένεση ορού που περιείχε αντισώματα. Τα εν

λόγω επιτεύγματα οδήγησαν στην απονομή βραβείων Nobel στον E. von Behring (1901) για τις εφαρμογές της οροθεραπείας (αντιτοξίνες), στον R. Koch (1905) για την περιγραφή των αντιδράσεων επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας και στον P. Ehrlich (1908) για τις εργασίες του στους μηχανισμούς της ανοσίας και τη θεωρία των πλευρικών αλύσεων παραγωγής αντισωμάτων (εικ. 1). Στο τέλος του 19ου αιώνα, ο Metchnikoff με τη μελέτη της λειτουργίας των φαγοκυττάρων συνέδεσε την Ανοσολογία με την κυτταρική Βιολογία και ουσιαστικά ανακάλυψε τη «φυσική ανοσία». Το 1908 τιμήθηκε με το βραβείο Nobel για το επιστημονικό αυτό έργο. Σημαντικές ήταν επίσης οι εργασίες του Pasteur για το εμβόλιο της λύσσας, της χολέρας και του άνθρακα, καθώς και του Landsteiner (1900)

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2011, 28(3):403-414
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2011, 28(3):403-414

I. Οικονομίδου

Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα

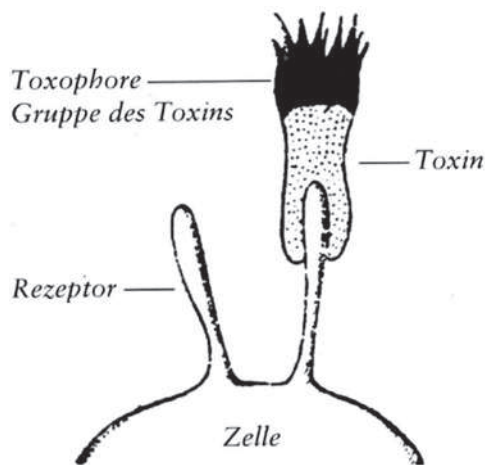
Immunology: Past, present and future. A retrospective of the evolution of immunology

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Ιστορία
Εξέλιξη της Ανοσολογίας

Υποβλήθηκε 1.6.2010
Εγκρίθηκε 14.6.2010



Εικόνα 1. Σχηματική παράσταση των υποδοχέων που περιγράφονται στη θεωρία των πλευρικών αλύσεων του Ehrlich.

για την αναγνώριση των αντιγόνων και των αντισωμάτων των ομάδων αίματος.

Λίγο αργότερα, διαπιστώθηκε ότι ορισμένα αντισώματα μπορεί να είναι βλαπτικά για τον οργανισμό και διατυπώθηκε η έννοια της αναφυλαξίας από τον Richet (βραβείο Nobel 1913). Το 1919, ο Bordet τιμήθηκε επίσης με βραβείο Nobel για την ανακάλυψη των ιδιοτήτων του συμπληρώματος, ενός παράγοντα του ορού που ενισχύει τη δράση των αντισωμάτων.

2. ΑΝΤΙΓΟΝΑ-ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ – Η ΧΥΜΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ

Προς το τέλος του πρώτου μισού του 20ού αιώνα άρχισαν να αναπτύσσονται ορισμένες καθαρά ανοσολογικές τεχνικές, οι οποίες αποτέλεσαν τον πρόδρομο για τη μεγάλη έκρηξη στο πεδίο της Ανοσολογίας που εμφανίστηκε στο δεύτερο μισό του 20ού αιώνα και έθεσε τις βάσεις της Ανοσοβιολογίας και της κλινικής Ανοσολογίας, όπως γίνονται αντιληπτές σήμερα. Οι κυριότερες ήταν η ηλεκτροφόρηση λευκωμάτων, που διαχώρισε το κλάσμα της γ-σφαιρίνης του ορού, το οποίο περιέχει τα αντισώματα (Tiselius, 1938), ο ανοσοφθορισμός (Coombs, 1942), η τόσο σημαντική για την Ανοσοαιματολογία αντίδραση Coombs (Coombs, 1945) και η ανοσοδιάχυση σε γέλη (Ouchterloney, 1947).

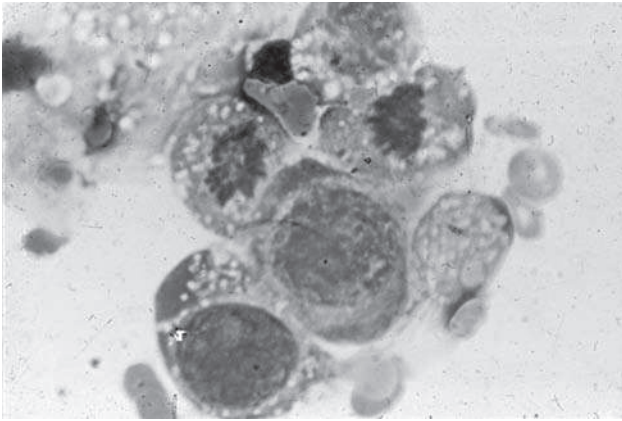
Οι πρώτες εφαρμογές των συγκεκριμένων τεχνικών ήταν ιδιαίτερα σημαντικές. Με βάση την ηλεκτροφορητική ανάλυση του ορού τέθηκε η διάγνωση της αγαμμασφαιριναιμίας από τον Bruton το 1952.³ Η ανακάλυψη αυτή θεωρείται ακρογωνιαίος λίθος για την κατανόηση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος και έκτοτε οι πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες αναγνωρίστηκαν ως «πειράματα της φύσης» που συμβάλλουν στη μελέτη των

ανοσολογικών μηχανισμών. Η εφαρμογή του ανοσοφθορισμού απέδειξε ότι τα πλασματοκύτταρα είναι τα κύτταρα που παράγουν τα αντισώματα, ενώ με την αντίδραση Coombs διαγνώστηκε η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία και άρχισε να επιβεβαιώνεται εργαστηριακά η κλινική έννοια της αυτοανοσίας. Η ανάπτυξη των μεθόδων ανοσοδιάχυσης οδήγησε στην εφαρμογή της ανοσοηλεκτροφόρησης από τους Grabbar και Willams (1953), που επέτρεψε την αναγνώριση των κλασμάτων των ανοσοσφαιρινών (Ig), της IgG (γG), της IgA (β2A), που συντίθεται κυρίως στο γαστρεντερικό σύστημα, και της IgM (β2M). Αργότερα, η μελέτη των μυελωματικών πρωτεϊνών επέτρεψε την αναγνώριση δύο ακόμη τάξεων αντισωμάτων, της IgD (Rowe και Fahey, 1965) και της IgE (Johansson και Bennich, 1967).⁴ Παράλληλη ήταν η μελέτη της χημικής δομής των αντισωμάτων. Το 1953, ο Porter έδειξε ότι οι θέσεις σύνδεσης του αντιγόνου στο μόριο των αντισωμάτων μπορούσαν να διαχωριστούν από τις βιολογικά δραστικές θέσεις που συνδέουν το συμπλήρωμα⁵ και λίγο αργότερα ο Edelman περιέγραφε τις τέσσερις αλυσίδες (δύο βαριές και δύο ελαφρές) που αποτελούν το μόριο των αντισωμάτων.⁶ Για την ανακάλυψή τους αυτή, οι δύο ερευνητές τιμήθηκαν με το βραβείο Nobel το 1972.

3. Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΘΥΜΟΥ – ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ

Εάν στην πρώτη φάση της ανάπτυξης της Ανοσολογίας επικρατούσαν κυρίως οι μελέτες των αντιδράσεων αντιγόνου-αντισώματος, σε μια δεύτερη φάση, αρχίζοντας από τη δεκαετία του 1960, τέθηκαν οι βάσεις της κυτταρικής ανοσίας.⁷ Εντυπωσιακές ήταν οι θεωρητικές απόψεις του Sir Macfarlane Burnet, ο οποίος διατύπωσε τη θεωρία επιλογής των κλώνων για την ερμηνεία της επίκτητης ανοσίας, δηλαδή ότι για κάθε αντιγόνο προϋπάρχουν κλώνοι κυττάρων που φέρουν υποδοχείς, οι οποίοι αναγνωρίζουν το αντιγόνο.^{8,9} Η οριστική επιβεβαίωση του σχετικού φαινομένου εξασφάλισε για τον Burnet το βραβείο Nobel το 1960.¹⁰

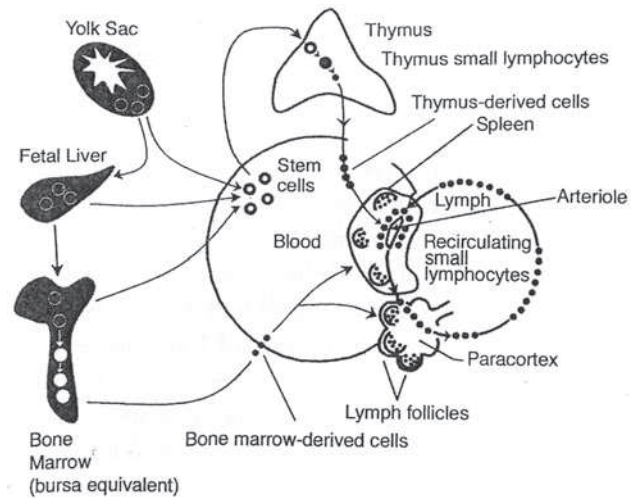
Κύριο ρόλο στη δεύτερη άνθιση της Ανοσολογίας διαδραμάτισε η ανακάλυψη του ρόλου του θύμου και του μικρού λεμφοκυττάρου στις ανοσιακές απαντήσεις. Από μια τυχαία παρατήρηση διαπιστώθηκε ότι το θεωρούμενο έως τότε ήρεμο μικρό λεμφοκύτταρο, υπό την επίδραση ενός μιτογόνου, της φυτοαιμοσυγκολλητίνης (PHA), υφίσταται μια βλαστική μεταμόρφωση και οδηγείται σε διαίρεση και πολλαπλασιασμό αποκτώντας θυγατρικά λεμφοκύτταρα¹¹ (εικ. 2). Η ίδια διαδικασία αποδείχθηκε ότι επιτυγχάνεται και μετά από διέγερση με ποικίλα αντιγόνα. Ο Miller, το 1961,¹² με βάση πειράματα θυμεκτομής σε νεογνά ποντίκια αναγνώρισε το ρόλο του θύμου στην ανάπτυξη του ανοσι-



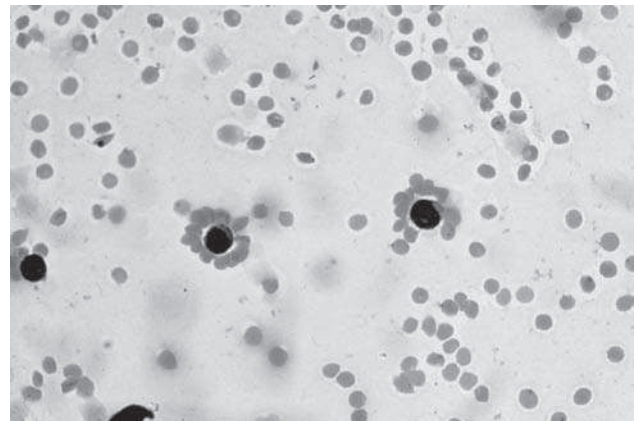
Εικόνα 2. Βλαστική μεταμόρφωση λεμφοκυττάρων υπό την επίδραση της PHA σε κυτταροκαλλιέργειες *in vitro*.

ακού συστήματος. Στη συνέχεια, το ρόλο αυτόν του θύμου επιβεβαίωσαν τα πειράματα του Good (1962) σε κουνέλια και ποντίκια,¹³ ενώ το 1968 ο DiGeorge¹⁴ περιέγραψε τις συνέπειες του ανοσιακού ελλείμματος που χαρακτηρίζει τη συγγενή έλλειψη του θύμου στον άνθρωπο (σύνδρομο DiGeorge). Η μελέτη των πρωτοπαθών ανοσοανεπαρκειών, όπως της Χ-φυλοσύνδετης αγαμμασφαιριναιμίας του Bruton και του συνδρόμου DiGeorge, που θεωρήθηκαν από τον Good ως πειράματα της φύσης,¹⁵ μαζί με τα πειραματικά μοντέλα σε ζώα, έδειξαν ότι υπάρχουν δύο διαφορετικά ανοσοποιητικά συστήματα στον άνθρωπο. Ο πληθυσμός των λεμφοειδών κυττάρων, η διαφοροποίηση των οποίων εξαρτάται από το θύμο ονομάστηκαν Τ-κύτταρα και διαχωρίστηκαν από τα Β-κύτταρα, που παράγουν αντισώματα και διαφοροποιούνται στα πτηνά στο θύλακο (Bursa) Fabricius, όπως έδειξαν οι Cooper et al το 1965,¹⁶ ενώ στον άνθρωπο διαφοροποιούνται στο μυελό των οστών (εικ. 3). Έτσι, διατυπώθηκαν οι έννοιες της κυτταρικής και της χυμικής ανοσίας πριν ακόμη τυποποιηθούν οι αντίστοιχες κυτταρικές σειρές. Χάρη στις πρωτοποριακές εργασίες του Miller, επιβεβαιώθηκε επίσης το παράδοξο ότι για την παραγωγή αντισώματος από τα Β-κύτταρα ήταν αναγκαία η συνεργασία τους με τα Τ-κύτταρα.¹⁷

Στη συνέχεια, αναπτύχθηκαν μέθοδοι για την αναγνώριση και τη μέτρηση αυτών των κυττάρων: Ο ανοσοφθορισμός για την ανίχνευση των ανοσοσφαιρινών επιφανείας των Β-κυττάρων και ο αυτόματος σχηματισμός ροδάκων με τα ερυθρά αιμοσφαίρια προβάτου, που είναι ιδιότητα των Τ-κυττάρων (εικ. 4). Η ομάδα του Coops, με τη χρήση του ανοσοφθορισμού, έδειξε ότι τα ωριμάζοντα πλασματοκύτταρα περιείχαν μεγαλύτερη ποσότητα αντισώματος,¹⁸ ενώ ο Nossal μπόρεσε να ανιχνεύσει την παραγωγή αντισώματος από μεμονωμένα κύτταρα *in vitro*.¹⁹ Έτσι, αποδείχθηκε ότι τα πλασματοκύτταρα είναι οι ώριμοι εκπρόσωποι της



Εικόνα 3. Διάγραμμα που εμφανίζει την ανάπτυξη και τη μετανάστευση των λεμφοειδών κυττάρων, όπως περιγράφονταν στο τέλος της δεκαετίας του 1960, όταν είχε αναγνωριστεί ότι ο μυελός των οστών ήταν στα θηλαστικά το ισοδύναμο του θύλακου Fabricius των πτηνών.



Εικόνα 4. Μέτρηση των Τ-κυττάρων με τη μέθοδο αυτόματου σχηματισμού ροδάκων με ερυθρά προβάτου.

σειράς των Β-κυττάρων.

4. ΤΑ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Η ανακάλυψη των μονοκλωνικών αντισωμάτων (MA) από τους Milstein και Kohler το 1975²⁰ θεωρείται μνημειακός σταθμός για την Ανοσολογία, καθώς σε συνδυασμό με την ανάπτυξη της κυτταρομετρίας ροής παρείχε τη δυνατότητα αφ' ενός της ανίχνευσης και αφ' ετέρου της μέτρησης των λειτουργικών υποδοχέων επιφανείας των αιμοποιητικών και άλλων κυττάρων. Για την αξία και τις γενικότερες εφαρμογές αυτής της ανακάλυψης, που προσέφερε ένα ευρύ φάσμα πειραματικών και θεραπευτικών κλινικών ανοσοπαρεμβάσεων, οι δύο ερευνητές τιμήθη-

καν με το βραβείο Nobel Ιατρικής το 1984. Οι ερευνητές, εφαρμόζοντας *in vitro* τεχνικές, μπόρεσαν να συντήξουν «αθάνατα», μη εκκριτικά μυελωματικά κύτταρα με άνοσα Β-κύτταρα για την παραγωγή υβριδωμάτων ικανών να παράγουν μαζικά μονοκλωνικά αντισώματα μιας συγκεκριμένης και προσδιοριζόμενης ειδικότητας. Το βραβείο αυτό το μοιράστηκαν με τον Jerne «για τις θεωρίες που αφορούν στην ειδικότητα, στην ανάπτυξη και στον έλεγχο του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς και στην ανακάλυψη παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων *in vitro*». Ο Jerne με τη «θεωρία δικτύου» πρότεινε ότι κάθε μόριο αντισώματος φέρει μια ειδική θέση, τον ιδιότυπο, που μπορεί να δράσει ως αντιγόνο και να παράγει αντι-ιδιοτυπικό αντίσωμα. Το πολύπλοκο δίκτυο ιδιοτύπων-αντι-ιδιοτύπων δρα ρυθμιστικά για το ανοσοποιητικό σύστημα.²⁷

Σε πρακτικό επίπεδο, οι ανοσολόγοι άρχισαν να παράγουν μονοκλωνικά αντισώματα έναντι αντιγόνων των T- και των B-κυττάρων που χρησίμευσαν για την ανάλυση των οδών διαφοροποίησης των συγκεκριμένων κυττάρων και την αναγνώριση των διαφόρων σταδίων διαφοροποίησής τους στο θύμο και το μυελό των οστών, αντίστοιχα. Η αναγνώριση των βοηθητικών CD4+ και των κυτταροτοξικών CD8+ T-κυττάρων, καθώς και των κυτταροκινών που παράγονται από τα T- και τα B-κύτταρα, διαδραμάτισαν τεράστιο ρόλο στην κατανόηση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος σε ό,τι αφορά στην ανοσιακή απάντηση. Για την αντιμετώπιση της σύγχυσης που δημιουργήθηκε από την πληθώρα αυτών των MA οργανώθηκαν διεθνείς συναντήσεις εργασίας (workshops) για την ταξινόμηση των αντιγόνων διαφοροποίησης των λευκοκυττάρων του ανθρώπου με βάση την ειδικότητα των MA. Στο πρώτο, που έγινε το 1982 στο Παρίσι, καθιερώθηκε η ονοματολογία CD (cluster differentiation) και καθορίστηκαν τα πρώτα 15 CDs.²² Το τελευταίο, 8ο Workshop, που διεξήχθη στην Αδελαΐδα το 2004, περιέλαβε την αναγνώριση και την τυποποίηση 339 συνολικά κυτταρικών αντιγόνων σε ταξινόμηση CD, καθώς η διάκριση των CDs δεν περιορίζεται πλέον στα επιφανειακά αντιγόνα διαφοροποίησης των λευκοκυττάρων αλλά περιλαμβάνει γενικότερα μόρια διαφοροποίησης των κυττάρων του ανθρώπου.²³

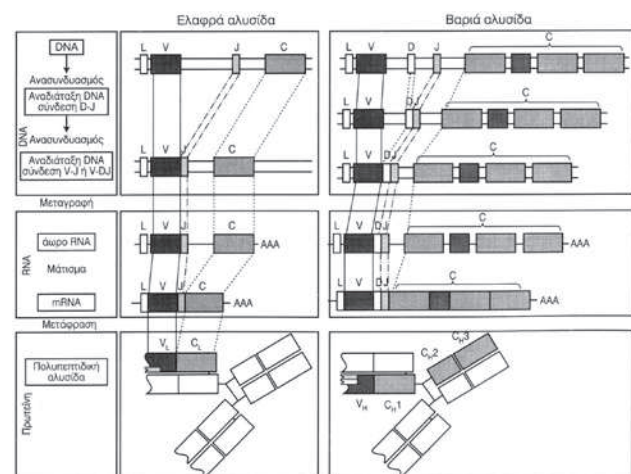
5. Η ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΩΝ IGS ΚΑΙ ΤΟΥ TCR

Επί πολλά χρόνια, από την εποχή ακόμη του Ehrlich, τους ερευνητές απασχολούσε η αναζήτηση του μηχανισμού παραγωγής της ειδικότητας των αντισωμάτων, η ικανότητα τους δηλαδή να αναγνωρίζουν έναν τεράστιο αριθμό αντιγονικών επιτόπων, χωρίς να έχουν έλθει μάλιστα σε επαφή μαζί τους. Την απάντηση σε αυτό το ερώτημα έδωσε το

1978 ο Tonegawa,^{24,25} με τη μελέτη που αφορούσε στους μηχανισμούς ανασυνδυασμού των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών, για την οποία έλαβε βραβείο Nobel το 1987.

Η μελέτη της αλληλουχίας των αμινοξέων στις αλυσίδες του μορίου των ανοσοσφαιρινών έδειξε ότι υπάρχουν ξεχωριστές οικογένειες γονιδίων για τις ελαφρές αλυσίδες (L) κ ή λ, καθώς και για τις βαριές αλυσίδες (H) που κωδικοποιούν το μόριο της ανοσοσφαιρίνης. Οι αλυσίδες αυτές αποτελούνται από μια μεταβλητή (V) και μια σταθερή περιοχή (C). Οι μεταβλητές περιοχές έχουν θέσεις ακραίας υπερμεταβλητότητας στην ακολουθία των αμινοξέων και οι συγκεκριμένες περιοχές προσδίδουν το τεράστιο ρεπερτόριο ειδικών υποδοχέων για τη σύνδεση των ποικίλων αντιγόνων. Πρόκειται για περισσότερα των 10⁸ μορίων ανοσοσφαιρίνης με συγκεκριμένη ειδικότητα. Αυτή η ποικιλότητα επιτυγχάνεται σε γονιδιακό επίπεδο με την τυχαία επιλογή ενός εκάστοτε από μια σειρά γονιδίων της V (variable), D (diversity) και J (joining) περιοχής και σωματική αναδιάταξη ενός V(D)J συμπλέγματος που συνδέεται με γονίδιο της C (constant) περιοχής (εικ. 5). Ο μεγάλος λοιπόν αριθμός των γονιδίων VH, DH, JH και VL, JL, η δυνατότητα πολλών συνδυασμών τους, καθώς και η ύπαρξη και άλλων συμπληρωματικών μηχανισμών, ερμηνεύουν την τεράστια ποικιλία των παραγομένων μορίων ανοσοσφαιρίνης.

Η αποκάλυψη του αντίστοιχου υποδοχέα των T-κυττάρων αναγνώρισης των αντιγόνων ήταν πολύ δυσκολότερη καθώς αυτά δεν παράγουν αντισώματα, όπως τα B-κύτταρα. Η πιο πιθανή πρόβλεψη –που αποδείχθηκε και ορθή– ήταν ότι ο υποδοχέας αυτός θα είχε μια δομή αντίστοιχη με εκείνη των αντισωμάτων για την πρόσδεση του αντιγόνου.²⁶



Εικόνα 5. Σχηματική παράσταση της αναδιάταξης των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών που οδηγεί στη σύνθεση των Igs (τροποποιημένη από Janeway's Immunology, 2007).

Πράγματι, ο υποδοχέας TCR (T cell receptor) αποτελείται από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες α και β (ή σπανιότερα γ και δ), που συνδέονται ως μοριακό σύμπλεγμα με τα μονομορφικά τμήματα του μορίου CD3. Οι αλυσίδες α, β και γ, δ του TCR αποτελούνται επίσης από μια μεταβλητή V και μια σταθερή C περιοχή. Σε γονιδιακό επίπεδο, υπάρχουν 100 διαφορετικά Va και 50 περίπου διαφορετικά Vβ γονίδια. Οι συνδυασμοί αυτοί μαζί με άλλους πρόσθετους συνδυασμούς κατά τις V(D)J αναδιατάξεις εξασφαλίζουν ένα φάσμα ειδικής αναγνώρισης αντιγόνων της τάξης του 10^9 . Η απομόνωση του TCR έγινε από τους Haskins et al το 1983,²⁷ ενώ το 1984 οι Davis et al περιέγραψαν τα γονίδια του TCR.²⁸

Επομένως, σε γονιδιακό επίπεδο, η τεράστια ποικιλία των υποδοχέων των B- και των T-κυττάρων παράγεται κατά τη διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων στα άωρα προγονικά τους κύτταρα, ανεξάρτητα από την επίδραση των αντιγόνων. Τόσο για τις Igs όσο και για τον TCR γίνεται μια τυχαία επιλογή από μια σειρά V, D, J γονιδίων και σωματική αναδιάταξη ενός εκάστοτε V(D)J συμπλέγματος υπό την επίδραση δύο ενζύμων, της ρεκομπινάσης RAG-1 και RAG-2. Σήμερα, μελετώνται σε βάθος οι πολύπλοκοι μοριακοί μηχανισμοί που οδηγούν στη V(D)J αναδιάταξη.²⁹

6. ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑΣ ΤΟΥ MHC

Στο δεύτερο μισό του 20ού αιώνα σημειώθηκαν και άλλες σπουδαίες ανακαλύψεις, οι οποίες έθεσαν τις βάσεις για την εφαρμογή, σε ευρεία κλίμακα, των μεταμοσχεύσεων. Η ανακάλυψη των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας HLA (human leukocyte antigens) και του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας MHC (major histocompatibility complex) έλαβε χώρα τη δεκαετία του 1950 με την ανίχνευση σε ορούς πολυτόκων γυναικών και πολυμεταγαγισμένων ατόμων αντισωμάτων έναντι αντιγόνων των λεμφοκυττάρων. Οι οροί αυτοί, και κυρίως οι οροί των πολυτόκων γυναικών που ήταν λιγότερο πολυειδικοί, μπόρεσαν να χρησιμοποιηθούν για την τυποποίηση των HLA αντιγόνων στα λευκοκύτταρα του περιφερικού αίματος. Τα συγκεκριμένα αντισώματα με την ιδιότητα της κυτταροτοξικότητας κατέστρεφαν τα λευκοκύτταρα άλλων ατόμων αλλά όχι του ξενιστή. Η βασική αυτή μελέτη έγινε από τον Dausset,³⁰ ο οποίος προσδιόρισε το πρώτο λευκοκυτταρικό ισοαντιγόνο MAC το 1958.³¹ Λόγω της σημασίας της σχετικής ανακάλυψης, ο Dausset έλαβε το 1980 βραβείο Nobel.³²

Δεν πρέπει να λησμονείται πως, σε ό,τι αφορά στις μεταμοσχεύσεις, από το 1944 είχαν προηγηθεί τα πειράματα με τα δερματικά μοσχεύματα του Sir Peter Medawar, γεγονός που είχε δείξει ότι η ενδοδερμική έγχυση λευκο-

κυττάρων σε κουνέλια μπορούσε να ευαισθητοποιήσει το δέρμα για απόρριψη επακόλουθου δερματικού μοσχεύματος.³³ Τα λεπτομερή πειράματα μεταμόσχευσης δέρματος του Medawar επιβεβαίωσαν την ανοσολογική φύση της απόρριψης των μοσχευμάτων.³⁴ Για τις πρωτοποριακές αυτές εργασίες αναφορικά με τα ιστικά μοσχεύματα απονεμήθηκε στον Medawar το βραβείο Nobel Ιατρικής το 1960.³⁵ Επίσης, πρέπει να σημειωθεί η μεγάλη συμβολή για την κατανόηση των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας του ανθρώπου ερευνητών που μελετούσαν το σύστημα ιστοσυμβατότητας του ποντικού H-2 σε καθαρά στελέχη ποντικών, όπως του Snell,³⁶ που τιμήθηκε μαζί με τον J. Dausset το 1980 με το βραβείο Nobel.³⁷

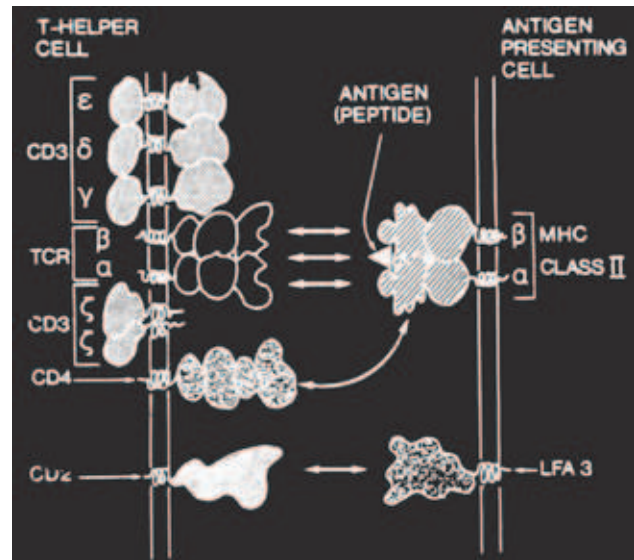
Αργότερα, έγινε η αναγνώριση στο χρωμόσωμα 6 της περιοχής που φέρει τους γενετικούς τόπους για την κωδικοποίηση των μορίων HLA, τα οποία εκφράζονται στην επιφάνεια των κυττάρων,³⁸ ενώ άρχισε να γίνεται η ανάλυση του εξαιρετικά πολύμορφου αυτού συστήματος. Τα γονίδια της MHC περιοχής που εδράζονται στο χρωμόσωμα 6 ταξινομούνται σε τρεις ομάδες, τα τάξης I (HLA-A, -B, -C), τα τάξης II (HLA-DR, -DQ, -DP) και τα τάξης III, που κωδικοποιούν διαλυτές πρωτεΐνες με ανοσολογική δράση, όπως το συμπλήρωμα κ.ά. Το MHC σύστημα διερευνάται πλέον όχι μόνο με τις ορολογικές αλλά και με τις μοριακές μεθόδους. Έτσι, σήμερα είναι γνωστό ότι περιλαμβάνει >250 γονίδια και >1.800 αλληλόμορφα. Επίσης, έγινε αντιληπτό ότι κάθε άτομο φέρει ομάδες αλληλίων των διαφόρων γενετικών τόπων που χαρακτηρίζουν δύο απλοτύπους. Η κληρονομική μεταβίβαση των γονιδίων HLA ακολουθεί τους νόμους του Mendel, έτσι ώστε ένας από τους απλοτύπους κάθε γονέα μεταβιβάζεται στο παιδί. Ερευνητές που συνέβαλαν ιδιαίτερα στη μελέτη του MHC είναι οι van Rood, Thorsby, Terasaki, Bodmer, Bach κ.ά. Ήδη από το 1953 άρχισαν να γίνονται μεταμοσχεύσεις νεφρών σε όλον τον κόσμο και χάρη στις πρωτοποριακές εργασίες όλων αυτών των ερευνητών και άλλων που ακολούθησαν, οι μεταμοσχεύσεις των οργάνων και του μυελού των οστών έγιναν καθημερινή πράξη. Οι Murray και Thomas τιμήθηκαν με βραβείο Nobel το 1990 «για τις ανακαλύψεις που αφορούν στη μεταμόσχευση οργάνων και κυττάρων για τη θεραπεία νόσων του ανθρώπου». Ο Murray, τη δεκαετία του 1950, έκανε την πρώτη επιτυχή μεταμόσχευση νεφρού σε περίπτωση όπου δότης και λήπτης ήταν μονοωγενείς δίδυμοι. Ο Thomas εφάρμοσε τη μεταμόσχευση μυελού των οστών για τη θεραπεία λευχαιμίας.³⁹

Μετά από την ανακάλυψη του MHC, η σχετική έρευνα έδειξε ότι η σημασία του υπερβαίνει τα όρια της απόρριψης μοσχευμάτων και ότι είναι ένα ανοσογενετικό σύστημα που ρυθμίζει την ανοσιακή απάντηση. Οι αρχικές πειραματικές εργασίες που απέδειξαν το γενετικό έλεγχο της αντισωμα-

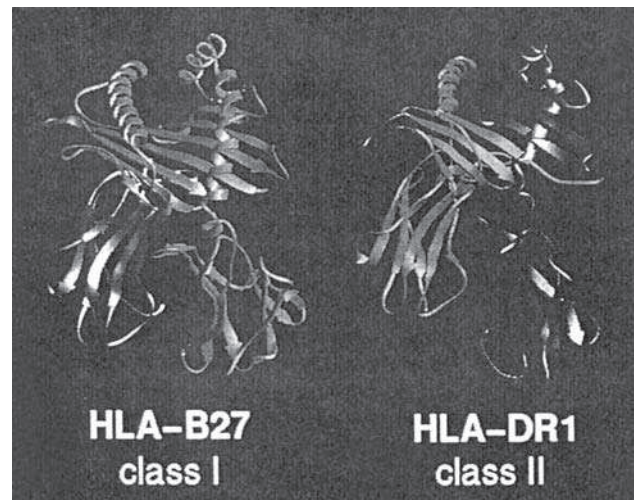
τικής απάντησης έγιναν σε καθαρά στελέχη ποντικών από την ομάδα των McDevitt,⁴⁰ Benacerraf⁴¹ κ.ά. Τα μόρια του MHC συμμετέχουν στην αναγνώριση των ξένων αντιγόνων από τα T-κύτταρα, καθώς και στη διάκριση του ίδιου από το ξένο. Αυτό επιτυγχάνεται κατά τη διαφοροποίηση των T-κυττάρων στο θύμο ως αποτέλεσμα της θετικής και της αρνητικής επιλογής που εξασφαλίζει την ανοχή στα «ίδια» αντιγόνα, δηλαδή την αυτοανοχή. Κάθε HLA απλότυπος έχει ιδιαίτερη ανοσιακή αντιδραστικότητα και κάθε άτομο έχει ιδιαίτερη ανοσιακή απαντητικότητα στους λοιμογόνους και τους άλλους παράγοντες ως αποτέλεσμα των δύο HLA απλότυπων του. Για τις μελέτες που αφορούν στο γενετικό έλεγχο της ανοσοαπάντησης μαζί με τους Dausset και Snell, το 1980, έλαβε το βραβείο Nobel και ο Benacerraf,⁴² οι μελέτες του οποίου έδειξαν ότι η ανοσοαπάντηση έναντι συγκεκριμένων αντιγόνων διέφερε σημαντικά μεταξύ διαφόρων στελεχών ποντικών. Επίσης, έδειξε ότι τα γονίδια της ανοσοαπάντησης (Ii) βρίσκονταν στην ίδια γενετική περιοχή, όπως τα γονίδια H-2 στον ποντικό. Στην ομιλία του κατά την απονομή του βραβείου Nobel ο Dausset τόνισε τα τέσσερα βασικά χαρακτηριστικά του MHC: (α) τον τεράστιο πολυμορφισμό και την ανισορροπία σύνδεσης των αλληλίων, (β) το ρόλο των αντιγόνων μεταμόσχευσης, (γ) το ρόλο στην ανοσοαπάντηση και (δ) την αναγνώριση του ίδιου.³²

Ωστόσο, το MHC έχει ακόμη μια ιδιότητα. Διαπιστώθηκε ότι τα T-κύτταρα μέσω του TCR αναγνωρίζουν τα αντιγονικά πεπτιδία μόνον όταν αυτά παρουσιάζονται μέσα στη θήκη των μορίων του MHC από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα^{43,44} (εικόνες 6, 7). Η απόδειξη για την αλληλεπίδραση του τριμοριακού συμπλέγματος TCR-MHC-πεπτιδίο κατά την ανοσοαπάντηση από τα T-κύτταρα προήλθε από τα πειράματα των Doherty και Zingernagel, οι οποίοι τιμήθηκαν για την ανακάλυψή τους αυτή με το βραβείο Nobel το 1996.^{45,46} Έτσι, γίνεται σαφές ότι η ειδικότητα του TCR καθορίζεται τόσο από την αναγνώριση του αντιγονικού πεπτιδίου όσο και από το MHC μόριο με το οποίο είναι συνδεδεμένο το πεπτιδίο. Αυτή η συναγνώριση είναι γνωστή ως MHC περιορισμός και είναι αποτέλεσμα της εξελικτικής βιολογικής πίεσης για την προστασία των πληθυσμών από την καταστροφική ποικιλότητα των διαφόρων λοιμωδών παραγόντων. Η κατανόηση της μοριακής βάσης του MHC περιορισμού κατά την ανοσιακή απάντηση και του τρόπου παρουσίασης των αντιγονικών πεπτιδίων από τα τάξης I και τάξης II HLA μόρια είχε τεράστια επίδραση στην επακόλουθη εξέλιξη της Ανοσολογίας.⁴⁷

Μια άλλη πτυχή της σημασίας του συμπλέγματος MHC για την ανοσοαπάντηση είναι η αναγνώριση του ρόλου των τάξης I HLA-C μορίων ως συνδέτη δύο υποδοχέων των NK κυττάρων, των KIR2DL1 και KIR2DL2 (killer Ig-like



Εικόνα 6. Σχηματική παράσταση της παρουσίας αντιγονικού πεπτιδίου από αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο προς τον υποδοχέα TCR του T-κυττάρου.



Εικόνα 7. Παράσταση της δομής των πρωτεϊνών MHC τάξης I και τάξης II, όπως είχε περιγραφεί το 1994, που δείχνει τη θήκη μεταξύ των ελίκων που αποτελεί τη θέση σύνδεσης των αντιγονικών πεπτιδίων.

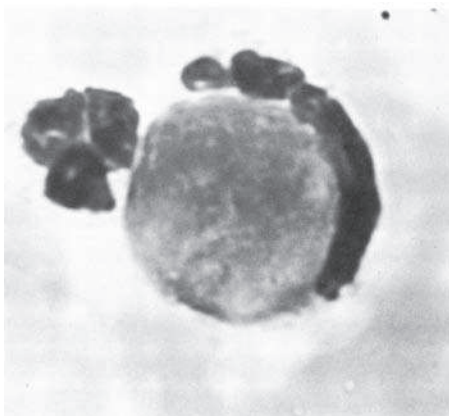
receptor), που ρυθμίζουν τη λυτική λειτουργία των σχετικών κυττάρων.^{48,49} Η συγκεκριμένη λειτουργία αποτελεί ένα συνδετικό κρίκο μεταξύ ειδικής και μη ειδικής ανοσίας.

Η ανάλυση με μοριακές μεθόδους του MHC οδήγησε στην ακριβέστερη HLA τυποποίηση και στη δυνατότητα επιλογής του πλέον συμβατού δότη κατά τις μεταμοσχεύσεις, στη διερεύνηση της συσχέτισης των HLA μορίων με διάφορα νοσήματα και στην αποκάλυψη διαφορών-αποστάσεων μεταξύ των φυλών του ανθρώπου.

7. Η ΕΝΝΟΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑΣ

Ήδη από το 1900 ο Ehrlich είχε προτείνει τον όρο “horror autotoxicus” με βάση τη διαπίστωση ότι οι ζωικοί οργανισμοί δεν παράγουν αντισώματα κατά των ίδιων ιστών, χωρίς όμως να αποκλείει την πιθανότητα ανεπάρκειας της εσωτερικής ρύθμισης των ανοσολογικών λειτουργιών, με αποτέλεσμα την εκδήλωση νοσηρών καταστάσεων. Θεωρητικά, η έννοια της αυτοανοσίας διατυπώθηκε ύστερα από 50 χρόνια από τον Burnet με την υπόθεση των «απαγορευμένων κλώνων». Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, κλώνοι λεμφοκυττάρων που ενδεχομένως αντιδρούν με τα ίδια αντιγόνα είναι προορισμένοι να καταστρέφονται στο θύμο.⁹ Σήμερα, είναι γνωστό ότι η ανοσιακή ανοχή προς το «ίδιο» εξασφαλίζεται με κεντρικούς μηχανισμούς που λειτουργούν κατά τη διαφοροποίηση των T-κυττάρων στο θύμο με τη θετική και την αρνητική επιλογή και των B-κυττάρων στο μυελό των οστών, αντίστοιχα, αλλά και με περιφερικούς μηχανισμούς στα περιφερικά λεμφικά όργανα για την απάλειψη των αυτοδραστικών λεμφοκυττάρων, που ενδεχομένως έχουν διαφύγει, ώστε να διατηρείται η ανοχή.

Πρακτικά, το 1938, οι Dameshek και Schwarts ήταν οι πρώτοι που περιέγραψαν την παρουσία αυτοαντισωμάτων σε περιπτώσεις αιμολυτικής αναιμίας.⁵⁰ Το 1957, οι πρωτοποριακές εργασίες των Doniach και Roitt επιβεβαίωσαν την παρουσία αντιθυροειδικών αυτοαντισωμάτων έναντι της θυροσφαιρίνης, τα οποία διαδραμάτιζαν παθογενετικό ρόλο στη θυροειδίτιδα Hashimoto και το μυξοίδημα.⁵¹ Η διάγνωση του συστηματικού ερυθριματώδους λύκου (ΣΕΛ) ορίστηκε εργαστηριακά, αρχικά από το φαινόμενο λύκου LE το 1947 από τον Hargraves⁵² (εικ. 8), ενώ το 1957 με την εφαρμογή του ανοσοφθορισμού αναγνωρίστηκε ο αντιπυρηνικός παράγοντας (ANF), που καθιερώθηκε εκείνη



Εικόνα 8. Κύτταρο LE. Πρόκειται για παραμορφωμένο πολυμορφοπύρρηνο από έγκλειστο μόρφωμα εκφυλισμένου πυρηνικού υλικού.

την εποχή ως ειδική δοκιμασία για το ΣΕΛ.⁵³ Πρόκειται για τα γνωστά αντιπυρηνικά αντισώματα.

Η εκδήλωση αυτοάνοσων νοσημάτων αποδίδεται σήμερα σε έναν ειδικό συνδυασμό παραγόντων, που αποτελούν το «μωσαϊκό της αυτοανοσίας» κατά τον Shoenfeld.⁵⁴ Οι κυριότεροι εν λόγω παράγοντες είναι γενετικοί, ανοσολογικοί, ορμονικοί και περιβαλλοντικοί. Κατά τα τελευταία χρόνια, έχει αυξηθεί σημαντικά η γνώση για το ρόλο που διαδραματίζουν οι συγκεκριμένοι παράγοντες.

Οι γενετικοί παράγοντες αφορούν σε ορισμένα γονίδια MHC, αλλά κυρίως μη MHC ανοσορρυθμιστικά και άλλα γονίδια. Οι ανοσολογικοί παράγοντες περιλαμβάνουν διαταραχές των T ρυθμιστικών κυττάρων, το ρόλο των υποδοχέων Toll-like (TLR), που σχετίζονται με τις αντιδράσεις φυσικής ανοσίας και την παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών, αλλά και την κατάσταση ισορροπίας των υποπληθυσμών των T-λεμφοκυττάρων TH1/TH2.⁵⁵ Στους ορμονικούς παράγοντες περιλαμβάνονται όχι μόνο τα οιστρογόνα και τα ανδρογόνα, αλλά και η προλακτίνη, καθώς και ουσίες όπως η βιταμίνη D, που έχει ανοσοτροποποιητική δράση. Σ' ό,τι αφορά στους περιβαλλοντικούς παράγοντες, έχει υπάρξει μεγάλη πρόοδος στην κατανόηση του ρόλου ορισμένων ιών, του εν γένει «λοιμογόνου φορτίου», των εμβολίων και άλλων ιατρογενών παρεμβάσεων.⁵⁶

Μια νέα προοπτική στην αντιμετώπιση των αυτοάνοσων νοσημάτων είναι η δυνατότητα της πρόγνωσης. Έχει αποδειχθεί ότι η παρουσία ορισμένων αυτοαντισωμάτων μπορεί να οδηγήσει στην πρόωμη διάγνωση και την πρόληψη των νοσημάτων αυτών.⁵⁷ Στο μέλλον αναμένονται νέες θεραπευτικές παρεμβάσεις με τη μορφή κυρίως βιολογικών ανοσοπαρεμβάσεων που θα βασίζονται στην κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών που οδηγούν στην αυτοανοσία. Έτσι, εκτός από τις θεραπευτικές παρεμβάσεις έναντι διαφόρων κυτταροκινών που ήδη χρησιμοποιούνται υπάρχουν πειραματικά μοντέλα για χειρισμούς με τη χρήση αντιγονικών πεπτιδίων, T ρυθμιστικών κυττάρων κ.ά.⁵⁷

8. ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ – ΑΝΟΣΟΓΕΝΕΤΙΚΗ

Η ανοσογενετική, που αφορά στη μελέτη της γονιδικής ποικιλότητας του ανοσοποιητικού συστήματος και τη συσχέτισή της με την εκδήλωση νοσημάτων, εδραιώθηκε με την κατανόηση της μοριακής δομής και της λειτουργίας τεσσάρων πολυμορφικών συστημάτων: Των ανοσοσφαιρινών, του TCR, του MHC και των υποδοχέων KIR χάρη στην πρόοδο της μοριακής Βιολογίας κατά την τελευταία εικοσαετία.⁵⁸

Η γενετική ταυτοποίηση πολλών γονιδίων που ενέχονται

στην εκδήλωση πρωτοπαθών ανοσοανεπαρκειών (ΠΑ) συνετέλεσε σε μια εκπληκτική πρόοδο κατά τα τελευταία έτη: Στην αναγνώριση νέων συνδρόμων ΠΑ που αποτελούν γενετικές μονογονιδιακές ή πολυγονιδιακές ανωμαλίες του ανοσιακού συστήματος.⁵⁹ Έως τώρα έχουν ταξινομηθεί >150 σύνδρομα, ενώ μελλοντικά αναμένεται ότι θα προσδιοριστούν γονιδιακές ανωμαλίες που οδηγούν σε ανοσοανεπάρκειες, οι οποίες ευθύνονται για την εκδήλωση διαφόρων λοιμωδών, αλλεργικών ή αυτοάνοσων νοσημάτων.⁶⁰⁻⁶² Μέσα σε αυτό το πλαίσιο μελετάται ιδιαίτερα η τριάδα που συσχετίζει τη γενετική, την αυτοανοσία και τις λοιμώξεις.⁶³ Όμως, υπάρχει και ένας αυξανόμενος αριθμός ΠΑ που χαρακτηρίζονται από επιδεκτικότητα σε ένα μόνο τύπο λοίμωξης ή σε περιορισμένο φάσμα λοιμωδών παραγόντων και που εκδηλώνονται σε φυσιολογικά κατά τα άλλα άτομα. Για παράδειγμα, τελευταία έχει δειχθεί ότι διαταραχές στον άξονα IL-12, IFN- γ προσδίδουν επιδεκτικότητα σε λοιμώξεις από μυκοβακτηρίδια και σε μικρότερο βαθμό από σαλμονέλα. Εξ άλλου, υπάρχουν ΠΑ που προσδίδουν εκλεκτική προδιάθεση στην εκδήλωση άλλων φαινοτύπων, όπως αυτοανοσία, αλλεργία, νεοπλασμάτα από ιούς, κοκκίωματα, αιμοφαγοκυττάρωση, αυτοφλεγμονώδη νοσήματα κ.ά., και όχι στην εμφάνιση του συνήθους ανοσολογικού φαινότυπου με τις πολλαπλές λοιμώξεις. Επίσης, είναι γεγονός ότι υπάρχουν ΠΑ που αφορούν σε μη αιμοποιητικά κύτταρα.^{64,65} Κατά τα τελευταία 10 χρόνια, η συστηματική ανίχνευση των γονιδιακών μεταλλάξεων που ευθύνονται για τα σύνδρομα ΠΑ έχει οδηγήσει στην ταυτοποίηση ομάδων ασθενών με ανοσοανεπάρκειες που δεν φέρουν μεταλλάξεις στα αναμενόμενα γονίδια, τα οποία χαρακτηρίζουν τις συγκεκριμένες ανεπάρκειες. Εξ άλλου, το 1/3 των ασθενών που προσέρχονται σε κλινικές ανοσοανεπαρκειών εμφανίζουν σειρά ευρημάτων που δεν αντιστοιχούν στα γνωστά σύνδρομα ανοσοανεπαρκειών. Επομένως, δεν είναι γνωστό αν πρόκειται για άτυπες εκδηλώσεις ή για ανωμαλίες σε γονίδια που δεν έχουν προς το παρόν συσχετιστεί με ανοσοανεπάρκειες. Φαίνεται λοιπόν ότι οι ΠΑ είναι πολύ συχνότερες απ' ό,τι εθεωρείτο αρχικά.

Σήμερα, μετά από την αποκρυπτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος, μπορούμε να μιλάμε όχι για ανοσογενετική αλλά για ανοσογονιδιωματική. Ήδη αναφέρεται ότι το 5% των γονιδίων του ανθρώπινου γονιδιώματος καθορίζει διάφορα ανοσογενετικά χαρακτηριστικά του ανοσοποιητικού συστήματος. Το ενδιαφέρον των ερευνητών έχει επικεντρωθεί στην ταυτοποίηση και τη χαρτογράφηση της γενετικής ποικιλομορφίας του ανθρώπινου γονιδιώματος, ειδικότερα με τη μορφή των πολυμορφισμών ενός νουκλεοτιδίου (single nucleotide polymorphisms, SNPs).^{66,67} Παρατηρήθηκε λοιπόν πολύ μεγάλη συγκέντρωση πολυ-

μορφισμών στα γονίδια που εμπλέκονται στις ανοσολογικές αντιδράσεις, οι οποίες πυροδοτούνται με την είσοδο ενός ξένου αντιγόνου στον οργανισμό. Όμως, δεν είναι εύκολο να ταυτοποιηθούν γονίδια υπεύθυνα για την επιδεκτικότητα σε κοινά ανοσολογικά νοσήματα. Επί πλέον, ενδέχεται ένα γονίδιο να μπορεί να επηρεάσει την εκδήλωση νόσου μόνο σε κατάλληλες συνθήκες περιβάλλοντος.⁶⁸ Υπάρχουν ήδη παραδείγματα ανοσολογικών νοσημάτων που έχουν συσχετιστεί με διάφορους πολυμορφισμούς. Ενδεικτικά, μπορεί να αναφερθεί η συσχέτιση μεταλλάξεων του NOD2 με την επιδεκτικότητα στη νόσο Crohn, καθώς και ο γενετικός πολυμορφισμός του γονιδίου κυτταροκινών Sq31, η συσχέτιση του πολυμορφισμού της τυροσινικής φωσφατάσης των λεμφοκυττάρων (PTpN22) με το διαβήτη τύπου 1, με τη ρευματοειδή αρθρίτιδα και το συστηματικό ερυθηματώδη λύκο, η συσχέτιση του ρυθμιστικού γονιδίου CTLA4 με αυτοάνοσα και άλλα νοσήματα.⁶⁸ Άλλες ομάδες ερευνητών έχουν προβεί σε ευρείας κλίμακας αναλύσεις του γενώματος σε αναζήτηση γενετικών συνδέσεων με το άσθμα και τα αλλεργικά νοσήματα.

Παράλληλα, ένα μεγάλο τμήμα της έρευνας έχει στραφεί στη μελέτη των μηχανισμών της ανοσογήρανσης.⁶⁹ Κατά το γήρας παρατηρείται ελάττωση της ποικιλότητας των αντιγονικών υποδοχέων και της ανοσιακής απάντησης σε διάφορα παθογόνα που σχετίζεται με την ηλικία. Το ρεπερτόριο των T-κυττάρων περιορίζεται ως αποτέλεσμα της υποστροφής του θύμου και της εξάντλησης των T-κυττάρων. Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι, κατά την εξέλιξη, το πλεονέκτημα της επιβίωσης των νεότερων ηλικιών από την προφύλαξη κατά των λοιμογόνων παραγόντων και των συνεχών αντιγονικών ερεθισμών έχει ως τίμημα προβλήματα από τη συσσώρευση βλαβών, για παράδειγμα λόγω χρόνιων φλεγμονών ή εκδηλώσεων αυτοανοσίας. Αυτή η κατάσταση αναφέρεται ως φλεγμονο-γήρανση (inflammageing).^{70,71} Σήμερα, πιστεύεται ότι μπορεί να επιτευχθεί αναστροφή των πολλαπλών ανοσολογικών ελλειμμάτων της ανοσογήρανσης που αφορούν τόσο στη φυσική όσο και στην επίκτητη ανοσία. Υπάρχουν ερευνητές που θεωρούν ότι η υποστροφή του θύμου είναι αναστρέψιμη και ότι η αποκατάσταση του γηρασμένου ανοσιακού συστήματος είναι εφικτή.⁷²

9. ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Από όσα έχουν αναφερθεί, γίνεται προφανές ότι γενετικές μελέτες στον άνθρωπο θα βελτιώσουν την κατανόηση της λειτουργίας του ανοσιακού συστήματος και ειδικότερα της ανοσοπαθογένειας νοσημάτων με ανοσολογικούς χαρακτήρες. Αυτό όμως θα απαιτήσει μια ολοκληρωμένη προοπτική για τον τρόπο με τον οποίο συνεργάζονται

γενετικοί και επιγενετικοί παράγοντες προκειμένου να μπορέσει να προσδιοριστεί το ευρύ φάσμα των φυσιολογικών και των παθολογικών ανοσιακών λειτουργιών. Το περίπλοκο ανοσολογικό δίκτυο, τα 30.000 γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες του γονιδιώματος μαζί με την παρουσία των μικρο-RNAs^{*73} και άλλων ρυθμιστικών γονιδίων δυσχεραίνουν αυτή την προσπάθεια για μια σφαιρική γονιδιωματική και πρωτεωμική ανάλυση που θα περιγράψει σε βάθος τις κυτταρικές απαντήσεις και δεν θα περιορίζεται στην ανάλυση γονιδίων. Είναι αναγκαίο λοιπόν η δυναμική της βιολογίας συστημάτων να εστιαστεί στην «Ανοσολογία συστημάτων»,^{74,75} Ένα βιολογικό σύστημα δεν αποτελείται από ένα σύνολο διακριτών στοιχείων αλλά από ένα πολύπλοκο παράγωγο των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των συγκεκριμένων στοιχείων και της σχέσης τους με το άμεσο περιβάλλον τους.

Τι εννοούμε λοιπόν με τον όρο Ανοσολογία συστημάτων; Η ανοσία δεν είναι το αποτέλεσμα σειράς διακριτών γραμμικών οδών σηματοδότησης. Πρόκειται για ένα δυναμικό δίκτυο χιλιάδων μορίων που υπόκεινται σε πολλαπλές επιδράσεις και καταλήγουν σε ένα πολύπλοκο σύστημα ολοκληρωμένων κυτταρικών απαντήσεων. Οι δράσεις των προϊόντων που κωδικοποιούνται από χιλιάδες μεταγραφόμενων γονιδίων καθορίζουν πολλά επίπεδα ρύθμισης, τα οποία συντελούν στη διατήρηση της ομοιόστασης των κυττάρων ή οδηγούν σε διαφοροποίηση. Για να κατανοηθεί η συμπεριφορά ενός βιολογικού συστήματος και οι διαταραχές του θα πρέπει να ταυτοποιηθούν όλοι οι παράγοντες που εμπλέκονται σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο, καθώς και να διαπιστωθεί πώς αλληλεπιδρούν ποιοτικά και πο-

σοτικά. Αυτή η προσέγγιση έχει ιδιαίτερη σημασία για το ανοσιακό σύστημα προκειμένου να αποκρυπτογραφηθούν σφαιρικά τα δεδομένα γονιδιωματικών και πρωτεωμικών αναλύσεων σε συγκεκριμένες λειτουργικές καταστάσεις που αφορούν στις ανοσιακές απαντήσεις.^{76,77} Ένα παράδειγμα είναι η πολύπλοκη δυναμική των ενδοκυττάρων δικτύων σηματοδότησης. Ένα από τα περισσότερο μελετημένα δίκτυα στη Βιολογία είναι η μεταγραφική οδός NF-κΒ, που εμπλέκεται όχι μόνο στην ανάπτυξη των λεμφοκυττάρων αλλά και στον πολλαπλασιασμό και την επιβίωσή τους.⁷⁸ Πρέπει να τονιστεί ότι αυτή η προσέγγιση για μελέτες τόσο μεγάλης κλίμακας και για ανάλυση σε βάθος των κυτταρικών απαντήσεων παρουσιάζει μεγάλες δυσκολίες και αντιστάσεις. Ήδη, όμως, έχουν αρχίσει οι σχετικές προσπάθειες και πιστεύεται ότι, τελικά, θα ευοδωθούν.

Σήμερα, βρισκόμαστε στην αυγή μιας νέας εποχής γενετικής έρευνας του ανοσοποιητικού συστήματος που θα απαιτήσει νέες μεθόδους προτύπωσης και αξιολόγησης των ευρημάτων των σφαιρικών αυτών αναλύσεων. Δεν πρέπει όμως να διαφεύγει της προσοχής ότι εξακολουθούν να παραμένουν πολλά κενά στις βασικές γνώσεις μας. Ακόμη, δεν είναι εφικτή η παρασκευή αποτελεσματικών εμβολίων για πολλά λοιμώδη νοσήματα, όπως είναι τα παρασιτικά νοσήματα και το AIDS, δεν υπάρχει σαφής εικόνα για το πώς εξασφαλίζεται η ανοχή έναντι του ίδιου σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο, και δεν μπορούμε να επάγομε ανοχή σε κλινικό επίπεδο.¹⁷ Γίνεται λοιπόν αντιληπτό ότι αυτά που έχουν επιτευχθεί έως τώρα στον κλάδο της Ανοσολογίας είναι πάρα πολλά, αλλά αναμένεται να πραγματοποιηθούν πολύ περισσότερα.

ABSTRACT

Immunology: Past, present and future. A retrospective of the evolution of immunology

J. ECONOMIDOU

School of Medicine, University of Athens, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2011, 28(3):403–414

A short history of the evolution of immunology is presented, starting from the year 1798, when Jenner developed the vaccine against smallpox, and leading up to the present day, with emphasis on the discoveries that are considered hallmarks for the understanding of the function of the immune system. In the second half of the 20th century a tremendous growth of immunological knowledge was achieved, due to major biotechnological advances. The most significant discoveries were the elucidation of: the structure and function of antibodies; the crucial role of the thymus for the differentiation of the T lymphocytes and the initiation of self tolerance; the mechanisms that lead to the enormous repertoire of antigen recognition by the Igs and TCR receptors through gene recombination; the hybrid-

* Τα micro-RNA's (miRNA's) ρυθμίζουν αρνητικά τη μετάφραση των πρωτεϊνών διά μέσου μιας anti-sense RNA-RNA αλληλεπίδρασης και υπεισέρχονται σε κάθε κυτταρική λειτουργία.

oma technology for the production of monoclonal antibodies. Recognition that the major histocompatibility complex (MHC), a complex polymorphic system, is important not only for the expression of transplantation antigens, but also for its role in self recognition and the control of the immune response, has had a tremendous effect on the subsequent evolution of immunology. The manifestation of autoimmune disease is currently attributed to a particular combination of genetic, immunological, hormonal, and environmental factors, the interaction of which is still under investigation. It is anticipated that through experimental models in animal experiments new biological therapeutic interventions will be developed. Finally, the advances in molecular biology have given impetus to the development of immunogenetics and the identification of a large number of diseases caused by gene defects, including the primary immunodeficiencies. The new trends in research are represented by the application of global genomic and proteomic analyses for a "systems immunology" approach that will complement the current gene/factor studies.

Key words: Evolution of immunology, History

Βιβλιογραφία

1. ΘΟΥΚΙΔΙΔΟΥ Ιστορίας Β (49–51). Αναφορά στο λοιμό των Αθηναίων
2. JENNER E. *An inquiry into the causes and effects of the variola vaccine*. Sampson Low, London, 1798
3. BRUTON OC. Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 1952, 9:722–728
4. JOHANSON SGO, BENICH H. Immunological studies of an atypical (myeloma) immunoglobuline. *Immunology* 1967, 13:381–394
5. PORTER RR. The structure of gamma-globulin and antibodies. In: Gollhorn A, Hirschberg E (eds) *Basic problems of neoplastic disease*. Columbia University Press, New York, 1962
6. EDELMAN GM, POULIK MD. Studies on structural units of the gamma-globulins. *J Exp Med* 1961, 113:861–884
7. GOOD RA. Cellular immunology in a historical perspective. *Immunol Rev* 2002, 185:136–158
8. BURNET FM. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. *Aust J Sci* 1957, 20:67–69
9. BURNET FM. *Clonal selection theory of acquired immunity*. Cambridge University Press, Cambridge, 1959
10. BURNET FM. The Nobel Lectures in Immunology. The Nobel Prize for Physiology or Medicine, 1960. Immunologic recognition of self. *Scand J Immunol* 1991, 33:3–13
11. NOWELL P. Phytohemagglutinin: An initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res* 1960, 20:462–466
12. MILLER JF. Immunological function of the thymus. *Lancet* 1961, ii:748–749
13. GOOD RA, DALMASSO AP, MARTINEZ C, ARCHER OK, PIERCE JC, PAPERMASTER BW. The role of the thymus in development of immunologic capacity in rabbits and mice. *J Exp Med* 1962, 116:773–796
14. DIGEORGE AM. Congenital absence of the thymus and its immunologic consequences. In: Bergsma D, Good RA (eds) *Immunologic deficiency diseases in man*. The National Foundation, New York, 1968:116–123
15. GOOD RA. Agammaglobulinemia – a provocative experiment of nature. *Bull Univ Minn Hosp Med Found* 1954, 26:1–19
16. COOPER MD, PETERSON RD, GOOD RA. Delineation of the thymic and bursal lymphoid systems in the chicken. *Nature* 1965, 205:143–146
17. MILLER JF. The discovery of thymus function and of thymus-derived lymphocytes. *Immunol Rev* 2002, 185:7–14
18. LEDUC EH, COONS AH, CONOLLY JM. Studies on antibody production. II. The primary and secondary responses in the popliteal lymph node of the rabbit. *J Exp Med* 1955, 102:61–72
19. NOSSAL GJ. Antibody production by single cells. III. The histology of antibody production. *Br J Exp Pathol* 1959, 40:301–311
20. KÖHLER G, MILSTEIN C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predicted specificity. *Nature* 1975, 256:495–497
21. JERNE NK. Towards a network theory of the immune system. *Ann Immunol (Paris)* 1974, 125C:373–389
22. BERNARD A, BOURSEL L, DAUSSET J, MILSTEIN C, SCHLOSSMAN SF (eds). *Leucocyte typing: Human leukocyte differentiation antigens detected by monoclonal antibodies: Specification, classification, nomenclature*. Report on the First International References Workshop, sponsored by INSERM, WHO, and IUIS. Springer-Verlag, Berlin, 1984:45–48
23. ZOLA H, SWART B. The human leucocyte differentiation antigens (HLDA) workshops: The evolving role of antibodies in research, diagnosis and therapy. *Cell Res* 2005, 15:691–694
24. BRACK C, TONEGAWA S. Variable and constant parts of the immunoglobulin light chain gene of a mouse myeloma cell are 1250 nontranslated bases apart. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977, 74:5652–5656
25. TONEGAWA S. Somatic generation of antibody diversity. *Nature* 1983, 302:575–581
26. HEDRICK SM, NIELSEN EA, KAVALER J, COHEN DI, DAVIS MM. Sequence relationships between putative T-cell receptor polypeptides and immunoglobulins. *Nature* 1984, 308:153–158
27. HASKINS K, KUBO R, WHITE J, PIGEON M, KAPPLER J, MARRACK P. The major histocompatibility complex-restricted antigen receptor on T cells. I. Isolation with a monoclonal antibody. *J Exp Med* 1983, 157:1149–1169
28. DAVIS MM, BJORKMAN PJ. T-cell antigen receptor genes and T-cell recognition. *Nature* 1988, 334:395–402

29. COBB RM, OESTREICH KJ, OSIPOVICH OA, OLTZ EM. Accessibility control of V(D)J recombination. *Adv Immunol* 2006, 91:45–109
30. DAUSSET J. Leuco-agglutinins. IV Leuco-agglutinins and blood transfusion. *Vox Sang* 1954, 4:190
31. DAUSSET J. Iso-leuko-antibodies. *Acta Haematol* 1958, 20:156–166
32. DAUSSET J. The major histocompatibility complex in man. Past, present and future concepts (Nobel Lecture 1980). *Science* 1981, 213:1469–1474
33. MEDAWAR PB. The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits: A report to the War Wounds Committee of the Medical Research Council. *J Anat* 1944, 78:176–199
34. MEDAWAR PB. Immunity in homologous grafted skin. II: The relationship between antigens of blood and skin. *Br J Exp Pathol* 1946, 27:9–24
35. MEDAWAR PB. The Nobel Lectures in Immunology. The Nobel Prize for Physiology or Medicine, 1960: Immunological tolerance. *Scand J Immunol* 1991, 33:337–344
36. SNELL GD. The enhancing effect (or actively acquired tolerance) and the histocompatibility-2 locus in the mouse. *J Natl Cancer Inst* 1954, 15:665–675
37. SNELL GD. The Nobel Lectures in Immunology. Lecture for the Nobel Prize for Physiology or Medicine, 1980: Studies in histocompatibility. *Scand J Immunol* 1992, 36:513–526
38. THORSBY E. Structure and function of HLA molecules. *Transplant Proc* 1987, 19:29–35
39. UNSWORTH J. Immunology. *J Clin Pathol* 2005, 58:791–792
40. McDEVITT HO, TYAN ML. Genetic control of the antibody response in inbred mice. Transfer of response by spleen cells and linkage to the major histocompatibility [H-2] locus. *J Exp Med* 1968, 128:1–11
41. BENACERRAF B, McDEVITT HO. Histocompatibility-linked immune response genes. *Science* 1972, 175:273–279
42. BENACERRAF B. The role of MHC gene products in immune regulation and its relevance to alloreactivity (Nobel Lecture 1980). *Scand J Immunol* 1992, 35:376–396
43. STERN LJ, WILEY DC. Antigenic peptide binding by class I and class II histocompatibility proteins. *Structure* 1994, 2:245–251
44. ΤΑΡΑΣΗ Α. Τριμοριακό σύμπλεγμα. *Ανοσία* 2008, 4(Συμπλ.):49–53
45. ZINKERNAGEL RM, DOHERTY PC. The discovery of MHC restriction. *Immunol Today* 1997, 18:14–17
46. DOHERTY PC. The Nobel Lectures in Immunology. The Nobel Prize for Physiology or Medicine, 1996: Cell mediated immunity in virus infections. *Scand J Immunol* 1997, 46:527–540
47. STROMINGER JL. Human histocompatibility proteins. *Immunol Rev* 2002, 185:69–77
48. COLONNA M, BROOKS EG, FALCO M, FERRARA GB, STROMINGER JL. Generation of allospecific natural killer cells by stimulation across a polymorphism of HLA-C. *Science* 1993, 260:1121–1124
49. PASCAL V, STULBERG MJ, ANDERSON SK. Regulation of class I major histocompatibility complex receptor expression in natural killer cells: One promoter is not enough! *Immunol Rev* 2006, 214:9–21
50. DAMESHEK W, SCHWARTZ SO. Hemolysins as cause of clinical and experimental haemolytic anaemias, with particular reference to nature of spherocytosis and increased fragility. *Am J Med Sci* 1938, 196:769
51. DONIACH D, ROITT IM. Auto-immunity in Hashimoto's disease and its implications. *J Clin Endocrinol Metab* 1957, 17:1293–1304
52. HARGRAVES MM, RICHMOND H, MORTON R. Presentation of two bone marrow elements; the tart cell and the LE cell. *Mayo Clin Proc* 1948, 23:25–28
53. HOLBOROW EJ, WEIR DM, JOHNSON GD. A serum factor in lupus erythematosus with affinity for tissue nuclei. *Br Med J* 1957, 2:732–734
54. SHOENFELD Y, ISENBERG DA. The mosaic of autoimmunity. *Immunol Today* 1989, 10:123–126
55. SHOENFELD Y, GILBURD B, ABU-SHAKRA M, AMITAL H, BARZILAI O, BERKUN Y ET AL. The mosaic of autoimmunity: Genetic factors involved in autoimmune diseases – 2008. *Isr Med Assoc J* 2008, 10:3–7
56. SHOENFELD Y, ZANDMAN-GODDARD G, STOJANOVICH L, CUTOLO M, AMITAL H, LEVY Y ET AL. The mosaic of autoimmunity: Hormonal and environmental factors involved in autoimmune diseases – 2008. *Isr Med Assoc J* 2008, 10:8–12
57. SHOENFELD Y, BLANK M, ABU-SHAKRA M, AMITAL H, BARZILAI O, BERKUN Y ET AL. The mosaic of autoimmunity: Prediction, auto-antibodies, and therapy in autoimmune diseases – 2008. *Isr Med Assoc J* 2008, 10:13–19
58. ΣΠΥΡΟΠΟΥΛΟΥ-ΒΛΑΧΟΥ Μ. Ανοσογενετική. *Ανοσία* 2008, 4(Συμπλ.):25–28
59. SHEARER WT, FISHER A. The last 80 years of primary immunodeficiency: How far have we come, how far need we go? *J Allergy Clin Immunol* 2006, 117:748–752
60. CONLEY ME. Molecular basis of immunodeficiency. *Immunol Rev* 2005, 203:5–9
61. GEHA RS, NOTARANGELO LD, CASANOVA JL, CHAPEL H, CONLEY ME, FISCHER A ET AL. Primary immunodeficiency diseases: An update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee. *J Allergy Clin Immunol* 2007, 120:776–794
62. ΟΙΚΟΝΟΜΙΔΟΥ Ι. Πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες: Μια ιστορική αναδρομή από το 1952 έως το 2007. *Ανοσία* 2008, 4:16–27
63. KIVITY S, AGMON-LEVIN N, BLANK M, SHOENFELD V. Infections and autoimmunity – friends or foes? *Trends Immunol* 2009, 30:409–414
64. CASANOVA JL, FIESCHI C, BUSTAMANTE J, REICHENBACH J, REMUS N, VON BERNUTH H ET AL. From idiopathic infectious diseases to novel primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2005, 116:426–430
65. CASANOVA JL, ABEL L. Primary immunodeficiencies: A field in its infancy. *Science* 2007, 317:617–619
66. GERAGHTY DE. Genetic diversity and genomics of the immune response. *Immunol Rev* 2002, 190:5–8
67. MACKELPRANG R, CARLSON CS, SUBRAHMANYAN L, LIVINGSTON RJ, EBERLE MA, NICKERSON DA. Sequence variation in the human T-cell receptor loci. *Immunol Rev* 2002, 190:26–39
68. PLENGE R, RIOUX JD. Identifying susceptibility genes for immunological disorders: Patterns, power, and proof. *Immunol Rev* 2006, 210:40–51
69. SHANLEY DP, AW D, MANLEY NR, PALMER DB. An evolutionary perspective on the mechanisms of immunosenescence. *Trends Immunol* 2009, 30:374–381

70. De MARTINIS M, FRANCESCHI C, MONTI D, GINALDI L. Inflamm-aging and lifelong antigenic load as major determinants of ageing rate and longevity. *FEBS Lett* 2005, 579:2035–2039
71. ΦΡΑΓΚΟΥΛΗΣ ΓΕ, ΜΟΥΤΣΟΠΟΥΛΟΣ ΧΜ. Φλεγμονή και γήρανση. Μεταβολές του ανοσοποιητικού συστήματος κατά τη γήρανση. *Αρχ Ελλ Ιατρ* 2008, 25:24–32
72. LYNCH HE, GOLDBERG GL, CHIDGEY A, VAN DEN BRINK MR, BOYD R, SEMPOWSKI GD. Thymic involution and immune reconstitution. *Trends Immunol* 2009, 30:366–373
73. TILI E, MICHAILLE JJ, COSTINEAN S, CROCE CM. MicroRNAs, the immune system and rheumatic disease. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008, 4:534–541
74. BENOIST C, GERMAIN RN, MATHIS D. A plaidoyer for “systems immunology”. *Immunol Rev* 2006, 210:229–234
75. GARDY JL, LYNN DJ, BRINKMAN FS, HANCOCK RE. Enabling a systems biology approach to immunology: Focus on innate immunity. *Trends Immunol* 2009, 30:249–262
76. TIAN Q, STEPANIANTS SB, MAO M, WENG L, FREETHAM MC, DOYLE MJ ET AL. Integrated genomic and proteomic analyses of gene expression in mammalian cells. *Mol Cell Proteomics* 2004, 3:960–969
77. ΚΑΛΟΓΕΡΙΔΗΣ ΑΘ. Γενωμική-πρωτεωμική-κυτταρωμική: Εφαρμογές με νέες προοπτικές στην ανοσολογία. *Ανοσία* 2007, 3(Συμπλ. 3):107–115
78. HOFFMANN A, BALTIMORE D. Circuitry of nuclear factor kappaB signaling. *Immunol Rev* 2006, 210:171–186

Corresponding author:

J. Ekonomidou, 14 Nereidon street, GR-116 34 Athens, Greece
e-mail: ireconom@otenet.gr

.....