rassegna

Il sistema antigenico p-ribosomiale

M. Tampoia
Laboratorio di Patologia Clinica I – Azienda Ospedaliera Policlinico di Bari

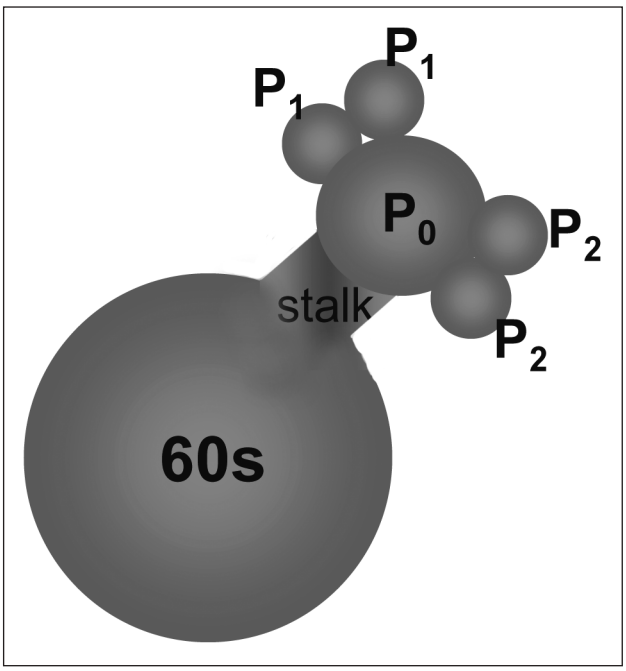
Introduzione

I principali antigeni ribosomiali sono stati identificati nel 1985 e sono costitutiti dalle P (fosfo) proteine associate alla sub-unità ribosomiale 60s (1,2). Anticorpi diretti contro questi antigeni sono stati riscontrati in modo specifico nel siero di pazienti affetti da lupus eritematoso sistemico (LES), dove assumono un importante ruolo diagnostico. La prima descrizione di associazione tra anticorpi anti- P-ribosoma e manifestazioni neurologiche in corso di LES, soprattutto di tipo psicotico, risale al 1986 (3).

Struttura molecolare degli autoantigeni

Gli autoantigeni ribosomiali sono fosfoproteine localizzate sullo "stelo" della sub-unità 60s del ribosoma a formare un complesso pentamerico costituito da una sincola copia della proteina P0 (PM 38 kDa) e due omodimeri delle proteine P1 (19 kDa) e P2 (17 kDa) (4) (Figura 1). Gli omodimeri P1 e P2 sono gli equivalenti della proteina ribosomiale L12 di E. coli e pertanto contengono sequenze altamente conservate tra gli ecarioti (5,6). Si ritiene che queste fosfoproteine siano coinvolte nel processo di sintesi proteica; infatti anticorpi monoclonali diretti contro le fosfoproteine, sono in grado di bloccare la sintesi proteica impedendo l'interazione tra queste e i fattori di allungamento (EF-1α e EF-2) delle catene polipeptidiche (6,7). La struttura antigenica delle fosfoproteine comprende diversi epitopi primari, alcuni comuni a tutte le proteine, altri specifici per ogni singola proteina. L'epitopo maggiormente reattivo, identico in tutte e tre le fosfoproteine, è stato mappato e localizzato in una sequenza di 22 aminoacidi dell'estremità carbossiterminale, che presenta attività GTP-asica fosforilata dalla caseinchinasi II (8,9). Si tratta di un epitopo lineare/continuo capace di assorbire, con tecniche di immunoblot, la maggior parte degli anticorpi diretti contro il sistema antigenico P-ribosomiale (10). Epitopi ugualmente reattivi sono stati recentemente individuati anche nell'estremità amino-terminale di P1 e P2 e nelle sequenze aminoacidiche carbossiterminali di ciascuna fosfoproteina (11). L'esistenza di epitopi specifici pone problemi di accuratezza metodologica per test diagnostici basati solo sull'impiego dell'epitopo comune del sistema antigenico P-ribosomiale (11).

Figura 1. Il sistema antigenico P-ribosomiale



Gli autoanticorpi.

Gli anticorpi anti-P-ribosoma sono anticorpi policlonali, in prevalenza di classe IgM e IgG (sottoclassi IgG_1 e IgG_2), e per lo più con catene leggere di tipo k (12). La presenza in circolo di tali anticorpi si associa frequentemente a disturbi neurologici, per cui è stata ipotizzata una omologia di sequenza aminoacidica tra l'epitopo comune del sistema antigenico P-ribosomiale e proteine della membrana citoplasmatica delle cellule neuronali (13,14). A sostegno di questa ipotesi vi è l'identificazione di un epitopo di superficie in cellule neuroblastomatose, antigenicamente correlato al

dominio carbossiterminale comune delle fosfoproteine ribosomiali (15); gli anticorpi anti-P-ribosoma, o una parte di essi, potrebbero quindi essere prodotti direttamente verso antigeni del sistema nervoso centrale (16). Il fatto tuttavia che non siano mai stati rinvenuti nel liquido cefalorachidiano (17,18) sembrerebbe escludere un loro ruolo patogenetico, anche se è possibile che l'alta affinità del legame anticorpale con il tessuto nervoso possa renderne difficile l'individuazione nel liquor (17,18).

Frequenza, significato e associazioni cliniche

Gli anticorpi anti-P-ribosoma sono specifici per il LES (3,17,19) non essendo stati riscontrati né in soggetti sani né in pazienti affetti da altre patologie autoimmuni (17,20,21). La loro frequenza nel LES è variabile dal 10-20% delle prime segnalazioni della letteratura, al 40-50% dei lavori più recenti, effettuati soprattutto in popolazioni asiatiche (3,14,17,21,22). Benchè si associno prevalentemente a manifestazioni neuropsichiche, possono essere riscontrati anche in pazienti con epatite e/o nefrite lupica.
Anticorpi anti-P-ribosoma e manifestazioni neuropsichiche: la presenza di anticorpi anti-P-ribosoma caratterizza un sottogruppo di pazienti affetti da LES con psicosi (20) o altre manifestazioni neuropsichiche (17,21). In un recente studio, condotto su 206 pazienti lupici, Tzioufas e coll. hanno rilevato anticorpi anti-P-ribosoma nel 39.3% e nel 18.6% dei pazienti, rispettivamente con e senza manifestazioni neuropsichiche (22). L'esistenza di una correlazione tra titolo anticorpale e attività di malattia è controversa. Alcuni studi hanno riportato una correlazione tra concentrazione anticorpale e gravità delle manifestazioni psicotiche, ma la casistica considerata è esigua (17,20); al contrario, invece, molti altri autori non sembrano confermare tale correlazione (18,23-25).
Anticorpi anti-P-ribosoma ed epatite lupica: una possibile associazione fu inizialmente notata in un caso di paziente affetto da LES nel quale anticorpi anti-P-ribosoma furono prodotti subito dopo lo sviluppo di un'epatite (26). Tale associazione è stata in seguito confermata da ulteriori studi eseguiti in pazienti affetti da LES e non in pazienti con altre epatopatie autoimmuni (27,28). Non è stato ancora sufficientemente chiarito se questi autoanticorpi abbiano un significato patogenetico o se siano un epifenomeno del danno epatico, anche se la loro presenza sembra essere associata ad un rischio statistico significativamente più elevato di sviluppare epatite lupica (14,27). Allo stato attuale non sono presenti in letteratura sufficienti dati che consentano di stabilire una eventuale correlazione tra titolo anticorpale e attività di malattia epatica (27,28).
Anticorpi anti-P-ribosoma e nefrite lupica: anticorpi anti-ribosoma sono stati associati a nefrite lupica ma gli studi a riguardo sono pochi e le casistiche piuttosto esigue (27). Uno studio condotto su quattro pazienti ha dimostrato una correlazione tra attività di malattia renale e titolo anticorpale (29). Lo stesso studio suggerirebbe l'utilità clinica della determinazione degli anticorpi anti-ribosoma in pazienti affetti da nefrite lupica senza anticorpi anti-dsDNA in circolo (29).

Metodi di ricerca

La presenza degli anticorpi anti-P-ribosoma può essere sospettata durante l'esecuzione del test in immunofluorescenza indiretta (IFI), sia su linee cellulari HEp-2 che su tessuti animali. Sulle cellule HEp-2 si manifestano con una fluorescenza densa di aspetto omogeneo o finemente granulare che ricopre tutto il citoplasma e nella maggior parte dei casi anche i nucleoli, sede di sintesi ribosomiale (3). Sui tessuti, e in particolare sullo stomaco, mostrano una fluorescenza finemente granulare del citoplasma delle cellule principali mentre lasciano completamente negative le cellule parietali (3). Per una più agevole definizione dei casi di positività per anticorpi anti-P-ribosoma e soprattutto per una possibile diagnosi differenziale con eventuali positività per anticorpi anti-LKM ed anti-mitocondri, si consiglia la ricerca di anticorpi anti-ribosoma con metodica IFI, in associazione su cellule HEp-2 e tessuti. Tuttavia il metodo IFI non è né sensibile né specifico per cui occorre ricorrere ad un test più specifico, sia in pazienti con test IFI positivo, sia in pazienti sintomatici con IFI negativo. I metodi di Western-blot ed ELISA, che utilizzano estratti cellulari e antigeni nativi purificati o di sintesi, presentano buone caratteristiche sia di sensibilità che di specificità (22,30). Attualmente esistono in commercio metodi/kits ELISA che utilizzano antigeni ribosomiali purificati e sintetizzati relativamente all'epitopo comune C-terminale e proteine ribosomiali umane o bovine estratte e purificate. Sebbene sia stata già evidenziata l'esistenza di epitopi ugualmente reattivi diversi da quello comune (11), non sono tuttora disponibili dati di comparazione tra le diverse tipologie di reattivi. Per le sue caratteristiche di test quantitativo, più conveniente e maneggevole, l'ELISA rappresenta attualmente la metodica di scelta per la determinazione degli anticorpi anti-P-ribosoma (31).

Utilità della ricerca degli anticorpi anti-ribosoma

I dati di letteratura suggeriscono che gli anticorpi anti-P-ribosoma possono condizionare l'approccio clinico della psicosi lupica. Noi riteniamo che il test per gli anticorpi anti-P-ribosoma possa essere utile soprattutto per la sua specificità. Infatti una positività anti-P-ribosoma può essere utilizzata da un punto di vista diagnostico, in maniera simile a quella degli anticorpi anti-Sm, in quei pazienti con sospetto LES che non presentano anticorpi anti-dsDNA circolanti (20,23,29). Inoltre il titolo anticorpale può rimanere elevato anche quando gli altri marcatori anticorpali ritornano nella norma; quindi tali anticorpi possono essere utili nella

diagnosi di malattia anche al di fuori delle fasi di attività (21,29). Comunque al momento, noi consideriamo gli anticorpi anti-P-ribosoma come un tassello da aggiungere agli altri dati clinici e laboratoristici nella diagnosi di LES, dato che possono essere presenti anche in assenza di altre alterazioni sierologiche di malattia lupica. Infine, la presenza di anticorpi anti-P-ribosoma in pazienti lupici con sintomatologia neurologica, potrebbe orientare l'inquadramento diagnostico nell'ambito della psicosi lupica, escludendo altre possibili cause di coinvolgimento neurologico in corso di LES, quali il trattamento steroideo o cause di natura infettiva e orientare così il comportamento terapeutico. L'impiego diagnostico degli anticorpi anti-P-ribosoma in corso di epatite e nefrite lupica necessita di ulteriori conferme clinico-sperimentali.

Bibliografia

1. Francouer AM, Peebles CL, Heckam KJ, Lee JC, Tan EM. Identification of ribosomal protein autoantigens. J Immunol 1985; 135:2878-84
2. Elkon KB, Parnassa AP, Foster CL. Lupus autoantibodies target ribosomal P proteins. J Exp Med 1985; 162:459-71
3. Bonfa E, Elkon KB. Clinical and serologic associations of the antiribosomal P protein antibody. Arthritis Rheum 1986; 29:981-5
4. Uchiumi T, Wahba AJ, Traut RR. Topography and stoichiometry of acidic proteins in large ribosomal subunits from Artemia salina as determineted by crosslinking. Proc Natl Acad Sci USA 1987; 84:5580-4
5. Towbin H, Ramjoue HP, Kuster H, Liverani D, Gordon J. Monoclonal antibodies against eucaryotic ribosomes. Use to characterize a ribosomal protein not previously identified and antigenically related to the acidic phosphoproteins P1/P2. J Biol Chem 1982; 257:2709-15.
6. Uchiumi T, Traut RR, Komunami R. Monoclonal antibodies against acidic phosphoproteins P0, P1, P2 of eukaryotic ribosomes as functional probes. J Biochem 1990; 265:89-95.
7. Stacey DW, Skelly S, Watson T, Elkon KB. The inhalation of protein synthesis by IgG containing-antiribosome P autoantibodies from systemic lupus erythematosus patients. Arch Biochem Biophys 1988; 267:398-403.
8. Chu JL, Brot N, Weissbach H, Elkon KB. Lupus antiribosomal P antisera contain antibodies to a small fragment of 28s rRNA located in the proposed ribosomal GTPase center. J Exp Med 1991; 174:507-14.
9. Hasler P, Brot N, Weissbach H, Parnassa AP, Elkon KB. Ribosomal proteins P0, P1, P2 are phosphorylated by casein kinase II at their conserved carboxyl termini. J Biol Chem 1991; 266:13819-20.
10. Elkon KB, Skelly S, Parnassa AP, Moller W, Weissbach H, Brot N. Identification and chemical synthesis of a ribosomal protein antigenic determinant in systemic lupus erythematosus. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83:7419-23.
11. Fabien N, Moreira A, Lavergne JP, Desbos A, Surgey P, Alvesde o Gonzalo P, et al. Autoantibodies directed against the ribosomal P protein are not only directed against a common epitope of the P0, P1 and P2 phosphoproteins. J Autoimmun 1999; 13:103-10.
12. Bonfa E, Chu JL, Brot N, Elkon KB. Lupus anti-ribosomal-P-peptide antibodies show limited heterogeneity and are predominantly of the IgG1 and IgG2 subclasses. Clin Immunol Immunopathol 1987; 45:129-38.
13. Koren E, Reichlin MW, Koscec M, Fugate RD, Reichlin M. Autoantibodies to the ribosomal P protein react with a plasma membrane related target on human cells. J Clin Invest 1992; 89:1236-41.
14. Koscec M, Koren E, Wolfson-Reichlin M, Fugate RD, Trieu EM. Autoantibodies to ribosomal P proteins penetrate into live hepatocytes and cause cellular dysfunction in culture. J Immunol 1997; 15: 2033-41.
15. Amos N, The LS, Gower DE, Williams BD. Surface expression of epitope is recognized by antiribosomal P protein antibodies on neuroblastoma cells. Arthritis Rheum 1992; 35:159-62.
16. Golombek S, Graus F, Elkon KB. Autoantibodies in the cerebrospinal fluid of patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 1986; 29: 1090-7.
17. Schneebaum AB, Singleton JD, West SG, Blodgett JK. Association of psychiatric manifestations with antibodies to ribosomial P proteins in systemic lupus erythematosus. Am J Med 1991; 90:54-62.
18. Teh L, Bedwell A, Isenberg D, Gordon C, Emery P, Charles PJ , et al. Antibodies to protein P in systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis 1992;51:489-94.
19. Koffler D, Miller TE, Lahita RG. Studies on the specificity and clinical correlation of antiribosomal antibodies in systemic lupus erythematosus sera. Arthritis Rheum 1979; 22: 463-70.
20. Bonfa E, Golombek S, Kaufman L, Skelly S, Weissbach H, Brot N, et al. Association between lupus psychosis and antiribosomal P protein antibodies. N Engl J Med 1987; 317:265-71.
21. Sato T, Uchumi T, Ozawa T, Kikumi M, Nakano M, Kominami R, et al. Autoantibodies against ribosomal protein found with high frequency in patients with systemic lupus erythematosus with active disease. J Rheumatol 1991; 18 :1681-4.
22. Tzioufas AG, Tzortzakis NG, Panou-Pomonis E, Boki KA, Sakarellos D, Daitsiotis M, et al. The clinical relevance of antibodies to ribosomal common in two targeted systemic lupus erythematosus populations: a cohort of consecutive patients and patients with active central nervous systemic disease. Ann Rheum Dis 2000; 59:99-104.
23. Van Dam A, Nossent H, de Jong J, Meilof J, ter Borg EJ, Swaak T, et al. Diagnostic value of antibodies against ribosomal phosphoproteins. A cross sectional and longitudinal study. J Rheumatol 1991; 18:1026-34.
24. Nojima Y, Minota S, Yamada A, Takaku F, Aotsuka S, Yokohari R. Correlation of antibodies to ribosomal P protein with psychosis in patients with systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis 1993; 51:1053-5.
25. Derkson R, van Dam A, Gmelig Meyling F, Bijlsma JW, Smeenk RJ. A prospective study on ribosomal P protein in two cases of familial lupus and recurrent psychosis. Ann Rheum Dis 1990; 49:779-82.
26. Koren E, Schnitz W, Reichlin M. Concomitant development of cronic active hepatitis and antibodies to ribosomal P protein in a patient with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 1993; 36:1325-8.
27. Hulsey M, Goldstein R, Scully L, Surbeck W, Reichlin M. Antiribosomal P antibodies in systemic lupus erythematosus: a case-control study correlating hepatic and renal disease. Clin Immunol Immunopathol 1995;74:252-6.

28. Arnett FC, Reichlin M. Lupus hepatitis: an under-recognized disease feature associated with autoantibodies to ribosomal P. Am J Med 1995; 99:465-72.
29. Martin AL, Reichlin M. Fluctuations of antibody to ribosomal P protein correlate with appearance and remission of nephritis in SLE. Lupus 1996; 5:22-9
30. Bonfa E, Gaburo JN, Tavares AV, Cossermelli W. Comparison of five methods for the detection of antiribosomal P protein antibody. Braz J Med Biol Res 1994; 27:637-43.
31. Rayno K, Reichlin M. Evaluation of assays for the detection of autoantibodies to the ribosomal P proteins. Clin Immunol 2000; 95:99-103.