

S T U D I O

GENI E COMPORTAMENTI

Scienza e arte della vita

**AGGIORNAMENTI IN
PSICONEUROENDOCRINOIMMUNOLOGIA**

A cura di
Francesco Bottaccioli

edizioni
red!

Red Edizioni, Milano © 2009

Coordinamento editoriale: Diletta D'Amelio
Realizzazione editoriale: Redint Studio, Milano
Disegni: Sandor Breznay, Milano

Stampa: L.E.G.O. Spa, Lavis (TN)

www.rededizioni.it

Un metodo comparativo e integrato per lo studio dei sistemi complessi

di Riccardo Ortolani, Paolo Bellavite, Salvatore Chirumbolo, Giuseppe Tridente, Antonio Vella

In questo intervento si presenta un metodo di valutazione multiparametrico del sistema immunitario, concepito per lo studio dei sistemi complessi e per l'integrazione con lo studio degli altri sistemi (psichico, neurologico ed endocrino).

I sistemi complessi

Lo sviluppo di tecnologie sofisticate nelle diverse branche della medicina, capaci di fornire una enorme quantità di dati, è sicuramente una condizione fondamentale per ottenere informazioni e conoscenza della biologia dei sistemi complessi; tuttavia, non è assolutamente sufficiente per conoscere lo stato dei sistemi e la dinamica delle loro relazioni. Per questo serve un approccio multidisciplinare che superi le tecnologie analitiche integrando

ed elaborando i dati in una visione d'insieme. Il sistema immunitario è un sistema complesso in quanto: a) *strutturato in una rete* di numerosissime componenti cellulari che comunicano tra loro sia direttamente sia attraverso mediatori solubili; b) *dinamico e cognitivo*, risponde agli stimoli, si adatta agli stessi e ne mantiene la memoria; c) *integrato* al sistema nervoso ed endocrino con i quali comunica a tutti i livelli.

Il nostro lavoro parte dalla determinazione di una serie di valori, tipici di ciascun soggetto, relativi alle numerose specie cellulari del sangue periferico, che possono essere identificate e tipizzate con metodi prevalentemente citofluorimetrici. In ambito immunologico le sottopopolazioni linfocitarie rappresentano uno strumento con grandi potenzialità per studiare lo stato e, soprattutto, la dinamica del sistema. Tuttavia, ci siamo presto resi con-

to che per gli aspetti clinici non è sufficiente ottenere e fornire una serie di dati di laboratorio, ma tali dati vanno integrati con altre informazioni ed elaborati secondo tre passaggi che sono qui sinteticamente enunciati.

- La raccolta e misurazione dei parametri biologici (relativi ai diversi sistemi: immunitario, endocrino, nervoso) ha bisogno di essere integrata e correlata temporalmente con gli *eventi esterni* (ambiente di vita, abitudini di vita: alimentazione, attività fisica, fumo, alcool, droghe; eventi eccezionali particolarmente stressanti: morte di persone care, separazioni, perdita del lavoro; infezioni eccetera) e con gli *interventi esterni* (farmaci di varia natura, vaccini, interventi chirurgici eccetera).
- Il secondo passaggio, fondamentale per la conoscenza dello stato dei sistemi di quella persona, è quello di elaborare i dati attraverso un *confronto*: il metodo prevede di comparare il valore di ogni singolo parametro di una persona con l'insieme dei valori dello stesso parametro di un gruppo di altre persone (campione selezionato dalla popolazione generale oppure da un gruppo di soggetti con una o più caratteristiche in comune). Dalla comparazione (calcolo del rango percentile) otteniamo un valore (da 0 a 100) che indica la *posizione* in cui quel soggetto si trova rispetto agli altri per quel determinato parametro (per esempio: 75° rango percentile significa che il 75% dei soggetti con i quali abbiamo fatto la comparazione hanno valori di quel parametro inferiori a quelli del soggetto considerato). I valori dei ranghi percentili fanno emergere le caratteristiche di quel soggetto: per alcuni parametri egli potrà essere posizionato tra quelli che hanno valori alti (>80° rango percentile), per altri potrà essere posizionato tra quelli che hanno valori bassi (<20° percentile), per altri parametri ancora potrà essere posizionato su valori attorno alla mediana ($\geq 20^\circ$ percentile e $\leq 80^\circ$ percentile).

- Il terzo passaggio è quello di rappresentare le *posizioni*, relative a un certo numero di parametri, nel loro insieme, ottenendo così una specie di *impronta* di quel determinato soggetto, per quel determinato numero di parametri in quel determinato momento. La rappresentazione grafica aiuta molto nella lettura di ogni singolo parametro e, più ancora, nella lettura d'insieme. La sequenza di posizioni di quel determinato soggetto in quel determinato momento difficilmente (se non praticamente impossibile) sarà uguale a quella di altri soggetti; in un certo senso, sarà assolutamente unica e irripetibile. La sovrapposizione tra l'insieme delle posizioni di quel soggetto in quel determinato momento e l'insieme delle posizioni dello stesso soggetto in un tempo successivo (settimane, mesi, anni) permette di seguire i movimenti dei suoi parametri nel tempo. In generale questo approccio potrebbe essere un aiuto per leggere e studiare la *dinamica* dei sistemi, nel singolo individuo, in gruppi selezionati, in un campione della popolazione generale (Figura 1).

Il lavoro che si sta facendo e, soprattutto, che è previsto per il prosieguo è di ricercare le associazioni tra le posizioni dei vari parametri, tra le posizioni dei parametri e gli eventi e interventi temporalmente associati, meglio ancora tra pattern di posizioni di parametri ed eventi, interventi e sintomi clinici. Da tali associazioni ci si aspetta di comprendere meglio le dinamiche del sistema immunitario nei singoli individui e in relazione alle loro esperienze patofisiologiche.

Una modalità per ricercare questo potrebbe essere la ricerca in un'ampia banca dati (*si veda* il paragrafo 'Banca dati') dei soggetti che hanno uno, due, o meglio, più parametri in posizioni simili. Per esempio ci si potrebbe chiedere cosa hanno in comune, nella clinica o in altri eventi della loro storia patobiografi-

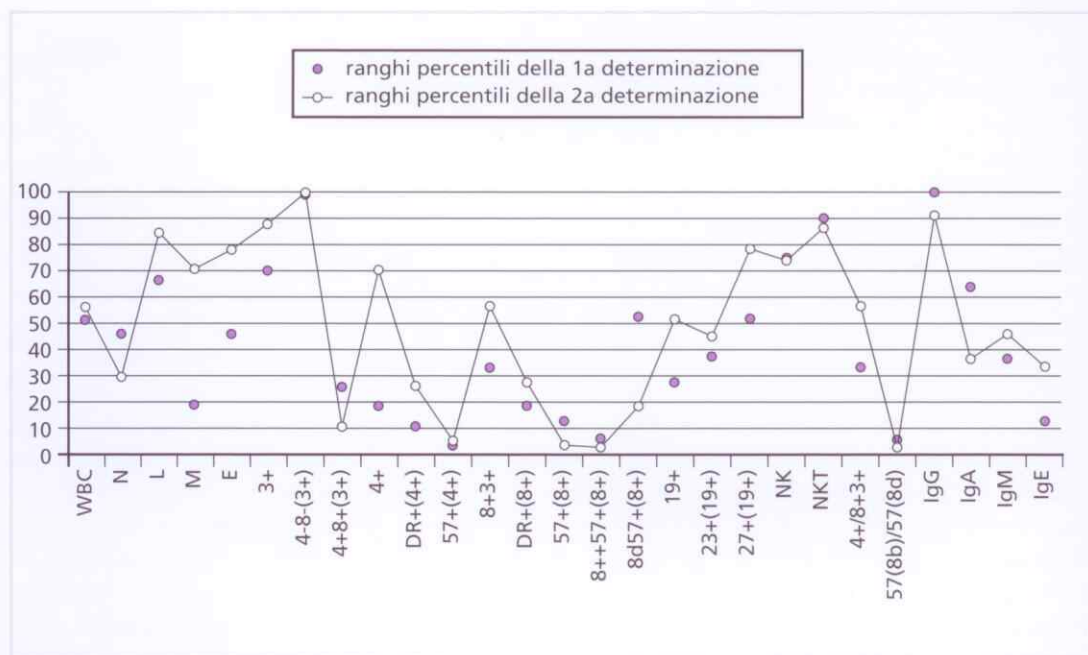


Figura 1. Confronto tra due determinazioni dello stesso soggetto in tempi diversi (ranghi percentili dei valori assoluti).

ca (inclusi genere, razza, abitudini di vita, età, lavoro, abitazione), due o più soggetti i quali mostrano alcuni parametri nelle stesse posizioni. Se di uno o più soggetti che hanno somiglianze ho informazioni cliniche e/o diagnostiche, le similitudini presenti ci suggeriscono in quali direzioni diagnostiche indirizzarsi. La possibilità di eseguire la ricerca informatizzata di queste omologie potrebbe essere di grande aiuto sia per le ipotesi diagnostiche, qualora la diagnosi sia incerta, sia per le risposte a terapie di varia natura.

Qualora si seguisse uno, o meglio, più soggetti prima e dopo una terapia e alcuni di questi avessero risposto bene alla terapia potremmo ipotizzare che un soggetto con pattern simile a quello di coloro che hanno risposto bene, potrebbe avere qualche possibilità in più di essere tra coloro che risponderanno bene. Infatti, da che cosa dipende una buona risposta alla terapia? Dipende sicuramente anche dallo stato di disequilibrio in

cui i sistemi si trovano; se si riesce in qualche modo a evidenziare le varie tipologie (sottogruppi) di disequilibri sulla base di pattern di posizioni di parametri, si possono ottenere informazioni predittive di tipo prognostico sia clinico sia terapeutico.

Creare una banca dati

Quanto detto sopra è possibile attraverso la creazione di una banca dati e di un software realizzato ad hoc. Dal 2000 nel Servizio di Immunologia Clinica si è iniziato a raccogliere e registrare i dati degli esami diagnostici effettuati (studio delle popolazioni e sottopopolazioni linfocitarie), integrandoli, quando disponibili, con altri dati immunologici, non immunologici, clinici, farmacologici.

A oggi la banca dati è costituita da circa 8000 registrazioni. Ognuna di queste raccoglie da un minimo di 30 parametri a un massimo di

200 parametri circa. La maggior parte sono parametri di tipo immunologico (popolazioni dei globuli bianchi, principali popolazioni linfocitarie e, soprattutto, numerose sottopopolazioni linfocitarie, immunoglobuline, autoanticorpi).

Di una buona parte delle registrazioni (circa 1000) sono registrati anche dati sierologici relativi alle comuni infezioni virali erpetiche che più significativamente modificano i parametri immunologici (EBV, CMV, HSV, VZV). Oltre ai dati immunologici, di una parte di soggetti sono presenti anche dati della funzionalità tiroidea e, in alcuni casi, anche surrenalica. Di una parte sono stati raccolti e inseriti anche dati fisiologici (attività lavorativa, fumo, alcol, alimentazione, gravidanze, attività fisica), dati clinici (patologie pregresse, patologie in atto), dati sul trattamento farmacologico (terapie pregresse e terapie attuali). Naturalmente, è previsto per il prosieguo di implementare e completare la banca dati con il maggior numero di informazioni per ciascun paziente.

Riguardo alla clinica, grazie alla numerosità del campione a oggi è possibile costituire circa trenta gruppi. I più rappresentati sono: HIV (1350 soggetti circa: costituiscono una banca dati separata), autoimmunità, artrite reumatoide, immunodeficit, infezioni ricorrenti, autismo, sindrome di down, HCV, allergie, astenia cronica, donatori. Metà circa delle registrazioni appartengono a soggetti diversi, l'altra metà a soggetti di cui si hanno più di una determinazione, anche fino a 15, distribuite negli anni. Questo permette di avere osservazioni dello stesso soggetto nel tempo, monitorandone in tal modo la dinamica.

L'elevata numerosità ed eterogeneità clinica di soggetti mostra la variabilità e la ricchezza di risposte immunologiche che l'intera popolazione è in grado di esprimere. Tutte le sottopopolazioni linfocitarie, sia nei valori percentuali sia nei valori assoluti, variano sensibilmente con l'età, in particolare nelle prime

due decadi di vita e nelle età avanzate, con il sesso e con la razza.

Ritenendo il parametro età la variabile che ha il 'peso' maggiore si è deciso, in questa prima fase, di impostare la selezione dei soggetti in base a questo parametro. Il metodo proposto prevede pertanto il confronto del singolo soggetto con gli altri a lui più vicini per età: precisamente, i 100 soggetti della banca dati che immediatamente lo precedono come età e i 100 soggetti che immediatamente lo seguono come età.

Al confronto con la banca dati in generale abbiamo aggiunto la possibilità di un confronto con il gruppo di appartenenza (qualora noto: per esempio, artrite reumatoide, autismo eccetera) sempre secondo il parametro età. In questo caso abbiamo ridotto i soggetti per il confronto ai 25 immediatamente di età inferiore e ai 25 immediatamente di età superiore, essendo i soggetti appartenenti al gruppo un numero sensibilmente ridotto rispetto alla popolazione generale presente in banca dati.

La banca dati ideale dovrebbe avvicinarsi il più possibile alla popolazione generale. In pratica, dovrebbero essere presenti tutte le condizioni di salute possibili, associate a tutti i vari equilibri omeodinamici che i diversi soggetti adattandosi sono stati in grado di costituire e che sono compatibili con la vita. Ciò richiederebbe un adeguato campionamento statistico che fosse rappresentativo dell'intera popolazione. Ovviamente, ciò non è possibile nel nostro servizio. Né, tuttavia, sarebbe, in tal senso, rappresentativa la sola popolazione di soggetti presunti 'sani'. L'unica condizione di cui si deve tenere conto è quella di un equilibrio: evitare cioè che nelle popolazioni usate come confronto ci siano gruppi o patologie 'troppo' rappresentate. Nel caso della nostra banca dati, il problema si è posto (per ora) solo con i soggetti HIV+ i quali, proprio perché il nostro servizio è un importante centro di riferimento diagnostico, rappresentano una popolazione molto

