

Άννα Καρακάση-Γαρδούνη Χαράλαμπος Α. Κατσούλας
Στυλιανός Α. Μιχαηλίδης

Γ' ΕΠΑ.Λ.

Ειδικότητα: Βοηθός Ιατρικών – Βιολογικών Εργαστηρίων

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ



ΤΟΜΕΑΣ ΥΓΕΙΑΣ - ΠΡΟΝΟΙΑΣ - ΕΥΕΞΙΑΣ

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΡΧΙΚΗΣ ΕΚΔΟΣΗΣ

ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ

Άννα Καρακάση - Γαρδούνη
MD, PhD, Ιατρός Βιοπαθολόγος, Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών, Εκπαιδευτικός ΠΕ 14

Χαράλαμπος Λ. Κατσούλας
Βιολόγος, MSc, Κέντρο Ανοσολογίας και Ανοσοθεραπείας του Καρκίνου, Νοσοκομείο “Ο Άγιος Σάββας”

Στυλιανός Α. Μιχαηλίδης
MD, DTM, FCCP, Ιατρός Πνευμονολόγος - Εντατικολόγος,
Αν. Δ/ντής Πνευμονολογικού Τμήματος Γενικού Νοσοκομείου “Αμαλία Φλέμιγκ”

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΚΡΙΣΗΣ

Πολιτάκη Ελευθερία
Εκπαιδευτικός Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσης, ΠΕ18, Τεχν. Ιατρικών Εργαστηρίων

Ράμμος Γεώργιος
Ιατρός Παθολόγος

Σταματελόπουλος Ιωάννης
Εκπαιδευτικός Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσης, ΠΕ18, Τεχν. Ιατρικών Εργαστηρίων

ΣΥΝΤΟΝΙΣΤΡΙΑ

Ρίζου Ευαγγελία,
Εκπαιδευτικός Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσης, ΠΕ14, Ιατρός Μικροβιολόγος.

ΓΛΩΣΣΙΚΗ ΕΠΙΜΕΛΕΙΑ

Γιαννακόπουλος Δημήτρης
Εκπαιδευτικός Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσης, Φιλολόγος

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Καβαλλάρη Παναγιώτα
Εκπαιδευτικός Πρωτοβάθμιας Εκπαίδευσης

Ενέργεια 2.3.2: “Ανάπτυξη των Τ.Ε.Ε και Σ.Ε.Κ.”

ΠΑΙΔΑΓΩΓΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ

Σταμάτης Αλαχιώτης

Καθηγητής Γενετικής Πανεπιστημίου Πατρών

Πρόεδρος του Παιδαγωγικού Ινστιτούτου

Έργο:

“Βιβλία Τ.Ε.Ε.”

- Επιστημονικός Υπεύθυνος του Έργου

Γεώργιος Βούτσινος

Σύμβουλος του Παιδαγωγικού Ινστιτούτου

- Υπεύθυνη του Τομέα Υγείας και Πρόνοιας

Ματίνα Στάππα, Οδοντίατρος

Πάρεδρος ε.θ. του Παιδαγωγικού Ινστιτούτου

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΑΝΕΚΔΟΣΗΣ

Η επανέκδοση του παρόντος βιβλίου πραγματοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Τεχνολογίας Υπολογιστών & Εκδόσεων «Διόφαντος» μέσω ψηφιακής μακέτας.

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ, ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗΣ ΠΟΛΙΤΙΚΗΣ

Άννα Καρακάση-Γαρδούνη Χαράλαμπος Α. Κατσούλας Στυλιανός Α. Μιχαηλίδης

Η συγγραφή και η επιστημονική επιμέλεια του βιβλίου πραγματοποιήθηκε
υπό την αιγίδα του Παιδαγωγικού Ινστιτούτου

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ

Γ'ΕΠΑ.Λ.

Ειδικότητα: Βοηθός Ιατρικών - Βιολογικών Εργαστηρίων

ΤΟΜΕΑΣ ΥΓΕΙΑΣ - ΠΡΟΝΟΙΑΣ - ΕΥΕΞΙΑΣ



ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ ΚΑΙ ΕΚΔΟΣΕΩΝ «ΔΙΟΦΑΝΤΟΣ»

Τα σκίτσα του βιβλίου επιμελήθηκε ο Παναγιώτης Α. Καραστατέρης,
Graphic Designer, SPOT Graphics.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1°

ΑΝΤΙΓΟΝΑ - ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ	13
1.1 Αντιγόνα	13
1.1.1 Γενικά	13
1.1.2 Ιδιότητες των αντιγόνων	14
1.1.3 Καθοριστικές ομάδες ενός αντιγόνου.....	15
1.1.4. Διάκριση των αντιγόνων	16
1.2 Αντισώματα	18
1.2.1. Γενικά	18
1.2.2. Τάξεις των ανοσοσφαιρινών	24
ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	28
ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	30

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2°

ΧΥΜΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ	31
2.1 Ανοσία-γενικά.....	31
2.1.1 Τι είναι η ανοσία.....	31
2.1.2 Διάκριση της ανοσίας	31
2.1.3 Χαρακτηριστικά της ειδικής ανοσίας	34
2.2. Χυμική και κυτταρική ανοσία	36
2.2.1 Γενικά	36
2.2.2 Διάκριση των λεμφικών οργάνων	38
2.2.3 Λεμφοκύτταρα	42
2.2.4 Διαφορές Τ-λεμφοκυττάρων και Β-λεμφοκυττάρων	45
ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	46
ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	47

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3°

ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ.....	49
--------------------	----

3.1	Ορισμός.....	49
3.2	Φαγοκύτταρα.....	50
3.3	Σύστημα Μονοπύρηνων - Μακροφάγων.....	50
3.4	Ουδετερόφιλα - Πολυμορφοπύρηνια	52
3.5	Χημειοταξία.....	54
	ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	58
	ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	59

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4°

	ΤΟ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ	61
4.1	Γενικά.....	61
4.2	Ενεργοποίηση του συμπληρώματος.....	64
4.3.	Η σημασία του συμπληρώματος	67
	ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	69
	ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	70

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5°

	ΑΛΛΕΡΓΙΑ - ΥΠΕΡΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	71
5.1	Γενικά για τις αλλεργίες	71
5.2	Αλλεργιογόνα.....	77
5.3	Διάκριση αντιδράσεων υπερευαισθησίας.....	80
	ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	82
	ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	83

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6°

	ΕΜΒΟΛΙΑ ΚΑΙ ΟΡΟΙ.....	85
6.1	Τρόποι ανοσοποίησης του οργανισμού	85
6.2	Εμβόλια.....	87
6.3	Οροί	91
	ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	93
	ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	94

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7°

	ΜΕΙΖΟΝ ΣΥΣΤΗΜΑ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ.....	95
7.1	Τι είναι ιστοσυμβατότητα.....	95
7.2	HLA αντιγόνα.....	100
7.3	Πρακτικές εφαρμογές των HLA.....	102
	ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	105
	ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	106

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8°

ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ.....	107
8.1 Τι είναι και πώς παράγονται.....	107
8.2 Εφαρμογές.....	108
ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ.....	111
ΑΣΚΗΣΕΙΣ - ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ.....	111

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9°

ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ.....	113
9.1. Γενικά.....	113
9.2. Διάκριση αυτοανόσων νοσημάτων.....	114
9.3. Αυτοαντισώματα.....	115
9.3.1 Αυτοαντισώματα εναντίον ειδικών αντιγόνων των οργάνων.....	115
9.3.2 Αυτοαντισώματα εναντίον μη ειδικών αντιγόνων των οργάνων.....	115
9.4 Αυτοάνοσα νοσήματα.....	119
9.4.1 Οργανοειδικά Αυτοάνοσα Νοσήματα.....	120
9.4.2 Συστηματικά Αυτοάνοσα Νοσήματα.....	121
ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ.....	123
ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ.....	124

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10°

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ - ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ IN VITRO.....	129
10.1. Γενικά.....	129

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11°

ΙΖΗΜΑΤΙΝΟΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ.....	131
11.1 Γενικά.....	131
11.2 Ιζηματοαντιδράσεις σε υγρό μέσο.....	131
11.3 Ιζηματοαντιδράσεις σε πηκτή (γέλη).....	133
ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ.....	143
ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ.....	144

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12°

ΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΝΟΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ.....	145
12.1 Γενικά.....	145

12.2	Φαινόμενο προζώνης.....	147
12.3	Μικροβιακή συγκόλληση.....	149
12.4	Συγκόλληση Latex.....	149
12.5	Παθητική αιμοσυγκόλληση.....	151
12.6	Αντίδραση Coombs.....	151
12.6.1	Άμεση Coombs	151
12.6.2	Έμμεση Coombs	152
	ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	154
	ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	155

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13°

	ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ	157
13.1	ASTO.....	157
13.1.1	Προσδιορισμός ASTO με τη μέθοδο αναστολής της αιμόλυσης	157
13.1.2	Προσδιορισμός ASTO με τη μέθοδο latex.....	159
13.2	CRP.....	159
13.2.1	Προσδιορισμός CRP με τη μέθοδο latex.....	159
13.3	Ρευματοειδής Παράγοντας (RF)	160
13.3.1	RA test - δοκιμή latex	160
13.3.2	Ημιποσοτική RA δοκιμή	161
13.4	Mono test.....	161
13.5	Widal	162
13.5.1	Widal σε σωληνάρια:	163
13.5.2	Widal σε πλάκα	164
13.6	Wright.....	164
13.6.1	Wright σε σωληνάρια	165
13.6.2	Wright σε πλάκα.....	166
13.6.3	Wright Coombs.....	167
13.7	VDRL.....	167
13.8	RPR.....	168
	ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	169
	ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	170

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 14°

	ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΥΝΔΕΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ	171
14.1	Αντίδραση Wasserman	171
	ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	174
	ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	175

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 15°

ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΣΕΣΗΜΑΣΜΕΝΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ Ή ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ	177
15.1 Γενικά για τα φθοριοχρώματα, ραδιοϊσότοπα και ένζυμα	177
15.2 Ανοσοφθορισμός	177
15.3 Ραδιοανοσολογική μέθοδος (RIA)	179
15.4 Ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA)	181
15.5 Νεότερες Μέθοδοι	183
15.5.1 Νεφελομετρία	184
15.5.2 Θολερομετρία	185
15.5.3 Αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR)	185
15.5.4 Ανοσοαποτύπωμα (WESTERN BLOT)	187
ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	190
ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	192

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 16°

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥΣ	193
16.1 Προσδιορισμός του αριθμού των λεμφοκυττάρων	193
16.2 Επιφανειακοί δείκτες των λεμφοκυττάρων	197
16.3 Ποσοτικός προσδιορισμός των πληθυσμών των Β και Τ λεμφοκυττάρων με ανίχνευση αντιγόνων επιφανείας τους (Κυτταρομετρία Ροής)	199
ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	200
ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	201

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 17°

ΗΛΑ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ	203
17.1 Γενικά	203
17.2 Ταυτοποίηση των ΗΛΑ	203
ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ	210
ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ	211
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	213

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η Ανοσολογία είναι σχετικά νέα ιατρική επιστήμη. Ξεκίνησε σαν κλάδος της μικροβιολογίας που είχε ως αντικείμενο τη διάγνωση και προφύλαξη από τα λοιμώδη νοσήματα και συγκεκριμένα την παρασκευή αντιορών και εμβολίων. Με την τεράστια όμως πρόοδο που επιτελέστηκε στη βιοχημεία, τη μοριακή βιολογία και τη βιοτεχνολογία, η Ανοσολογία γνώρισε αλματώδη ανάπτυξη και εξελίχθηκε σε μια ανεξάρτητη επιστήμη με ευρύτατο περιεχόμενο και σκοπούς.

Η Ανοσολογία ασχολείται με το ανοσολογικό σύστημα, ένα σύστημα πολύπλοκο, υπεύθυνο για την άμυνα του οργανισμού απέναντι στις βλαπτικές επιδράσεις του περιβάλλοντος. Μελετά τη δομή και λειτουργία του, μέσω της δράσης εξειδικευμένων κυττάρων και πολύπλοκων μηχανισμών. Ασχολείται με την εφαρμογή των γνώσεων στην κατανόηση και θεραπεία νοσημάτων και επεκτείνεται σ' ένα ευρύ φάσμα πεδίων της ιατρικής όπως η ανοσοαιματολογία, η ανοσοπαθολογία, οι μεταμοσχεύσεις, οι νεοπλασίες, η ανοσογενετική, η ανοσοθεραπεία. Εφαρμόζει επίσης σύγχρονες ανοσολογικές μεθόδους και τεχνικές για ερευνητικούς και διαγνωστικούς σκοπούς.

Το βιβλίο αυτό, αποσκοπεί στο να προσφέρει **βασικές γνώσεις και αρχές Ανοσολογίας**. Γράφτηκε σύμφωνα με το καθορισμένο Αναλυτικό Πρόγραμμα του μαθήματος και χωρίζεται σε δυο μέρη. Στο πρώτο μέρος (θεωρητικό) περιγράφεται η δομή και λειτουργία του ανοσολογικού συστήματος ενώ στο δεύτερο μέρος (εργαστηριακό) παρουσιάζονται οι ανοσολογικές μέθοδοι και τεχνικές που χρησιμοποιούνται σήμερα στα ανοσολογικά εργαστήρια. Τα κεφάλαια επιμελήθηκαν οι Στυλιανός Μιχαηλίδης: Αντιγόνα-Αντισώματα, Χημική & Κυτταρική ανοσία, Συμπλήρωμα, Αλλεργία-Υπερευαισθησία, Εμβόλια και Οροί, Μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας. Χαράλαμπος Κατσούλας: Φαγοκυττάρωση, Μονοκλωνικά αντισώματα, Μέθοδοι με χρήση σεσημασμένου αντιγόνου ή αντισώματος, Προσδιορισμός των λεμφοκυττάρων & των υποπληθυσμών τους, HLA-ταυτοποίηση. Άννα Καρακάση – Γαρδούνη: Αυτοάνοσα νοσήματα, Αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος *in vitro*, Ιζηματοαντιδράσεις, Συγκολλητινοαντιδράσεις, Ορολογικές αντιδράσεις, Αντιδράσεις συνδέσεως του συμπληρώματος.

Σταθερό δίλημμα των συγγραφέων κατά την εκπόνησή του ήταν, κατά πόσον πρέπει να παραλειφθούν (ή να υπεραπλουστευθούν) κάποια σύγχρονα δεδομένα χάριν της ευκολότερης κατανόησης, ή να παρατεθούν ορισμένα στοιχεία των νεότερων εξελίξεων σε βάρος όμως της απλότητας του κειμένου. Ο συνδυασμός των δυο αυτών παιδαγωγικών επιλογών (της επάρκειας και της απλότητας) δεν ήταν πάντα εφικτός.

Αναμφίβολα, η κατανόηση κάποιων εννοιών προαπαιτεί από τον μαθητή να ανατρέξει και να θυμηθεί έννοιες που έχει διδαχθεί σε άλλα συναφή μαθήματα (Βιολογία, Χημεία, Ανατομία κλπ).

Η απόδοση στα ελληνικά ξενόγλωσσων όρων, ήταν πολλές φορές δύσκολη, δεδομένης και της σχετικής ανομοιομορφίας στην ελληνική βιβλιογραφία και δεν αποκλείεται μερικοί όροι να αποδίδονται διαφορετικά από άλλους συγγραφείς. Προκειμένου να βοηθηθεί ο μαθητής στην κατανόηση και εποπτική εμπέδωση των πληροφοριών, καταβλήθηκε προσπάθεια να εμπλουτιστεί το βιβλίο με πλούσια έγχρωμη εικονογράφηση, ώστε το όλο έργο να είναι διδακτικά αποτελεσματικό και ευχάριστο.

Φιλοδοξία και προσπάθεια των συγγραφέων ήταν να γίνει το βιβλίο όσο το δυνατόν πιο κατανοητό (εγχείρημα πολλές φορές ιδιαίτερα δύσκολο, λόγω της πολυπλοκότητας των θεμάτων), ώστε να κατορθώσει να εισαγάγει τον αναγνώστη στην συναρπαστική αυτή επιστήμη, μια από τις πιο γοητευτικές αλλά και πολύπλοκες σύγχρονες ιατρικές επιστήμες.

Οι συγγραφείς

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΑΝΤΙΓΟΝΑ - ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

1.1 Αντιγόνα

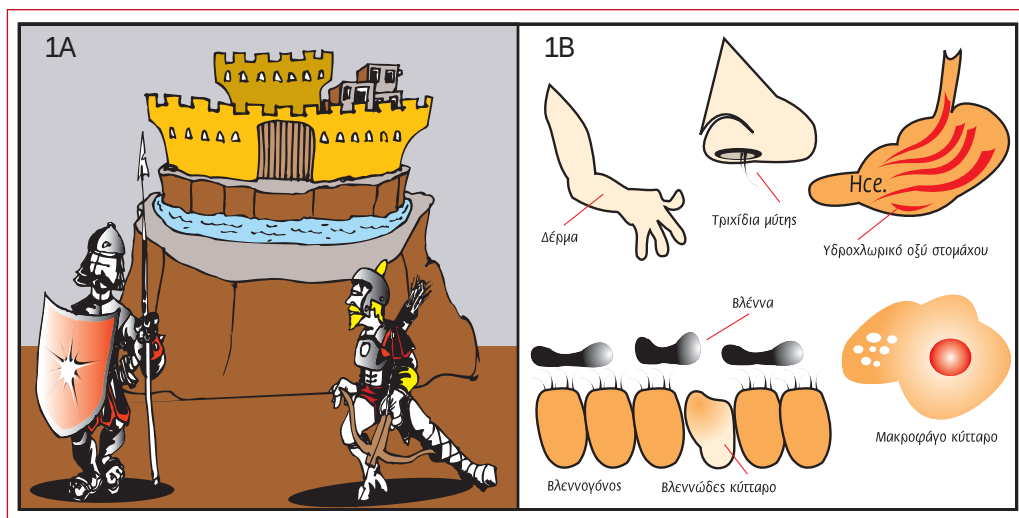
1.1.1 Γενικά

Η **Ανοσολογία** είναι ο κλάδος της επιστήμης που εξετάζει τον τρόπο λειτουργίας του ανοσολογικού συστήματος και στην αρχή ξεκίνησε ως μελέτη του τρόπου που ο οργανισμός μας αντιστέκεται στα λοιμώδη νοσήματα. Σήμερα πια η ανοσολογία επεκτάθηκε σε πολλούς άλλους τομείς και μελετά μεταξύ άλλων, τους τρόπους άμυνας στην ανάπτυξη όγκων, τον τρόπο που αντιδρά ο οργανισμός στη μεταμόσχευση ενός οργάνου, τις διαταραχές του ανοσολογικού συστήματος (ανοσολογικές ανεπάρκειες), τους τρόπους ενίσχυσής του (εμβόλια), την ανοσοθεραπεία κλπ.

Το **ανοσολογικό σύστημα** του οργανισμού μας είναι ένα οργανωμένο αμυντικό σύστημα που αποτελείται από διάφορες ομάδες κυττάρων τοποθετημένων σε στρατηγικές θέσεις στο σώμα και έχει ως στόχο την προστασία μας από βλαπτικούς παράγοντες, όπως οι μικροοργανισμοί, οι τοξίνες ή άλλοι χημικοί παράγοντες με τους οποίους μπορεί να έρθουμε σε επαφή.

Η άμυνα του συστήματος σε τέτοιου είδους "επιθέσεις" είναι δύο ειδών:

- 1) **Μη ειδική**, στην οποία γίνεται αντιληπτός ο εισβολέας και αντιμετωπίζεται με γενικά μέτρα, χωρίς να γίνεται ειδική αναγνώρισή του. Θα μπορούσαμε να την παρομοιάσουμε με τους τρόπους που οχυρωνόταν μια πόλη σε εποχές που υπήρχαν πολλές επιδρομές (π.χ. χτίσιμο σε ύψωμα, οχύρωση με τείχη, παρεμβολή τάφρου, περιπολίες και σκοποί γύρω-γύρω). Έτσι, στη μη ειδική ανοσία, ο οργανισμός έχει τοποθετήσει φραγμούς και εμπόδια στην προσέγγιση βλαπτικών παραγόντων (δέρμα, βλεννογόνοι), παγίδες για να τους καθηλώνει ή να τους καταστρέφει (τρίχες στη μύτη, βλέννα στους βλεννογόνους, υδροχλωρικό οξύ στο στομάχι) και περιπόλους άγρυπνων στρατιωτών (κύτταρα που συλλαμβάνουν και φαγοκυτταρώνουν σωματίδια ή μικροοργανισμούς (κεφ. 2^ο και 3^ο) (βλ. εικόνα 1.1)
- 2) **Ειδική**, στην οποία πραγματοποιείται ακριβής αναγνώριση του εισβολέα και δημιουργείται εξειδικευμένη αντιμετώπισή του (π.χ. δημιουργία ειδικού αντισώματος που να τον εξουδετερώσει). Το ανοσολογικό σύστημα έχει τον τρόπο να ξεχωρίζει αν κάποια ουσία με την οποία ερχόμαστε σε επαφή, είναι ίδια με εκείνες που αποτελούν συστατικά του οργανισμού ή ξένη, όπως οι στρατιώτες μπορούν να αναγνωρίσουν ένα μέλος του εχθρικού στρατού από τη διαφορετική στολή του. Η ικανότητα της αναγνώρισης μιας ουσίας σαν "ξένης" μαζί με την ικανότητα διατήρησης της ανάμνησής της σε κάθε καινούρια επαφή με την ουσία (ανοσολογική μνήμη) καθώς και η δυνατότητα δημιουργίας μιας ειδικής αντίδρασης σ' αυτό, αποτελούν τις θεμελιώδεις ιδιότητες του ανοσολογικού μας συστήματος (κεφ. 2^ο).



Εικόνα 1.1: Αντιστοιχία του τρόπου γενικής οχύρωσης μιας πόλης (1Α) με τους μηχανισμούς μη ειδικής ανοσίας (1Β).

Η ειδική αντίδραση του ανοσολογικού συστήματος σε κάποιο παράγοντα που εισέρχεται στον οργανισμό χαρακτηρίζεται από την παραγωγή εξειδικευμένων **πρωτεϊνών** (αντισώματα ή ανοσοσφαιρίνες) και/ή κάποιων εξειδικευμένων **λεμφοκυττάρων** (Τ-λεμφοκύτταρα) που προορίζονται ειδικά για την αντιμετώπιση του παράγοντα αυτού. Έτσι κάθε ουσία η οποία είναι σε θέση να διεγείρει το ανοσολογικό σύστημα ώστε να δημιουργεί μια ειδική αντίδραση εναντίον της ονομάζεται **αντιγόνο** (Ag). Πολλές φορές χρησιμοποιούμε τον όρο ανοσογόνο, όταν θέλουμε να τονίσουμε ότι μια ουσία είναι ικανή από μόνη της να προκαλέσει ειδική ανοσολογική αντίδραση χωρίς προηγούμενως να ενωθεί με άλλη ουσία (όπως συμβαίνει με μια ομάδα αντιγόνων που λέγονται απτίνες και θα εξετάσουμε πιο κάτω). Πολλές φορές όμως οι όροι αυτοί χρησιμοποιούνται στην πράξη με την ίδια έννοια, δηλαδή της πρόκλησης μιας ειδικής αντίδρασης από το ανοσολογικό μας σύστημα.

1.1.2 Ιδιότητες των αντιγόνων

Τα αντιγόνα είναι ουσίες με μεγάλο μόριο, συνήθως πρωτεΐνες, πολυπεπτίδια ή πολυσακχαρίτες και έχουν κάποιες ιδιότητες οι οποίες τους δίνουν τη δυνατότητα να προκαλούν την ειδική ανοσολογική αντίδραση (αντιγονικότητα ή ανοσογονικότητα).

Οι ιδιότητες των αντιγόνων είναι οι εξής:

- η διαφορετική τους σύσταση σε σχέση με τις ουσίες που αποτελούν τα δομικά ή λειτουργικά στοιχεία του ίδιου του οργανισμού μας, έτσι ώστε αυτά να αναγνωρίζονται σαν "ξένα",
- το μεγάλο μέγεθος του μορίου. Αυτό γιατί, όσο πιο μεγάλο είναι το μοριακό βάρος μιας ουσίας τόσο αυξάνεται η πιθανότητα να είναι πιο πολλές οι περιοχές με δραστικές ομάδες (οι λεγόμενες καθοριστικές ομάδες που θα εξετάσουμε πιο κάτω) και στις οποίες οφείλεται η διέγερση του ανοσολογικού συστήματος
- η πολυπλοκότητα στη χημική σύσταση που δημιουργεί μια ξεχωριστή μορφή του μορίου στο χώρο

έτσι ώστε να δημιουργούνται ιδιόμορφες περιοχές στην επιφάνεια του μορίου που να χρησιμεύουν ως δραστικές ομάδες,

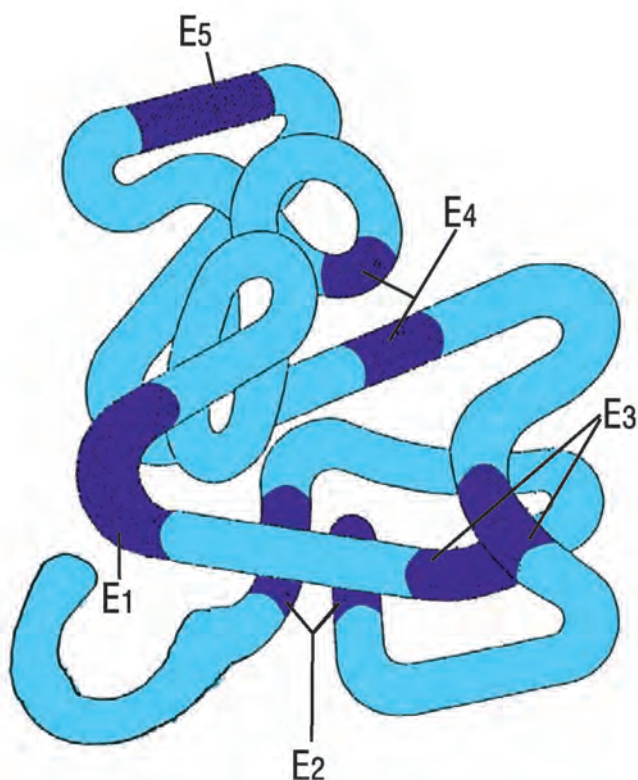
- δ) ο μεταβολισμός των αντιγόνων από τον οργανισμό, δηλαδή η διάσπαση, τροποποίηση ή και αποβολή τους που φαίνεται ότι είναι απαραίτητη για να διεγείρουν το ανοσολογικό σύστημα
- ε) η ύπαρξη εξειδίκευσης, με την έννοια ότι τα αντιγόνα διαθέτουν στην επιφάνεια του μορίου τους αυτές τις δραστικές ομάδες (καθοριστικές ομάδες), των οποίων η ξεχωριστή σύσταση και μορφή είναι υπεύθυνη για την ειδική αντίδραση του ανοσολογικού συστήματος που στρέφεται αποκλειστικά εναντίον αυτών των συγκεκριμένων ομάδων.

1.1.3 Καθοριστικές ομάδες ενός αντιγόνου

Αυτές οι δραστικές ομάδες στην επιφάνεια του μορίου των αντιγόνων οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη διέγερση του ανοσολογικού συστήματος ονομάζονται **καθοριστικές ομάδες** ή **επίτοποι**. Με τη διέγερση αυτή, ο οργανισμός μπορεί να παράγει αντισώματα, ουσίες δηλαδή που στρέφονται εναντίον του αντιγόνου και αντιδρούν με αυτό. Τα αντισώματα θα αντιδράσουν *μόνο* με αυτές τις συγκεκριμένες περιοχές στην επιφάνεια του αντιγόνου (καθοριστικές ομάδες) και όχι με ολόκληρο το μόριο ή άλλες περιοχές του. Θα μπορούσαμε να φανταστούμε αυτές τις καθοριστικές ομάδες σαν διαφορετικές «κλειδαριές» στην επιφάνεια του αντιγόνου στις οποίες εφαρμόζει (σύνδεση) και μπορεί να ξεκλειδώσει (αντίδραση) το κατάλληλο «κλειδί» (αντίσωμα). Κάθε αντιγόνο μπορεί να διαθέτει αρκετές και διαφορετικές μεταξύ τους καθοριστικές ομάδες (επιτόπους).

Κάθε είδος καθοριστικής ομάδας μπορεί να συνδέεται με διαφορετικό αντίσωμα, όπως κάθε διαφορετική κλειδαριά ανοίγει με διαφορετικό κλειδί. Αυτός είναι και ο λόγος που τα αντιγόνα χαρακτηρίζονται σαν *πολυσθενή* ή *πολυδύναμα* γιατί έχουν τη δυνατότητα να συνδεθούν με διαφορετικά αντισώματα. Με τον όρο σθένος ή ισχύς του αντιγόνου θα εννοούμε τον αριθμό των διαφορετικών καθοριστικών ομάδων που διαθέτει.

Η καθοριστική ομάδα ή επίτοπος καταλαμβάνει μια περιοχή πάνω στην επιφάνεια του μορίου του αντιγόνου. Εδώ θα πρέπει να σημειώσουμε ότι μερικοί επίτοποι (καθοριστικές ομάδες) μπορεί να μη βρίσκονται στην επιφάνεια του μορίου του αντιγόνου αλλά στο εσωτερικό του μέρος μια και το μόριο μοιάζει συνήθως σαν μια μπάλα από νήματα που διπλώνονται και τυλίγονται φτιάχνοντας μια χαλαρή κουβαρίστρα (εικ.1.2). Αυτοί οι εσωτερικοί επίτοποι απελευθερώνονται και γίνονται δραστικοί όταν ο οργανισμός διασπάσει το μόριο του αντιγόνου σε κομμάτια.



Εικόνα 1.2: Διαμόρφωση στο χώρο ενός αντιγονικού μορίου (λυσοζύμης) που δείχνει τις θέσεις των 5 διαφορετικών επιτόπων (E1-E5). Στη περίπτωση αυτή το αντιγόνο είναι πεντασθενές (πολυδύναμο).

1.1.4. Διάκριση των αντιγόνων

Είδαμε ότι τα αντιγόνα είναι μεγάλα μόρια, συνήθως πρωτεΐνες ή πολυσακχαρίτες των οποίων η ικανότητα να διεγείρουν το ανοσολογικό σύστημα οφείλεται στις καθοριστικές ομάδες και ότι αυτές οι συγκεκριμένες ομάδες είναι που αντιδρούν και συνδέονται με τα αντισώματα που μπορεί να παραχθούν.

Αυτά τα αντιγόνα, έτσι όπως τα περιγράψαμε τα ονομάζουμε **πλήρη ή τέλεια αντιγόνα**, προκειμένου να τα ξεχωρίσουμε από μια άλλη ομάδα αντιγόνων, **τις απτίνες ή ατελή αντιγόνα**, που έχουν μικρό μόριο και από μόνες τους δεν μπορούν να διεγείρουν το ανοσολογικό σύστημα παρά μόνο αν συνδεθούν με ένα μεγάλο μόριο (φορέα) όπως π.χ. μια πρωτεΐνη του αίματος. Αν λοιπόν δημιουργηθούν αντισώματα από την ανοσολογική διέγερση που προκάλεσε μόριο απτίνης-φορέα, τότε αυτά είναι σε θέση να ενωθούν με την απτίνη, χωρίς την παρουσία του φορέα.

Στη πραγματικότητα, οι απτίνες είναι μόρια των οποίων η σύσταση είναι ίδια με αυτή που έχουν οι καθοριστικές ομάδες ενός πλήρους αντιγόνου, για τις οποίες ξέρουμε ήδη ότι είναι υπεύθυνες για την δημιουργία της ανοσολογικής αντίδρασης του οργανισμού και ότι αυτές είναι που αντιδρούν με το αντίσωμα. Ο λόγος για τον οποίο μόνες τους οι απτίνες, δεν μπορούν να προκαλέσουν ανοσολογική απάντηση, είναι ότι για να πάρουν τη δραστική τους μορφή πρέπει να βρίσκονται σε σύνδεση με το μόριο φορέα. Σε περίπτωση όμως, που ο οργανισμός έχει προηγουμένως έρθει σε επαφή με μόριο απτίνης-φορέα και το οποίο είχε προκαλέσει την παραγωγή αντισώματος, τότε σε μελλοντική είσοδο της απτίνης και μόνο (χωρίς το φορέα), το αντίσωμα που προϋπάρχει θα συνδεθεί με την απτίνη χωρίς την παρουσία του φορέα. Για να το εκφράσουμε με διαφορετικό τρόπο: Η απτίνη για να δράσει ως αντιγόνο χρειάζεται να συνδεθεί με ένα μεγάλο μόριο-φορέα. Αν όμως υπάρχει ήδη στον οργανισμό το αντίστοιχο αντίσωμα (από προηγούμενη π.χ. έκθεση σε αντιγόνο) τότε η σύνδεση απτίνης αντισώματος δεν απαιτεί την παρουσία του μορίου φορέα. (Βλ. πίνακα 1.1)

Πίνακας 1.1: Διάκριση πλήρους αντιγόνου και απτίνης

Πλήρη ή τέλεια αντιγόνα: Μεγαλομοριακές ουσίες που μπορούν να προκαλέσουν από μόνες τους ανοσολογική αντίδραση στον οργανισμό.

Απτίνες ή ατελή αντιγόνα: Μικρομοριακές ουσίες που δεν μπορούν από μόνες τους να προκαλέσουν ανοσολογική αντίδραση παρά μόνο αν έχουν συνδεθεί με ένα μεγάλο μόριο-φορέα. Μπορούν όμως να ενωθούν με τα αντισώματα ή τους υποδοχείς των λεμφοκυττάρων όταν αυτά έχουν ήδη δημιουργηθεί.

Στον πίνακα 1.2 φαίνονται μερικά παραδείγματα ουσιών που μπορούν στον οργανισμό να δράσουν σαν πλήρη αντιγόνα ή σαν απτίνες.

Πίνακας 1.2: Παραδείγματα πλήρων αντιγόνων και απτινών

ΠΛΗΡΗ ΑΝΤΙΓΟΝΑ	ΑΠΤΙΝΕΣ
Ινσουλίνη	Πενικιλίνη
Γαστρίνη	Ασπιρίνη
Καλσιτονίνη	Σουλφοναμίδη
Αντιδιουρητική ορμόνη	Γενταμικίνη

1.2 Αντισώματα

1.2.1 Γενικά

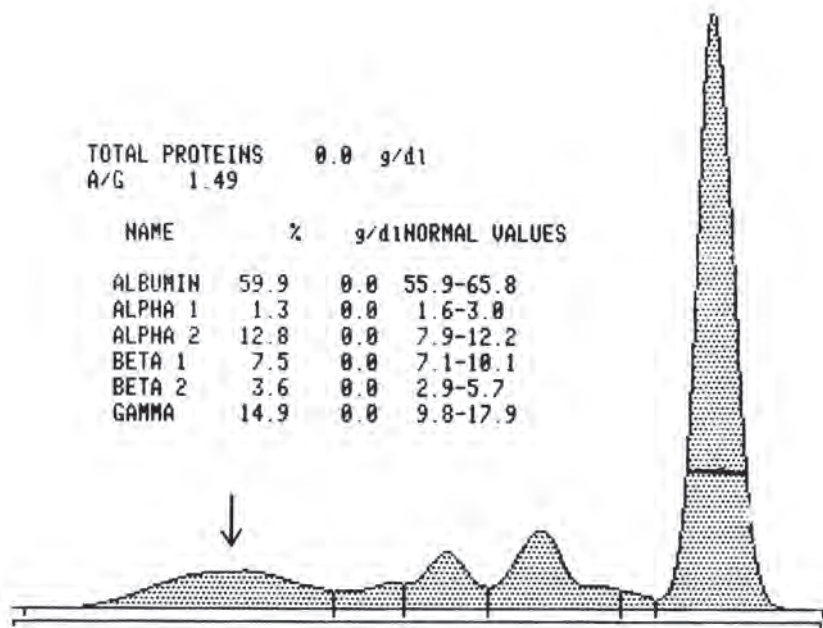
Όπως αναφέρθηκε, όταν μια ουσία με ιδιότητες αντιγόνου, έρθει σε επαφή με τον οργανισμό μας ή ει-σχωρήσει μέσα σε αυτόν τότε διεγείρει το ανοσολογικό σύστημα ώστε να αντιδράσει με ειδικό τρόπο (βλ. ειδική ανοσία). Αναγνωρίζοντας την ουσία σαν "ξένη" μπορεί α) να παραγάγει εξειδικευμένες πρωτεΐνες που να στρέφονται εναντίον του συγκεκριμένου αντιγόνου (παραγωγή αντισωμάτων) ή β) να παραγάγει εξειδικευμένα λεμφοκύτταρα που κι αυτά να προορίζονται για την εξουδετέρωση του αντιγόνου.

Τα **αντισώματα** (Ab) ή αλλιώς **ανοσοσφαιρίνες** (Ig) είναι πρωτεΐνες που παράγονται από τα Β-λεμ-φοκύτταρα ή τα πλασματοκύτταρα ως αντίδραση του ανοσολογικού συστήματος στην είσοδο ενός αντι-γόνου και οι οποίες προορίζονται για να αντιδράσουν ειδικά με το συγκεκριμένο αντιγόνο. Αυτή η συγκεκριμένη μορφή αντίδρασης του οργανισμού ανήκει στην λεγόμενη **χυμική ανοσία** (βλ κεφάλαιο 2°), διότι το προϊόν που παράγεται για να αντιμετωπίσει την ξένη ουσία με την οποία ήρθε σε επαφή (αντίσωμα), κυκλοφορεί στους "χυμούς" του σώματος δηλαδή το αίμα, το υγρό των ιστών και το εξωκυττάριο υγρό. Τα αντισώματα λέγονται και ανοσοσφαιρίνες γιατί είναι πρωτεΐνες με σφαιρικό σχήμα που προέρχεται από την αναδίπλωση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων τους, έτσι ώστε να σχηματίζεται μια μπάλα. Οι ανοσο-σφαιρίνες (αντισώματα) που κυκλοφορούν στο αίμα μας ανευρίσκονται στο κλάσμα των γ-σφαιρινών του ορού.

Όπως είναι γνωστό όλες οι πρωτεΐνες που μεταφέρονται από το αίμα μας μπορούν να διαχωρισθούν σε διάφορες κατηγορίες με τη μέθοδο της **ηλεκτροφόρησης**. Η μέθοδος αυτή τις ξεχωρίζει από τη διαφο-ρετική ταχύτητα με την οποία κινούνται, όταν βρεθούν μέσα σε ένα ηλεκτρικό πεδίο. Έτσι, οι πρωτεΐνες του ορού χωρίζονται στις λευκωματίνες και τις α1-, α2-, β1-, β2- και γ-σφαιρίνες. Η ποσοτική μέτρηση της κάθε κατηγορίας πρωτεϊνών γίνεται με τη χρήση ειδικής συσκευής που λέγεται πυκνόμετρο (densitometer) - βλ. εικόνες 1.3 και 1.4.

Σε κάθε είδος ζώου οι ανοσοσφαιρίνες (αντισώματα) διακρίνονται σε τάξεις ή κατηγορίες, ανάλογα με τη χημική τους δομή και όχι ανάλογα με την ειδικότητα που παρουσιάζουν στην αντίδραση με κάποια αντι-γόνα. Στον άνθρωπο οι κύριες κατηγορίες ή τάξεις ανοσοσφαιρινών είναι η G, M, A, D και E, και συμβο-λίζονται με τα αρχικά IgG, IgA, IgM, IgD και IgE (όπου Ig είναι ο συμβολισμός για τη λέξη Immunoglobulin =ανοσοσφαιρίνη).

Παρά τις διαφορές μεταξύ των διαφόρων τάξεων των ανοσοσφαιρινών υπάρχει μια γενική χημική δομή που είναι κοινή σε όλες: Κάθε μόριο ανοσοσφαιρίνης αποτελείται από τέσσερις **πολυπεπτιδικές αλυσίδες**: ένα ζευγάρι πανομοιότυπες **βαριές αλυσίδες** και ένα ζευγάρι πανομοιότυπες **ελαφριές αλυσίδες**, που συμβολίζονται αντίστοιχα με τα αγγλικά γράμματα H και L (heavy και light). Κάθε βαριά αλυσίδα αποτελείται περίπου από 400 αμινοξέα ενώ κάθε ελαφριά από περίπου 200 και έτσι οι βαριές αλυσίδες έχουν σχεδόν διπλάσιο μοριακό βάρος από τις ελαφριές. Πρέπει ακόμα να σημειώσουμε ότι υπάρχουν δύο τύποι ελαφριών αλυσίδων που συμβολίζονται με τα γράμματα κ και λ, αλλά σε κάθε μόριο ανοσο-σφαιρίνης και οι δυο ελαφριές αλυσίδες είναι του ίδιου τύπου (δηλαδή είτε 2 κ είτε 2 λ). Κατά ανάλογο τρόπο και οι βαριές αλυσίδες διακρίνονται σε 5 τύπους (γ, μ, α, δ και ε) και σε κάθε μόριο οι δυο βαριές



Εικόνα 1.3: Χαρακτηριστικό ηλεκτροφορητικό διάγραμμα ηλεκτροφόρησης πρωτεϊνών του ορού. Το βέλος δείχνει την περιοχή των γ-σφαιρινών.



Εικόνα 1.4: Συσκευή ποσοτικού προσδιορισμού των διαφόρων κατηγοριών των πρωτεϊνών του ορού (Densitometer).

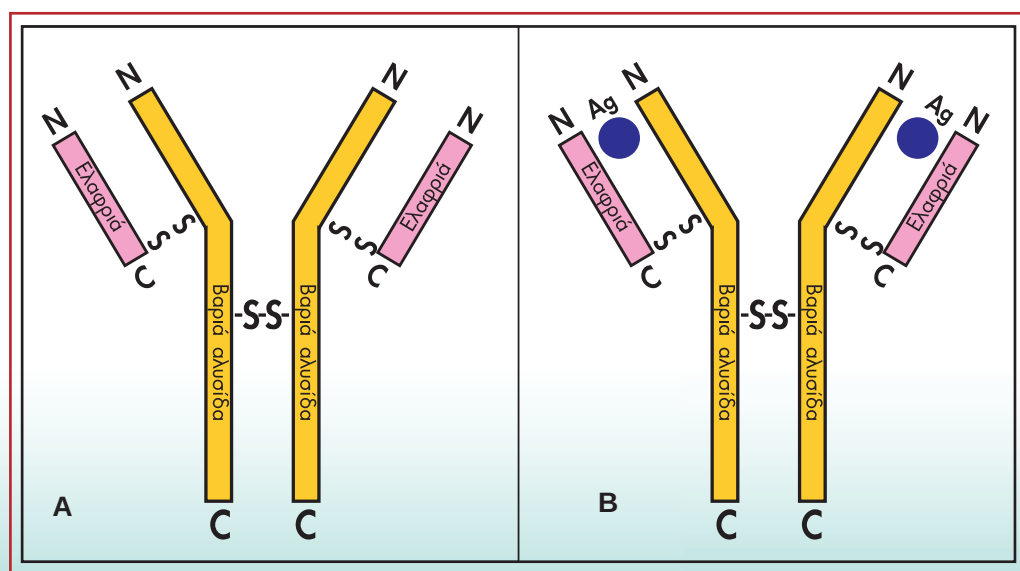
αλυσίδες είναι επίσης οι ίδιες. Ο τύπος της βαριάς αλυσίδας καθορίζει αντίστοιχα και την τάξη στην οποία ανήκει η ανοσοσφαιρίνη (IgG, IgM, IgA, IgD και IgE).

Το μόριο της ανοσοσφαιρίνης

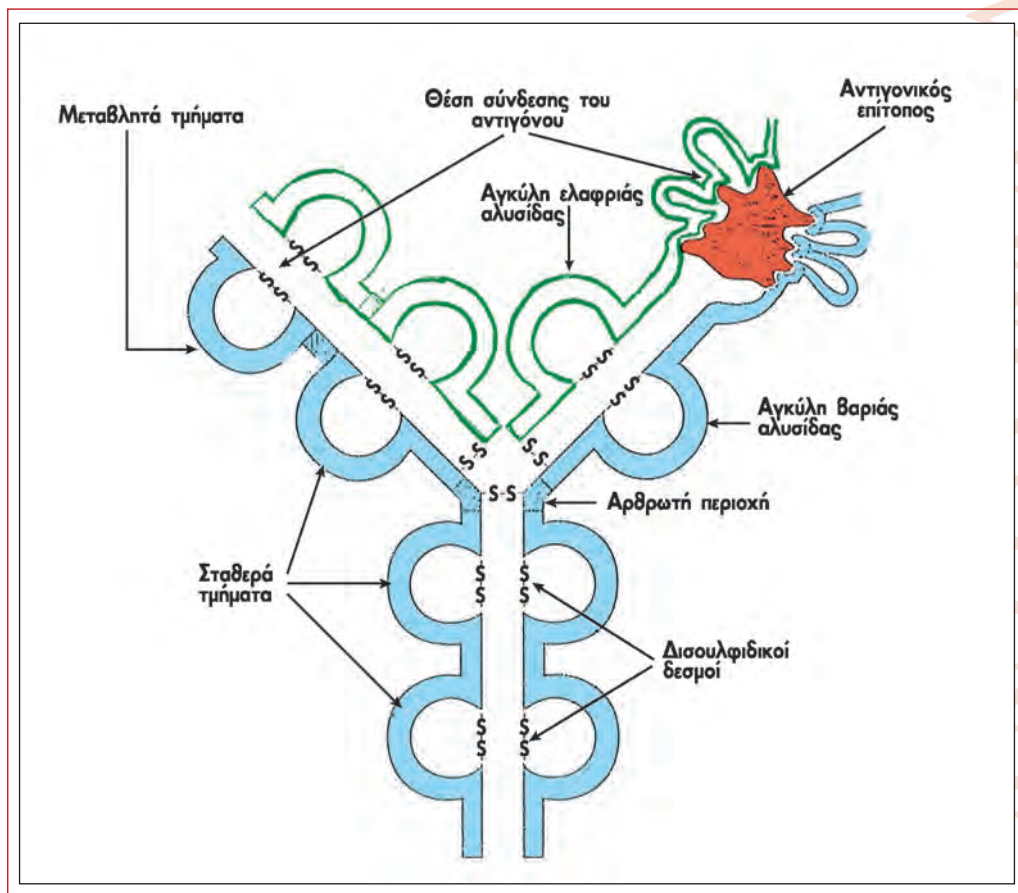
Η διαμόρφωση του μορίου μιας ανοσοσφαιρίνης με τις τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες θυμίζει το σχήμα του γράμματος **Υ**. Η γωνία μεταξύ των δύο σκελών του **Υ** ανοίγει περισσότερο όταν η ανοσοσφαιρίνη συνδεθεί με ένα αντιγόνο. Ο χώρος ανάμεσα στη βαριά και ελαφριά αλυσίδα που αντιστοιχούν στο κάθε σκέλος του **Υ**, είναι η περιοχή σύνδεσης με το αντιγόνο. (Βλ. εικόνα 1.5). Οι δυο βαριές αλυσίδες διατάσσονται η μια δίπλα στην άλλη σχηματίζοντας τη μορφή του γράμματος **Υ**. Κάθε μια από τις δυο ελαφριές, διατάσσεται παράλληλα και προς την πλευρά του κάθε σκέλους του **Υ**.

Οι 4 αλυσίδες συγκρατούνται μεταξύ τους με ένα συγκεκριμένο τύπο χημικού δεσμού, που λέγεται δι-σουλφιδικός δεσμός και μοιάζει σαν ένα ελατήριο με ένα γάντζο σε κάθε άκρη του (βλ. εικόνα 1.5Α). Αυτός ο δεσμός (-S-S-), αποτελείται από 2 άτομα θείου και τον συναντούμε πολύ συχνά σε οργανικές ενώσεις των ζώντων οργανισμών. Το σημείο που σχηματίζεται η γωνία μεταξύ του κορμού και του σκέλους του **Υ** λέγεται *αρθρωτή περιοχή*.

Εκτός από τη συγκράτηση των αλυσίδων μεταξύ τους, τέτοιοι δισουλφιδικοί δεσμοί ενώνουν και διαφορετικά σημεία της ίδιας αλυσίδας, όταν αυτή σχηματίζει μια αγκύλη που προβάλλει προς τα έξω. Αυτοί οι δεσμοί ονομάζονται *εσωτερικοί δεσμοί*. Η αγκύλη δημιουργείται από την *αναδίπλωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας* και σχηματίζει *ανεξάρτητες περιοχές ή πεδία (domains)* στο μόριο της ανοσοσφαιρίνης. Αυτές οι περιοχές αποτελούν και τα *δραστικά σημεία σύνδεσης με τα αντιγόνα* (βλ. εικόνα 1.6).



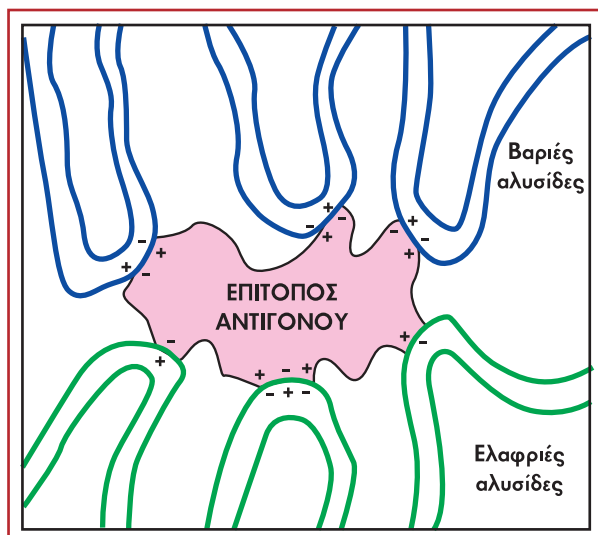
Εικόνα 1.5: Α: Η βασική δομή του μορίου μιας ανοσοσφαιρίνης. Β: Στο χώρο ανάμεσα στη βαριά και ελαφριά αλυσίδα βρίσκεται η θέση σύνδεσης με το αντιγόνο (Ag).



Εικόνα 1.6: Λεπτομερής απεικόνιση του μορίου της ανοσοσφαιρίνης στην οποία διακρίνεται ο σχηματισμός των αγκυλών καθώς και η θέση σύνδεσης με τον αντιγονικό επίτοπο.

Μεταβλητά και σταθερά τμήματα στο μόριο μιας ανοσοσφαιρίνης

Πώς μπορούμε όμως να έχουμε τόσα πολλά διαφορετικά είδη μορίων ανοσοσφαιρίνης (αντισώματα) με διαφορετική ειδικότητα, ενώ η βασική δομή τους είναι η ίδια; Ας δούμε το παράδειγμα μιας σύνθετης λέξης στην οποία διατηρώντας το πρώτο συνθετικό της τμήμα ίδιο αλλάζουμε το δεύτερο και φτιάχνουμε πολλές διαφορετικές λέξεις (Π.χ. οι λέξεις που έχουν κοινό πρώτο συνθετικό το αντί: **αντίπαλος**, **αντίθετος**, **αντίβαρο**, **αντίστοιχος**, **αντικρίζω**, **αντίλαλος**, **αντίσωμα**, **αντιγόνο** κ.λπ.) Με τον ίδιο τρόπο, τόσο οι βαριές, όσο και οι ελαφριές αλυσίδες των ανοσοσφαιρινών, διαθέτουν τμήματα με την ίδια σύσταση (σταθερά τμήματα) και τμήματα των οποίων η σύσταση είναι διαφορετική για κάθε είδος αντισώματος (μεταβλητά τμήματα). Αυτά τα μεταβλητά τμήματα είναι που κάνουν τα αντισώματα να έχουν ειδικότητα και να συνδέουν ένα συγκεκριμένο είδος αντιγόνου (βλ. εικόνα 1.6).



Εικόνα 1.7: Τρόπος σύνδεσης των δραστικών περιοχών των βαριών και ελαφριών αλυσίδων με τον επίτοπο του αντιγόνου. Τα αντίθετα ηλεκτρικά φορτία μεταξύ των σημείων επαφής ενισχύουν την σύνδεση.

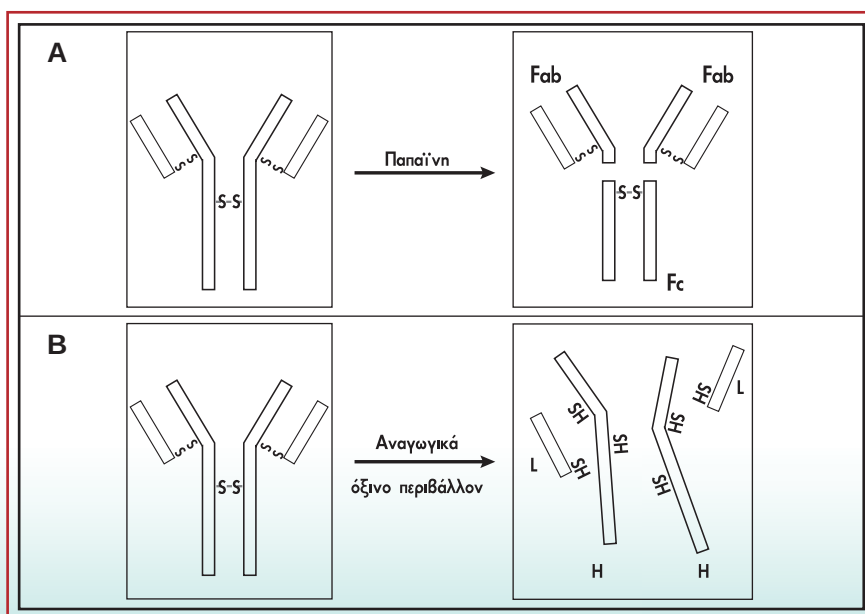


Εικόνα 1.8: Αναπαράσταση του τρόπου συγκράτησης του αντιγονικού επιτόπου ανάμεσα στις αγκύλες των αλυσίδων της ανοσοσφαιρίνης με τον τρόπο συγκράτησης ενός αντικειμένου με την αντιπαράθεση των δακτύλων των χεριών.

Η είσοδος του αντιγονικού επιτόπου μέσα στη σχισμή ανάμεσα στις αγκύλες της βαριάς και ελαφριάς αλυσίδας δημιουργεί σημεία επαφής στα οποία η συγκράτηση του επιτόπου ενισχύεται από τα αντίθετα ηλεκτρικά φορτία που υπάρχουν στα δυο συνδεδεμένα τμήματα (βλ. εικόνα 1.7).

Ο τρόπος αυτός της συγκράτησης του αντιγονικού επιτόπου ανάμεσα στις αγκύλες μοιάζει με τον τρόπο που κρατάει κανείς ένα αντικείμενο ανάμεσα στα δυο του χέρια, αντιπαραθέτοντας τα ίδια δάκτυλα από το κάθε χέρι (βλ. εικόνα 1.8)

Με τη χρήση ορισμένων πρωτεολυτικών ενζύμων (καθεψίνη, παπαΐνη) ή άλλων αναγωγικών αντιδραστηρίων, μπορούμε να προκαλέσουμε διάσπαση του μορίου της ανοσοσφαιρίνης σε μικρότερα κομμάτια. Για παράδειγμα, η παπαΐνη διασπά το μόριο της ανοσοσφαιρίνης σε 3 κομμάτια, από τα οποία τα δύο περιλαμβάνουν τα τμήματα με τις θέσεις σύνδεσης του αντιγόνου (ονομαζόμενα Fab = antigen binding fragments) και το τρίτο αποτελείται από τμήμα των δυο βαριών αλυσίδων (ονομαζόμενο Fc = crystallizable fragment, επειδή κρυσταλλώνεται εύκολα). Η καθεψίνη προκαλεί μια εγκάρσια διάσπαση του μορίου, σε χαμηλό σημείο του κορμού του Υ, που μοιάζει σαν να έχουν κόψει λίγο την ουρά του μορίου της ανοσοσφαιρίνης. Τέλος, η χρήση αναγωγικών ουσιών σε όξινο περιβάλλον δημιουργεί διάσπαση του μορίου στις τέσσερις αλυσίδες που το συναποτελούν (βλ. εικόνα 1.9).



Εικόνα 1.9: Α: Διάσπαση του μορίου της ανοσοσφαιρίνης υπό την επίδραση της παπαΐνης. Β: Διάσπαση του μορίου της ανοσοσφαιρίνης με αναγωγικούς παράγοντες σε όξινο περιβάλλον.

1.2.2 Τάξεις των ανοσοσφαιρινών

Όπως αναφέρθηκε οι 5 τάξεις των ανοσοσφαιρινών έχουν κοινή βασική δομή αλλά διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το είδος των βαριών αλυσίδων.

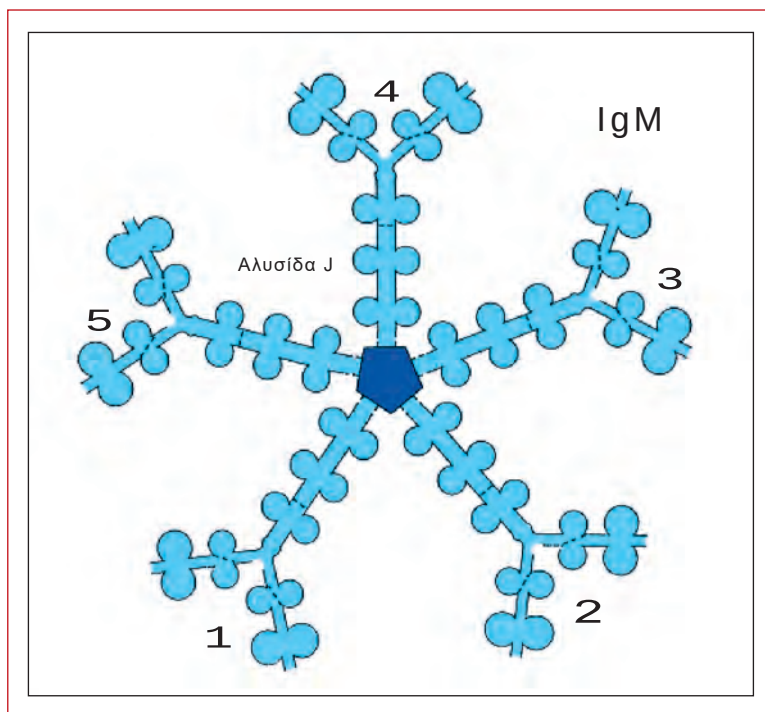
Έτσι, ανάλογα με το αν οι βαριές αλυσίδες είναι γ, μ, α, δ ή ε, δημιουργούνται οι τάξεις IgG, IgM, IgA, IgD ή IgE αντίστοιχα. Από αυτές οι IgG και IgA χωρίζονται και σε κάποιους υπότυπους (υποκατηγορίες), η πρώτη στις IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 και η δεύτερη στις IgA1, IgA2. Σε μερικές από τις ανοσοσφαιρίνες κάποια μόρια τους μπορεί να ενώνονται δύο-δύο ή και περισσότερα αναμεταξύ τους και να σχηματίζουν διμερή (όπως η IgA) ή και πολυμερή (όπως η IgM όπου ενώνονται 5 μόρια αναμεταξύ τους και σχηματίζουν πενταμερή). Η συνδετική αλυσίδα που συγκρατεί τα μόρια μεταξύ τους ονομάζεται αλυσίδα J (από τη λέξη joining = σύνδεση). Ας δούμε όμως ξεχωριστά την κάθε τάξη ανοσοσφαιρινών και τα χαρακτηριστικά της.

Ανοσοσφαιρίνη G (IgG)

Είναι η κύρια ανοσοσφαιρίνη του αίματος και αποτελεί το 75% όλων των ανοσοσφαιρινών. Υπάρχει όπως είδαμε σε 4 υπότυπους (που ξεχωρίζονται από κάποιες διαφορές στην σύσταση των βαριών αλυσίδων τους, δηλαδή των αλυσίδων γ). Είναι *η μοναδική ανοσοσφαιρίνη που περνά από την έγκυο μητέρα προς το έμβρυο γιατί έχει την ικανότητα να περνά μέσα από τον πλακούντα*. Με αυτό τον τρόπο το νεογέννητο έχει κάποια έτοιμα αντισώματα για να το προστατεύουν κατά τους πρώτους μήνες της ζωής του. Η παρουσία της δεν περιορίζεται μόνο μέσα στο αίμα αλλά μπορεί να διεισδύει και σε όλα τα υγρά του σώματος. Περιλαμβάνει όλα σχεδόν τα αντισώματα εναντίον των τοξινών των μικροβίων. Έχει την ικανότητα να προσκολλάται στα μικρόβια βοηθώντας έτσι τη φαγοκυττάρωσή τους (βλ. κεφάλαιο 3°) και αυτή η λειτουργία λέγεται **οψωνοποίηση**. Όταν προσκολληθεί στα μικρόβια, το σχηματιζόμενο αυτό σύμπλεγμα έχει την ικανότητα να ενεργοποιεί το συμπλήρωμα (μια ομάδα πρωτεϊνών του ορού με σπουδαίες αμυντικές ιδιότητες - βλ. κεφάλαιο 4°).

Ανοσοσφαιρίνη M (IgM)

Η IgM είναι γνωστή και σαν μακροσφαιρινικό αντίσωμα εξ αιτίας του μεγάλου μοριακού της βάρους (M.B.=970.000) που οφείλεται στο ότι τα μόριά της συνδέονται ανά πέντε μεταξύ τους δημιουργώντας ένα μεγαλύτερο μόριο (πενταμερές) που το σχήμα του μοιάζει με αστέρι (βλ.εικ. 1.10).

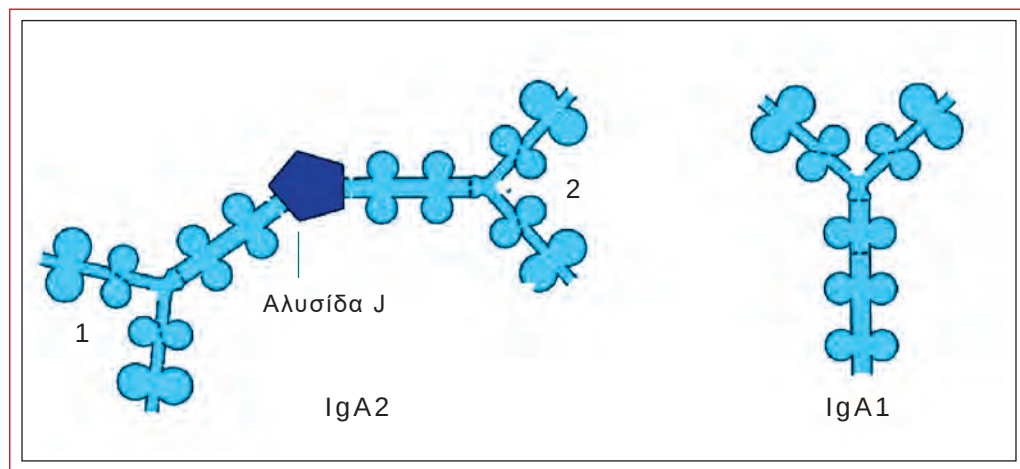


Εικόνα 1.10: Το μόριο της ανοσοσφαιρίνης M σχηματίζει ένα πενταμερές σε κυκλική διάταξη, όπου το άκρο των δυο βαριών αλυσίδων συνδέεται με το άκρο των άλλων μορίων μέσω μιας συνδετικής αλυσίδας (J).

Η ανοσοσφαιρίνη IgM είναι η πρώτη που παράγεται μετά από αντιγονικό ερεθισμό και στη συνέχεια ακολουθεί η παραγωγή της IgG. Είναι η κυριότερη ανοσοσφαιρίνη που παράγεται από το έμβρυο. Αντίθετα με την IgG παραμένει και κυκλοφορεί σχεδόν αποκλειστικά μέσα στα αγγεία χωρίς να διεισδύει στα διάφορα υγρά το σώματος. Σ' αυτήν ανήκουν τα αντισώματα που ενεργοποιούν το συμπλήρωμα για να γίνει κυτταρόλυση (διάλυση ενός κυττάρου). Είναι τα κύρια αντισώματα με τα οποία αμύνεται ο οργανισμός σε καταστάσεις μικροβιαμίας. Στην IgM ανήκουν τα φυσικά αντισώματα εναντίον των αντιγόνων των ερυθρών αιμοσφαιρίων που καθορίζουν την ομάδα αίματος. Σύνθεση μικρής ποσότητας της IgM γίνεται σε εκκριτικούς ιστούς, όπως είναι η παρωτίδα.

Ανοσοσφαιρίνη A (IgA)

Ποσοτικά αποτελεί το 15% των ανοσοσφαιρινών του ορού και εκτός από τον ορό του αίματος ανευρίσκεται και στις διάφορες εκκρίσεις του σώματος (σάλιο, ιδρώτας, ρινικό έκκριμα, δάκρυα, βρογχικές εκκρίσεις, εντερικό υγρό κλπ) όπου χρησιμεύει στην τοπική άμυνα εναντίον των μικροβίων σ' αυτές τις περιοχές (εκκριτικό κλάσμα της IgA). Το μόριο της IgA που βρίσκεται στις εκκρίσεις είναι διμερές και ανήκει κυρίως στον υπότυπο IgA2, ενώ εκείνο του ορού είναι συνήθως μονομερές και ανήκει στον υπότυπο IgA1 (βλ. εικ. 1.11).



Εικόνα 1.11: Ο υπότυπος της ανοσοσφαιρίνης A που αποτελεί το εκκριτικό κλάσμα (IgA2) υπάρχει σαν διμερές, ενώ το κλάσμα του ορού (IgA1) είναι μονομερές.

Η εκκριτική IgA παράγεται από τα εξωκρινή αδενικά κύτταρα και απελευθερώνεται στις εκκρίσεις τους. Αντιδρά με την επιφάνεια παθογόνων μικροβίων και έτσι εμποδίζει τη συνάθροισή τους και το σχηματισμό αποικιών.

Ανοσοσφαιρίνη D (IgD)

Η ανοσοσφαιρίνη αυτή βρίσκεται σε πολύ μικρή ποσότητα στον ορό του αίματος, αποτελώντας λιγότερο από το 1% του συνόλου των ανοσοσφαιρινών. Βρίσκεται σε αφθονία στην επιφάνεια των Β-λεμφοκυττάρων και μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο στην ενεργοποίησή τους από αντιγόνα. Δρα ως αντίσωμα εναντίον μερικών πλήρων αντιγόνων ή απτινών όπως η διφθεριτική τοξίνη, η πενικιλίνη και η ινσουλίνη αλλά η πραγματική χρησιμότητα των αντισωμάτων αυτών δεν είναι γνωστή.

Ανοσοσφαιρίνη E (IgE)

Η ποσότητα της ανοσοσφαιρίνης αυτής στον ορό φυσιολογικών ατόμων είναι απειροελάχιστη (0.005% της συνολικής ποσότητας των ανοσοσφαιρινών). Φαίνεται ότι παίζει κάποιο ρόλο στις λοιμώξεις

από παράσιτα και κυρίως τους έλμινθες (εχινόκοκκος, ασκαρίδα κλπ), γι' αυτό και στις περιπτώσεις αυτές η ποσότητα της IgE στον ορό αυξάνεται. Ο πιο γνωστός ρόλος της είναι στα *αλλεργικά νοσήματα* όπως το εξωγενές άσθμα, η αλλεργική ρινίτιδα, η ατοπική δερματίτιδα και η γενικευμένη αναφυλακτική αντίδραση. Τα αντισώματα της κατηγορίας αυτής έχουν την ικανότητα να προσκολλώνται στην επιφάνεια των μαστοκυττάρων. Όταν ένα αντιγόνο συνδεθεί με ένα τέτοιο αντίσωμα, τότε τα κοκκία των μαστοκυττάρων εκκενώνονται και απελευθερώνονται ουσίες που ευθύνονται για τα φαινόμενα των αλλεργικών εκδηλώσεων (βλ. κεφ. 5°). Οι μορφές των αλλεργικών αντιδράσεων που προκαλούνται από την παρέμβαση της IgE είναι γνωστές σαν *ατοπία*. Στις καταστάσεις αυτές η ποσότητά της στον ορό ανευρίσκεται σε πολύ ψηλά επίπεδα.

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Η Ανοσολογία είναι ο κλάδος της επιστήμης που εξετάζει τη λειτουργία του ανοσολογικού συστήματος. Το ανοσολογικό σύστημα είναι ένα οργανωμένο αμυντικό σύστημα του οργανισμού που έχει ως στόχο την προστασία μας από εξωγενείς βλαπτικούς παράγοντες όπως είναι οι μικροοργανισμοί, οι τοξίνες και άλλοι χημικοί παράγοντες.

Η άμυνα του οργανισμού στους βλαπτικούς παράγοντες οργανώνεται σε δυο μέτωπα: τη *μη ειδική ανοσία* που περιλαμβάνει γενικούς τρόπους παρεμπόδισης και εξουδετέρωσης των βλαπτικών παραγόντων και την *ειδική ανοσία* που προϋποθέτει *ειδική αναγνώριση* του εισβολέα και εξειδικευμένη αντιμετώπισή του. Η αντιμετώπιση αυτή περιλαμβάνει την παραγωγή ειδικών πρωτεϊνών, των *αντισωμάτων* (*χυμική ανοσία*) και ειδικών κυττάρων, των ευαισθητοποιημένων *T-λεμφοκυττάρων* (*κυτταρική ανοσία*). Κάθε ουσία που είναι σε θέση να διεγείρει το ανοσολογικό σύστημα σε μια τέτοια ειδική αντίδραση εναντίον της, ονομάζεται *αντιγόνο*. Τα αντιγόνα είναι μεγαλομοριακές ουσίες (πρωτεΐνες, πολυπεπτίδια, πολυσακχαρίτες) τις οποίες ο οργανισμός αναγνωρίζει σαν «ξένες» (δηλαδή όχι δικές του). Τα αντιγόνα διακρίνονται σε *πλήρη αντιγόνα* και σε *απτίνες*. Ενώ τα πλήρη αντιγόνα μπορούν να διεγείρουν το ανοσολογικό σύστημα και να ενωθούν με το αντίσωμα που θα παραχθεί, οι απτίνες (όντας μικρότερα σε μέγεθος μόρια) δεν μπορούν από μόνες τους να προκαλέσουν τη διέγερση αυτή, παρά μόνο αν ενωθούν με ένα άλλο μόριο-φορέα (συνήθως πρωτεΐνη). Τα *αντισώματα* ή αλλιώς *ανοσοσφαιρίνες* είναι πρωτεΐνες που παράγονται από τα Β-λεμφοκύτταρα και τα πλασματοκύτταρα σαν αντίδραση στην είσοδο ενός αντιγόνου στον οργανισμό και οι οποίες έχουν την ικανότητα να αντιδρούν με το συγκεκριμένο αντιγόνο. Όλα τα μόρια των ανοσοσφαιρινών έχουν μια κοινή βασική δομή: αποτελούνται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες από τις οποίες το ένα ζευγάρι είναι δυο ίδιες βαριές αλυσίδες και το άλλο δυο ίδιες ελαφριές αλυσίδες. Η διαμόρφωση του μορίου τους θυμίζει το σχήμα του γράμματος **Υ**. Η περιοχή του μορίου της ανοσοσφαιρίνης που συνδέεται με τον επίτοπο του αντιγόνου βρίσκεται στη σχισμή που υπάρχει ανάμεσα στη βαριά και την ελαφριά αλυσίδα, όπως αυτές οι δυο διατάσσονται παράλληλα σχηματίζοντας τα σκέλη του **Υ**. Οι ανοσοσφαιρίνες διακρίνονται σε πέντε τάξεις ή κατηγορίες ανάλογα με το είδος των βαριών αλυσίδων που έχουν και οι οποίες είναι η IgG, η IgM, η IgA, η IgD και η IgE και όλες ανήκουν στην ομάδα των γ-σφαιρινών του ορού. Η IgG είναι η *κύρια ανοσοσφαιρίνη* του αίματος και αποτελεί το 75% όλων των ανοσοσφαιρινών. Μπορεί να περνά από τη μητέρα προς το έμβρυο, μέσα από το πλακούντα και μπορεί να διαχέεται σε όλα τα υγρά του σώματος. Περιλαμβάνει όλα τα αντισώματα εναντίον των τοξινών των μικροβίων. Η IgM (γνωστή και σαν *μακροσφαιρίνη* λόγω του μεγάλου της μοριακού βάρους) είναι η κυριότερη ανοσοσφαιρίνη που παράγεται από το έμβρυο. Σε αυτήν ανήκουν τα φυσικά αντισώματα εναντίον των *αντιγόνων που καθορίζουν την ομάδα αίματος*. Η IgA αποτελεί το 15% των ανοσοσφαιρινών του ορού αλλά βρίσκεται στις περισσότερες *εκκρίσεις του σώματος* (εκκριτικό κλάσμα της IgA) παίζοντας έτσι ρόλο στην τοπική άμυνα των περιοχών που έχουν αυτές τις εκκρίσεις. Η IgD βρίσκεται σε ελάχιστη ποσότητα στον ορό (<1%) και ανευρίσκεται στην επιφάνεια των Β-λεμφοκυττάρων. Ο ρόλος και η χρησιμότητά της δεν έχουν ξεκαθαριστεί. Η IgE βρίσκεται σε ελάχιστα ποσά στον ορό φυσιολογικών ατόμων. Φαίνεται να παίζει κάποιο ρόλο στις λοιμώξεις από διάφορα *παράσιτα* αλλά ο σημαντικότερος ρόλος της είναι στην αλλεργία.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

A) Απαντήστε με συντομία

- 1) Τι είναι η Ανοσολογία και ποιος είναι ο ρόλος του ανοσολογικού συστήματος;
- 2) Τι εννοούμε με τον όρο μη ειδική ανοσία και τι με τον όρο ειδική ανοσία;
- 3) Τι είναι ένα αντιγόνο και ποιες οι ιδιότητές του;
- 4) Σε τι διαφέρει ένα πλήρες αντιγόνο από μια απτίνη;
- 5) Τι είναι ο αντιγονικός επίτοπος ή καθοριστική ομάδα;
- 6) Τι είναι τα αντισώματα ή ανοσοσφαιρίνες και από πού παράγονται;
- 7) Από τι αποτελείται ένα μόριο ανοσοσφαιρίνης;
- 8) Ποιες είναι οι κύριες τάξεις των ανοσοσφαιρινών και τι καθορίζει την τάξη μιας ανοσοσφαιρίνης;
- 9) Τι γνωρίζετε για κάθε μία από τις πέντε κύριες τάξεις των ανοσοσφαιρινών;

B) Επιλέξτε τη σωστή απάντηση.

1) Όσον αφορά τις ανοσοσφαιρίνες:

- α) Είναι μικρομοριακές ουσίες.
- β) Η θέση σύνδεσής τους με το αντιγόνο βρίσκεται στη σχισμή ανάμεσα στις δυο βαριές αλυσίδες.
- γ) Τη μεγαλύτερη συγκέντρωση στον ορό έχει η IgG.
- δ) Η IgM έχει το μικρότερο μοριακό βάρος απ' όλες.
- ε) Η ανοσοσφαιρίνη A (IgA) είναι υπεύθυνη για φαινόμενα αλλεργίας.

2) Ποια είναι η λανθασμένη πρόταση.

- α) Η ειδικότητα ενός αντιγόνου καθορίζεται από τον αντιγονικό επίτοπο.
- β) Τα αντισώματα παράγονται από τα B-λεμφοκύτταρα ή τα πλασματοκύτταρα.
- γ) Οι απτίνες, για να δράσουν σαν αντιγόνα, πρέπει πρώτα να συνδεθούν με ένα μόριο-φορέα (συνήθως πρωτεΐνη).
- δ) Η παραγωγή αντισωμάτων είναι μηχανισμός μη ειδικής ανοσίας.
- ε) Η ανοσοσφαιρίνη G (IgG) περνάει μέσα από τον πλακούντα προς το έμβρυο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

ΧΥΜΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ

2.1 Ανοσία-γενικά

2.1.1 Τι είναι η ανοσία

Ανοσία είναι το σύνολο των μηχανισμών που διαθέτει ο οργανισμός για να αμύνεται σε βλαπτικούς παράγοντες που μπορούν να τον κάνουν να νοσήσει. Ο όρος ανοσία δηλώνει ακριβώς την απουσία νόσου (α-στερητικό+νόσος). Ο όρος επικράτησε μετά την παρατήρηση ότι τα άτομα που παθαίνουν ορισμένα λοιμώδη νοσήματα δεν αρρωσταίνουν ξανά από τα ίδια νοσήματα έστω κι αν ξανάρθουν σε επαφή με τον μικροοργανισμό που τα προκάλεσε την πρώτη φορά. Ξέρουμε ακόμα πως όταν εμβολιασθούμε εναντίον κάποιας λοιμώδους ασθένειας τότε λέμε ότι έχουμε αποκτήσει ανοσία γι' αυτή τη συγκεκριμένη ασθένεια.

Το σύνολο των μηχανισμών τους οποίους επιστρατεύει ο οργανισμός για να αμυνθεί εναντίον ενός δυνητικά βλαπτικού παράγοντα στον οποίον εκτίθεται λέγεται **ανοσολογική αντίδραση** (ή ανοσολογική απάντηση).

2.1.2 Διάκριση της ανοσίας

Ανάλογα με το είδος της ανοσολογικής αντίδρασης διακρίνουμε την ανοσία σε *μη ειδική (ή εγγενή)* και σε *ειδική*.

Η εγγενής ή μη ειδική ανοσία περιλαμβάνει τους τρόπους προστασίας του οργανισμού από τους βλαπτικούς παράγοντες που *δεν απαιτούν αναγνώριση του αιτίου και ειδική αντίδραση* προς το βλαπτικό αίτιο. Όταν π.χ. καταπίνουμε κάποιους μικροοργανισμούς με την τροφή μας, πολλοί από αυτούς καταστρέφονται από το υδροχλωρικό οξύ του στομάχου. Όταν πάλι εισπνέουμε σωματίδια ή μικροοργανισμούς από τον ατμοσφαιρικό αέρα, πολλά από αυτά παγιδεύονται στην βλέννα της μύτης και εμποδίζεται η είσοδός τους στους πνεύμονες, ενώ αν κάποια από αυτά καταφέρουν να φτάσουν στις κυψελίδες των πνευμόνων τότε φαγοκυτταρώνονται από τα κυψελιδικά μακροφάγα. Στις περιπτώσεις αυτές, οι τρόποι αυτοί με τους οποίους αμύνεται ο οργανισμός στα βλαπτικά αίτια είναι *γενικοί μηχανισμοί άμυνας* και δεν χρειάζεται να αναγνωρισθεί το είδος του «εχθρού» ώστε να αντιμετωπισθεί με «ειδικά οπτικά συστήματα». Αυτή ακριβώς η μορφή αντίδρασης ανήκει στην *εγγενή ή μη ειδική ανοσία*. Στον πιο κάτω πίνακα φαίνονται οι κυριότεροι μηχανισμοί της μη ειδικής ανοσίας.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΓΓΕΝΟΥΣ Ή ΜΗ ΕΙΔΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ

<i>Δέρμα</i>	Φραγμός από την κερατίνη στιβάδα που είναι αδιαπέραστη στους μικροοργανισμούς. Ο ιδρώτας (πλούσιος σε αλάτι και με χαμηλό ΡΗ) και το σμήγμα έχουν τη δυνατότητα να τους καταστρέφουν
<i>Βλεννογόνοι</i>	Οι υμένες που καλύπτουν εσωτερικά τα κοίλα όργανα, παράγουν βλέννα που παγιδεύει τους μικροοργανισμούς και όταν υπάρχουν και κροσσοί (π.χ. βλεννογόνος αναπνευστικού συστήματος), με την συνεχή τους κίνηση, τους απομακρύνουν και τους αποβάλλουν από το σώμα.
<i>Εκκρίσεις</i>	Οι εκκρίσεις της μύτης και το σάλιο περιέχουν ουσίες (βλεννοπολυσακχαρίτες) που μπορούν να αναστείλουν ορισμένους ιούς. Τα δάκρυα και οι εκκρίσεις των βλεννογόνων περιέχουν λυσοζύμη που καταστρέφει το τοίχωμα των βακτηριδίων. Το υδροχλωρικό οξύ του στομάχου καταστρέφει τα περισσότερα βακτηρίδια.
<i>Φυσιολογική χλωρίδα</i>	Τα μη παθογόνα μικρόβια που είναι φυσικοί ένοικοι σε διάφορα σημεία του σώματος (π.χ. το κολοβακτηρίδιο στο έντερο) παράγουν αντιμικροβιακές ουσίες και παράλληλα ανταγωνίζονται τα παθογόνα που θέλουν να εγκατασταθούν στο ίδιο μέρος.
<i>Φαγοκυττάρωση και φλεγμονή</i>	Όταν υπάρξει εισβολή ξένου παράγοντα (σωματίδια, μικρόβια) συλλαμβάνονται από τις κατά τόπους περιπόλους των φαγοκυττάρων και καταστρέφονται ενώ σημαίνει ο "συναγεμμός" για να γίνει η διεργασία της φλεγμονής στο σημείο εισόδου.
<i>Άλλες ουσίες</i>	<i>Ιντερφερόνη:</i> Παράγεται από τα κύτταρα που έχουν προσβληθεί από ιό και εμποδίζει την προσβολή άλλων κυττάρων από τον ιό. <i>Συμπλήρωμα:</i> (Βλ. Κεφ.4°) Ενεργοποίηση της εναλλακτικής οδού από μικροβιακές ουσίες για να κινητοποιηθεί ο μηχανισμός της φλεγμονής και να εξουδετερωθεί το μικρόβιο.

Η ειδική ανοσία αναπτύσσεται ως αποτέλεσμα της έκθεσης του οργανισμού σε συγκεκριμένους παράγοντες που είναι σε θέση λόγω της χημικής τους δομής να προκαλέσουν ειδική αντίδραση από το ανοσολογικό σύστημα, δηλαδή μπορούν να δράσουν σαν *ανοσογόνα*. Τέτοιοι παράγοντες είναι οι μικροοργανισμοί, διάφορες πρωτεΐνες ή άλλες μεγαλομοριακές ουσίες και τα εμβόλια.

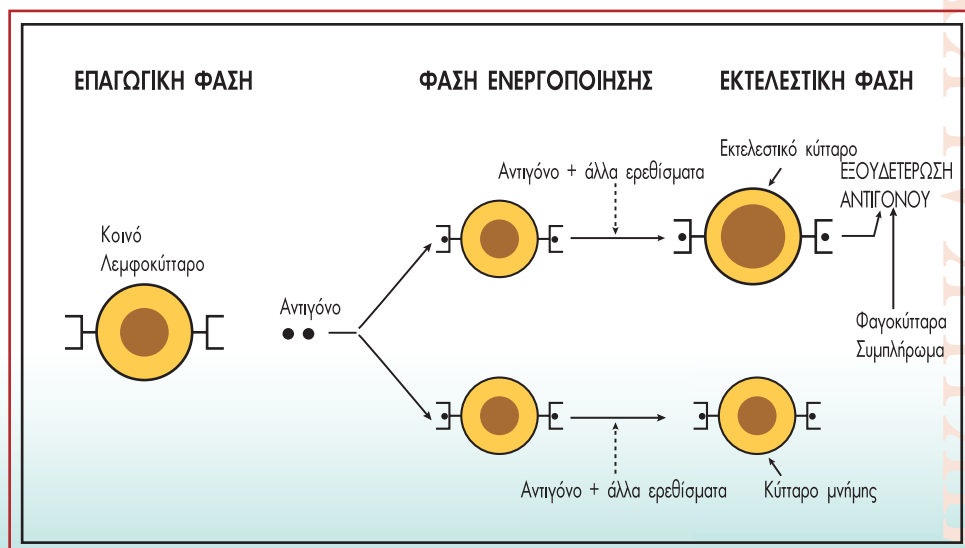
Η ειδική ανοσία εκδηλώνει την δραστηριότητά της με δύο διαφορετικούς βασικούς τρόπους ή μηχανισμούς, οι οποίοι όμως σχετίζονται μεταξύ τους και εξαρτώνται ο ένας από τον άλλο. Και οι δυο μηχανισμοί συνεργάζονται αρμονικά για να εξουδετερώσουν τους βλαπτικούς παράγοντες που εισβάλλουν στον οργανισμό μας. Αυτοί οι μηχανισμοί είναι:

- Η **χυμική ανοσία**, που ονομάζεται έτσι γιατί τα προϊόντα της ανοσολογικής αντίδρασης κυκλοφορούν στο αίμα και το εξωκυττάριο υγρό (δηλαδή τους χυμούς του σώματος). Στη περίπτωση αυτή η ανοσολογική αντίδραση επιτελείται με τα παραγόμενα αντισώματα και τα υπεύθυνα γι' αυτήν κύτταρα είναι τα λεγόμενα *B-λεμφοκύτταρα*.
- Η **κυτταρική ανοσία**, που ονομάζεται έτσι γιατί τα προϊόντα της ανοσολογικής αντίδρασης είναι κύτταρα και συγκεκριμένα *ευαισθητοποιημένα T-λεμφοκύτταρα*. Στην προκειμένη περίπτωση η ανοσολογική αντίδραση επιτελείται με τα λεγόμενα *T-λεμφοκύτταρα*.

Φάσεις της ανοσολογικής αντίδρασης

Στην ειδική ανοσία, μετά από έκθεση σε κάποιον εξωγενή παράγοντα που έχει ιδιότητες αντιγόνου, η ανοσολογική αντίδραση (απάντηση) μπορεί να διακριθεί σε τρεις φάσεις:

- Την επαγωγική φάση: Σε αυτή τη φάση γίνεται ένα είδος "μελέτης" του αντιγόνου κατά την οποία τα μακροφάγα το εξετάζουν και το περιεργάζονται. Στη συνέχεια γίνεται η παρουσίαση του αντιγόνου στα λεμφοκύτταρα από τα λεγόμενα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (συνήθως μακροφάγα).
- Την φάση ενεργοποίησης: Σε αυτή γίνεται η ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων (διέγερση και πολλαπλασιασμός) έτσι ώστε να διαμορφωθούν τα κύτταρα που θα αναλάβουν την ειδική δράση.
- Την εκτελεστική φάση: Η φάση αυτή χαρακτηρίζεται από την παραγωγή των προϊόντων της ανοσολογικής αντίδρασης, που είναι τα αντισώματα ή τα ευαισθητοποιημένα T- λεμφοκύτταρα προκειμένου να στραφούν εναντίον του αντιγόνου (βλ. εικόνα 2.1).



Εικόνα 2.1: Οι τρεις φάσεις της ανοσολογικής διέγερσης.

Η ειδική ανοσολογική αντίδραση διακρίνεται στην **πρωτογενή** και τη **δευτερογενή** αντίδραση:

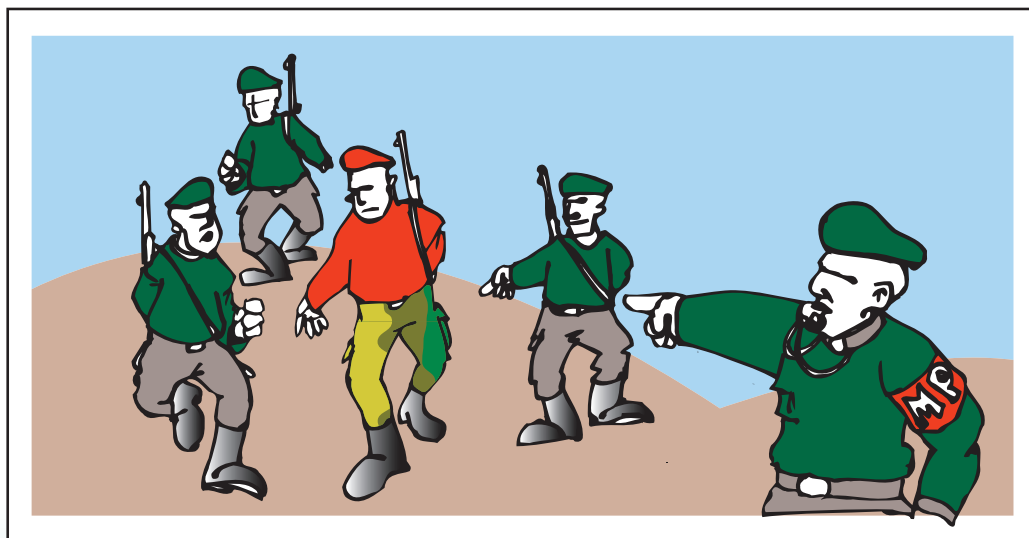
Η *πρωτογενής αντίδραση* είναι αυτή που παρατηρείται όταν ο οργανισμός *εκτεθεί για πρώτη φορά* σε κάποιο συγκεκριμένο αντιγόνο. Στη περίπτωση αυτή απαιτείται μια διαδικασία αναγνώρισης και επεξεργασίας του αντιγόνου με αποτέλεσμα να παρατηρείται μια καθυστέρηση (λανθάνουσα περίοδος) πριν δημιουργηθούν τα προϊόντα της ανοσολογικής αντίδρασης.

Η *δευτερογενής (ή αναμνηστική) αντίδραση* είναι αυτή που παρατηρείται σε *νέα έκθεση* του οργανισμού στο ίδιο αντιγόνο. Στη περίπτωση αυτή η διαδικασία είναι ταχύτερη και πολύ πιο έντονη από ότι στην πρωτογενή αντίδραση. Αυτό οφείλεται στο ότι το ανοσολογικό σύστημα διαθέτει κύτταρα που "θυμούνται" το αντιγόνο (κύτταρα μνήμης) και βρίσκονται σε ετοιμότητα να αντιδράσουν στη είσοδο του αντιγόνου.

2.1.3 Χαρακτηριστικά της ειδικής ανοσίας

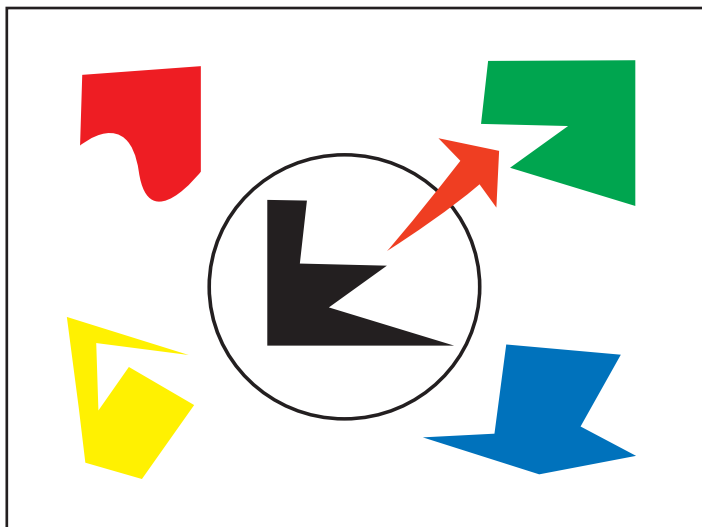
Η ειδική ανοσία έχει τέσσερα κύρια χαρακτηριστικά:

1. **Ικανότητα διάκρισης του ξένου:** Το ανοσολογικό σύστημα είναι σε θέση να ξεχωρίζει αν κάποια ουσία με την οποία έρχεται σε επαφή δεν μοιάζει από πλευράς δομής με συστατικά του ίδιου του οργανισμού και να την αναγνωρίζει σαν ξένη (βλ. εικ. 2.2.).



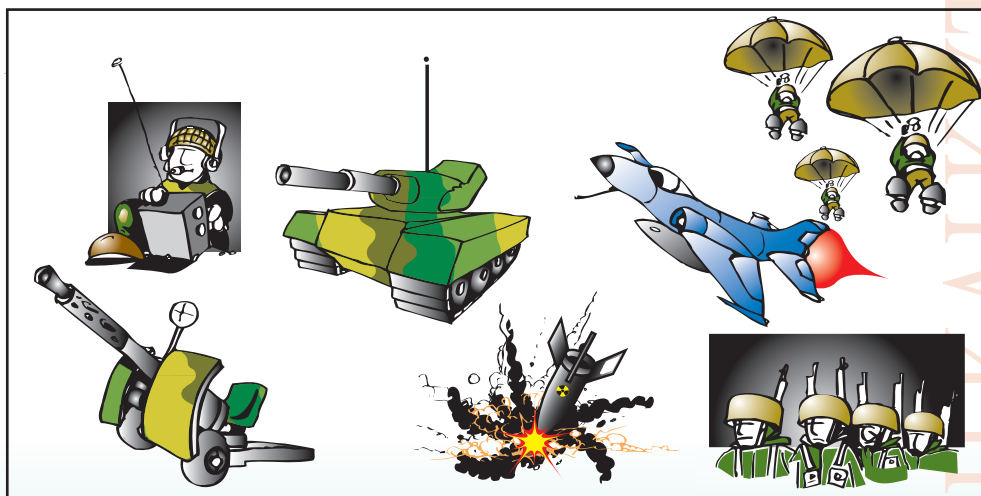
Εικόνα 2.2: Ικανότητα διάκρισης του ξένου.

2. **Ειδικότητα:** Η αντίδραση του ανοσολογικού συστήματος είναι τέτοια ώστε να στρέφεται ειδικά εναντίον του παράγοντα που προκάλεσε την ανοσολογική αντίδραση (δηλαδή του ανοσογόνου). Έτσι το παραγόμενο αντίσωμα, μετά από επαφή με ένα αντιγόνο έχει τέτοια χημική δομή ώστε να μπορεί να αντιδρά και να συνδέεται σχεδόν αποκλειστικά με αυτό.



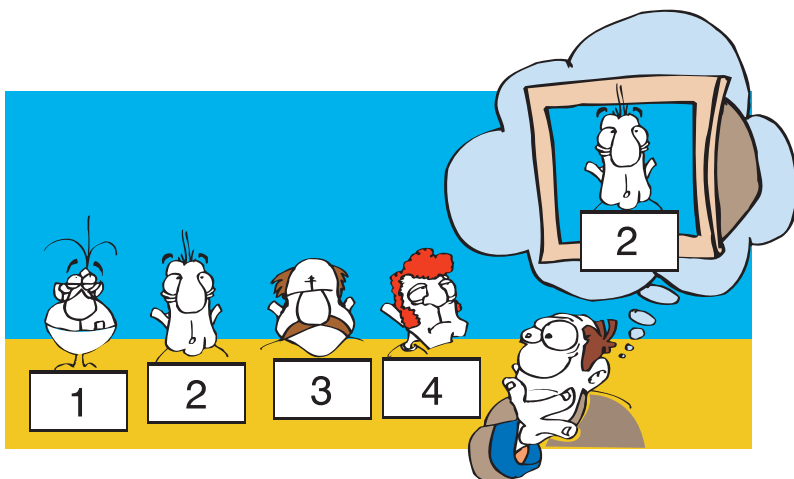
Εικόνα 2.3: Ειδικότητα.

3. **Ποικιλομορφία:** Στην ειδική ανοσία έχουμε μια μεγάλη ποικιλία κυττάρων και ουσιών που συμμετέχουν στην αντιμετώπιση της "εξωτερικής απειλής". Οι μηχανισμοί που επιστρατεύονται σε κάθε περίπτωση εξαρτώνται από το είδος του αντιγόνου.



Εικόνα 2.4: Ποικιλομορφία επιστρατευόμενων μέσων και μηχανισμών.

4. **Μνήμη:** Είναι η ικανότητα των κυττάρων του ανοσολογικού συστήματος να διατηρούν την "ανάμνηση" ενός αντιγόνου με το οποίο έχουν έρθει σε επαφή κατά το παρελθόν. Σαν αποτέλεσμα αυτού είναι η ικανότητα του συστήματος να εμφανίζει εντονότερη και ταχύτερη αντίδραση σε περίπτωση νέας επαφής με το αντιγόνο.



Εικόνα 2.5: Ανοσολογική μνήμη.

Τρόποι απόκτησης ανοσίας

Όταν η ειδική ανοσία που αποκτούμε γίνεται με φυσικό τρόπο (προσβολή από μικροοργανισμό), λέγεται **φυσική ανοσία**, όπως για παράδειγμα συμβαίνει όταν προσβληθούμε από ιλαρά ή ερυθρά. Στη περίπτωση που θέλουμε να αποκτήσουμε ανοσία σε κάποιο βλαπτικό παράγοντα, μπορούμε σε αρκετές περιπτώσεις να το κάνουμε με τον εμβολιασμό. Επειδή σ' αυτή την περίπτωση, η ανοσία που αποκτούμε δημιουργείται με τεχνητό τρόπο λέγεται **τεχνητή ανοσία** (βλ. κεφ. 6°).

2.2 Χυμική και κυτταρική ανοσία

2.2.1 Γενικά

Οι τρόποι ή μηχανισμοί με τους οποίους εκδηλώνεται η ανοσολογική αντίδραση του οργανισμού είναι, όπως αναφέραμε και πιο πάνω, η **χυμική ανοσία** και η **κυτταρική ανοσία**.

- Η χρήση του όρου **χυμική ανοσία** (humoral immunity) αποσκοπεί στο να δείξει ότι τα παραγόμενα προϊόντα αυτού του μηχανισμού ανοσίας μπορούν να κυκλοφορούν στα υγρά του σώματος (χυμοί), όπως είναι το αίμα, το εξωκυττάριο υγρό και διάφορες εκκρίσεις οργάνων. Πραγματικά, ο *τρόπος αυτός ανοσίας πραγματοποιείται με την παραγωγή των αντισωμάτων* τα οποία κυκλοφορούν στα υγρά του σώματος που αναφέραμε. Αξίζει να αναφερθεί ότι η πρώτη πειραματική απόδειξη για την ύπαρξη της χυμικής ανοσίας έγινε πριν από 100 και πλέον χρόνια, όταν οι επιστήμονες πήραν ορό από ζώα που είχαν αποθεραπευτεί από διφθερίτιδα και τον μετέφεραν σε υγιή ζώα που δεν είχαν ποτέ προσβληθεί από τη νόσο αυτή, διαπιστώνοντας στη συνέχεια ότι τα ζώα που πήραν αυτό τον ορό αποδείχτηκαν ανθεκτικά στην προσβολή από διφθερίτιδα. Αυτό οφειλόταν στο ότι με τον ορό που δέχτηκαν,

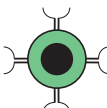
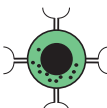
πήραν έτοιμα αντισώματα εναντίον της τοξίνης που παράγει το βακτηρίδιο της διφθερίτιδας (και που είναι υπεύθυνη για τα σοβαρά επακόλουθα της νόσου). Τα υπεύθυνα κύτταρα για την εκδήλωση της χυμικής ανοσίας είναι τα λεγόμενα **B-λεμφοκύτταρα**

Η χυμική ανοσία χρησιμεύει κυρίως για την άμυνά μας εναντίον μικροοργανισμών που δεν εισέρχονται στο εσωτερικό των κυττάρων του οργανισμού μας (εξωκυττάρια βακτήρια) καθώς και εναντίον των τοξινών που παράγουν. (Βλ. εικόνα 2.6)

- Η χρήση του όρου **κυτταρική ανοσία** (cell-mediated immunity) αποσκοπεί στο να δείξει ότι τα εκτελεστικά όργανα αυτής της μορφής ανοσίας είναι κύτταρα και όχι πρωτεϊνικά μόρια όπως στη χυμική ανοσία. Στην περίπτωση αυτή, η επαφή του οργανισμού με ένα αντιγόνο οδηγεί στην παραγωγή *ειδικών ευαισθητοποιημένων λεμφοκυττάρων* για την αντιμετώπισή του. Τα υπεύθυνα κύτταρα για την εκδήλωση της κυτταρικής ανοσίας είναι τα λεγόμενα **T- λεμφοκύτταρα**. Σε αντίθεση με τη χυμική ανοσία, όπου τα παραγόμενα αντισώματα έχουν την ικανότητα να ενωθούν και να εξουδετερώσουν το αντιγόνο, τα ευαισθητοποιημένα T- λεμφοκύτταρα έχουν διαφορετικό τρόπο δράσης. Η μία τους δυνατότητα είναι ότι μπορούν να καταστρέφουν κύτταρα μικροοργανισμών (κυτταροτοξικότητα) και η άλλη τους δυνατότητα είναι ότι μπορούν να παράγουν ουσίες, τις *κυτταροκίνες*, που μπορούν να επιστρατεύσουν άλλα κύτταρα για να συμβάλουν στην εξουδετέρωση του βλαπτικού παράγοντα. Αυτές οι ουσίες που παράγονται έχουν την δυνατότητα, από τη μια να μεταφέρουν το μήνυμα της επιστράτευσης κι από την άλλη να "ξεσηκώνουν" άλλα κύτταρα στον αγώνα εναντίον του εισβολέα. Η κυτταρική ανοσία σε κάποιο παράγοντα δεν μπορεί να μεταβιβαστεί μέσω του ορού ενός ζώου σε άλλο διότι οι φορείς της ανοσίας αυτής είναι κύτταρα και όχι διαλυτές ουσίες στο ορό. Αυτό είναι δυνατό μόνο με τη χορήγηση ολικού αίματος που περιέχει ευαισθητοποιημένα T-λεμφοκύτταρα από ένα οργανισμό σε άλλο.

Η κυτταρική ανοσία χρησιμεύει κυρίως για την άμυνά μας εναντίον μικροοργανισμών που εισέρχονται στο εσωτερικό των κυττάρων του οργανισμού μας, όπως διάφορα ενδοκυττάρια βακτήρια (βρουκέλλα του μελιταίου πυρετού, μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης κλπ), οι ιοί και τα παράσιτα. (Βλ. εικόνα 2.6)

Είναι πολύ σημαντικό να καταλάβουμε ότι οι δύο τρόποι ή μηχανισμοί ανοσολογικής αντίδρασης, αν και διαφορετικοί μεταξύ τους, δεν είναι ανεξάρτητοι ο ένας από τον άλλον και ότι η λειτουργία του ενός δεν αποκλείει την παράλληλη δράση του άλλου. Για παράδειγμα, ξέρουμε ότι η παραγωγή των ανοσοσφαιρινών (αντισωμάτων) εξαρτάται από ουσίες που παράγουν τα T-λεμφοκύτταρα και ότι αρκετά από τα επακόλουθα του μηχανισμού της κυτταρικής ανοσίας εξαρτώνται από την ύπαρξη των αντισωμάτων (χυμική ανοσία). Με λίγα λόγια *χυμική και κυτταρική ανοσία είναι μηχανισμοί που συνεργάζονται και εξαρτώνται,*

ΣΥΓΚΡΙΣΗ	ΧΥΜΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ	ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ
ΑΝΤΙΓΟΝΟ	 Εξωκυτάρια βακτηρίδια	  Ενδοκυτάρια βακτηρίδια μέσα σε μακροφάγα Ενδοκυτταριοί ιοί σε σωματικά κύτταρα
ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ	 Β-λεμφοκύτταρο	  Τ-λεμφοκύτταρο Τ-λεμφοκύτταρο
ΕΚΤΕΛΕΣΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ	Παραγωγή αντισωμάτων  Εξουδετέρωση βακτηριδίου	Ενεργοποίηση μακροφάγων Κυτταροτοξικότητα   Φαγοκυττάρωση μικροβίου Λύση του κυττάρου
ΦΟΡΕΑΣ ΤΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ	Αντισώματα	Ευαισθητοποιημένα Τ- λεμφοκύτταρα

Εικόνα 2.6: Σύγκριση χυμικής και κυτταρικής ανοσίας.

ο ένας από τον άλλο. Η σκοπιμότητα αυτής της συνεργασίας είναι αυτονόητη, αν σκεφτεί κανείς πόσο απαραίτητη σε ένα πόλεμο είναι η συνεργασία π.χ. της αεροπορίας με το πεζικό και το ναυτικό!

2.2.2 Διάκριση των λεμφικών οργάνων

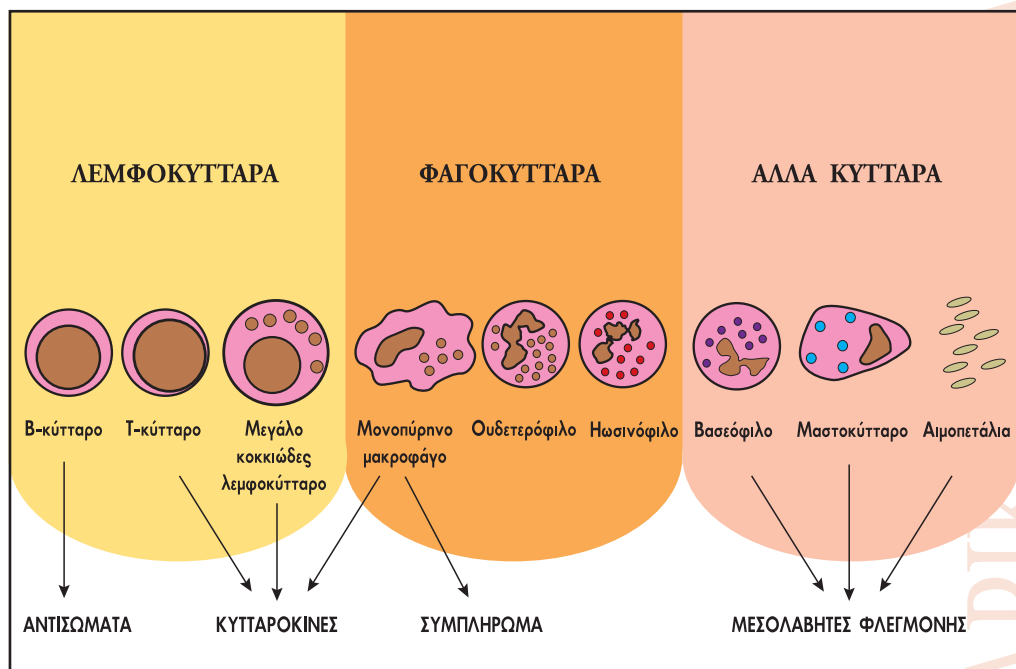
Τα βασικά κύτταρα που είναι υπεύθυνα για την ειδική ανοσία του οργανισμού μας είναι τα *λεμφοκύτταρα*. Για την επίτευξη όμως του σκοπού της ανοσίας συνεργάζονται πολλά είδη κυττάρων, όπως τα πολυμορφοπύρρηνα, τα μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα (μακροφάγα), τα μαστοκύτταρα (ή σιτευτικά κύτταρα) κ.α. που το κάθε ένα έχει το δικό του ρόλο στο σύστημα άμυνας του οργανισμού μας. Στην εικόνα 2.7 βλέπουμε τα κύτταρα που συνεργάζονται στο ανοσολογικό μας σύστημα, καθώς και τον κύριο ρόλο του καθενός.

Τα κύτταρα του ανοσολογικού μας συστήματος βρίσκονται οργανωμένα σε ιστούς και όργανα που τα ονομάζουμε συλλογικά **λεμφικά όργανα (ή λεμφικό σύστημα)**.

Τα λεμφικά όργανα μπορεί να είναι, είτε οργανωμένοι και ξεχωριστοί σχηματισμοί που έχουν περίβλημα (κάψα), όπως ο σπλήνας, ο θύμος αδένας, οι διάφοροι λεμφαδένες του σώματος είτε απλά να είναι συσσωρεύσεις κυττάρων του λεμφικού ιστού σε διάφορα σημεία του σώματος, όπως π.χ. οι πλάκες του Payer (Παυῆριες πλάκες) στο έντερο ή ο λεμφικός ιστός του αναπνευστικού συστήματος γνωστός σαν BALT.

Τα λεμφικά όργανα μπορούμε να τα διακρίνουμε σε *κεντρικά ή πρωτογενή* και σε *περιφερικά ή δευτερογενή*:

Α. Κεντρικά (Πρωτογενή) λεμφικά όργανα: Αυτά αποτελούν τις κύριες εστίες παραγωγής και δια-

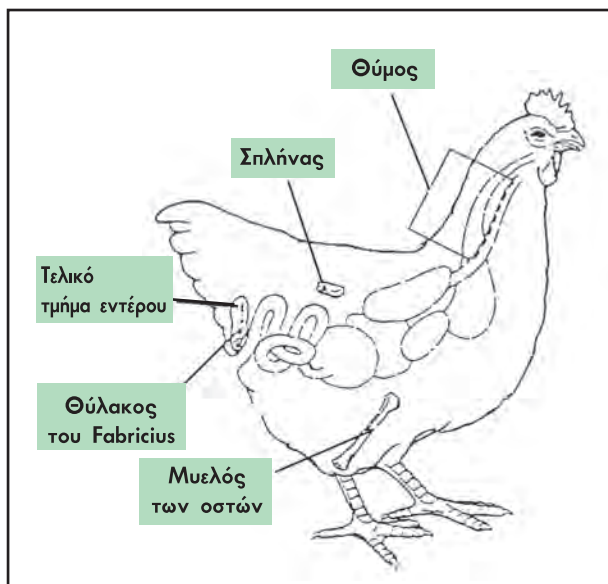


Εικόνα 2.7: Τα κύτταρα που συνεργάζονται για την ανοσία του οργανισμού.

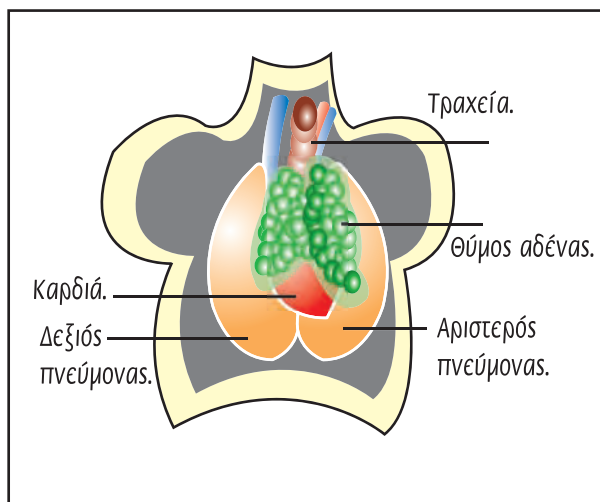
φοροποίησης των λεμφοκυττάρων. Εκεί πολλαπλασιάζονται και ωριμάζουν σε εκτελεστικά (δραστικά) κύτταρα έτσι ώστε να μπορούν να ασκούν τις ανοσολογικές τους λειτουργίες. Στον άνθρωπο, όπως και στα υπόλοιπα θηλαστικά τα *T-λεμφοκύτταρα* αναπτύσσονται και ωριμάζουν στον **θύμο αδέν**α ενώ τα *B-λεμφοκύτταρα* αναπτύσσονται και ωριμάζουν στο **μυελό των οστών** (ή το εμβρυϊκό ήπαρ, κατά την αντίστοιχη περίοδο της ζωής).

Τα T-λεμφοκύτταρα πήραν το όνομά τους από το αρχικό γράμμα της λέξης θύμος (στα αγγλικά Thymus). Στα πουλιά υπάρχει ένα λεμφικό όργανο που βρίσκεται στο τελικό τμήμα του εντέρου και ονομάζεται θύλακος του Fabricius (Bursa Fabricius) (βλ. εικ. 2.8). Η σημασία του οργάνου αυτού έχει να κάνει με την ονομασία των B-λεμφοκυττάρων γιατί εκεί βρέθηκε ότι αναπτύσσονται και ωριμάζουν τα κύτταρα αυτά στα πουλιά. Από το αρχικό γράμμα της λέξης Bursa (θύλακος) πήραν την ονομασία B-λεμφοκύτταρα. Τον αντίστοιχο ρόλο του θυλάκου του Fabricius στον άνθρωπο πιστεύεται ότι παίζει ο μυελός των οστών.

- ❖ Ο **θύμος αδέν**ας είναι ένα μικρό, περίπου τριγωνικό, λεμφικό όργανο που βρίσκεται μέσα στη θωρακική κοιλότητα πίσω από το στήρνο και στον ενήλικα έχει βάρος γύρω στα 30-40 γραμμάρια (βλ.εικ. 2.9). Μετά τη γέννηση το μέγεθός του συνεχώς αυξάνει μέχρι την περίοδο της εφηβείας ενώ ατροφεί όσο μεγαλώνει η ηλικία. Αρχέγονα λεμφοειδή κύτταρα που παράγονται στο μυελό των οστών μεταναστεύουν στο θύμο αδένα και εκεί πολλαπλασιάζονται και τροποποιούνται ώστε να αποκτήσουν τις



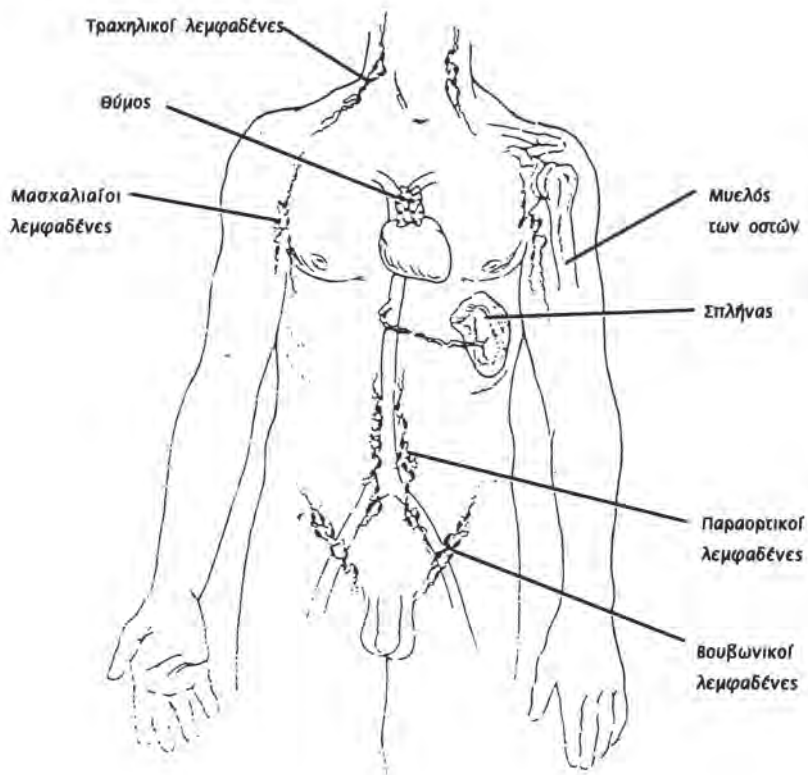
Εικόνα 2.8: Ο θύλακος του Fabricius στα πουλιά.



Εικόνα 2.9: Ο θύμος αδένas.

ιδιότητες των Τ-λεμφοκυττάρων. Τα ώριμα Τ-λεμφοκύτταρα εγκαταλείπουν τον θύμο αδένas και μέσω της κυκλοφορίας του αίματος μεταναστεύουν στις περιοχές που βρίσκονται τα περιφερικά ή δευτερογενή λεμφικά όργανα.

- ❖ Ο μυελός των οστών είναι, όπως γνωρίζουμε, το μέρος όπου παράγονται όλα τα κύτταρα του αίματος από τα αρχέγονα πολυδύναμα κύτταρα που είναι οι πρόγονοί τους. Ο μυελός των οστών στον άνθρωπο αποτελεί επίσης και το περιβάλλον πολλαπλασιασμού και ωρίμανσης των Β-λεμφοκυττάρων υπό



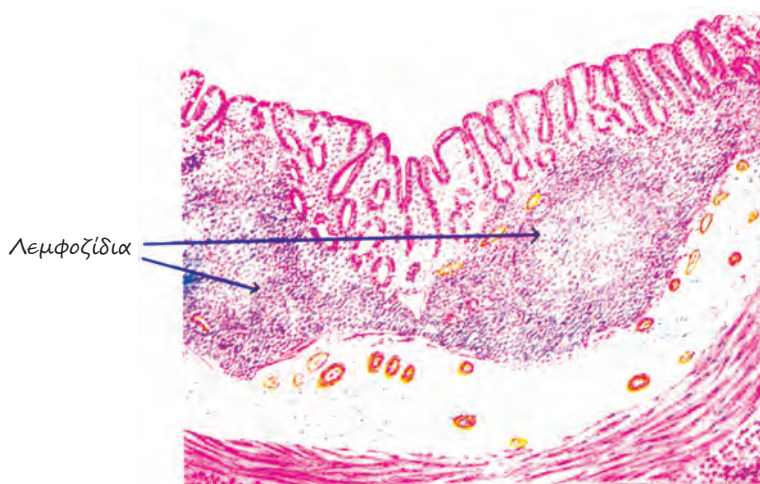
Εικόνα 2.10: Κατανομή των λεμφικών οργάνων στο σώμα.

την επίδραση διαφόρων παραγόντων. Ωριμάζοντας τα Β-λεμφοκύτταρα εγκαταλείπουν το μυελό των οστών, διαθέτοντας στη μεμβράνη τους ειδικούς υποδοχείς, έτοιμους να ανταποκριθούν σε συγκεκριμένα αντιγόνα που ενδεχόμενα κάποτε να συναντήσουν.

Β. Περιφερικά (Δευτερογενή) λεμφικά όργανα: Σε αυτά δημιουργείται το περιβάλλον όπου τα λεμφοκύτταρα μπορούν να επιδράσουν το ένα πάνω στο άλλο, να δεχθούν την επίδραση του αντιγόνου ώστε τελικά να διοχετευθούν τα προϊόντα της ανοσολογικής αντίδρασης (κύτταρα ή παραγόμενες ουσίες) προς το υπόλοιπο σώμα. Τα περιφερικά λεμφικά όργανα είναι οι *λεμφαδένες*, ο *σπλήνας* και οι *περιοχές με λεμφικό ιστό στους βλεννογόνους* διαφόρων οργάνων γνωστές συνολικά με τον όρο *MALT* (Mucosal associated lymphoid tissue).

- ❖ Οι *λεμφαδένες* είναι μικρά όργανα με σχήμα φασολιού που βρίσκονται σε διάφορες στρατηγικές περιοχές του σώματος και αποτελούν κατά κάποιο τρόπο τα φίλτρα, που δέχονται τα υγρά (λέμφο) από τους διάφορους ιστούς πριν ξαναγυρίσουν στην κυκλοφορία του αίματος. Στο σώμα μας υπάρχουν πολλές ομάδες λεμφαδένων όπως οι τραχηλικοί, οι μασχαλιαίοι, οι βουβωνικοί, οι μεσοθωρακικοί, οι παραορτικοί και άλλοι, (εικόνα 2.10).

- ❖ Ο σπλήνας είναι ένα συμπαγές όργανο που βρίσκεται αριστερά στο βάθος του άνω μέρους της κοιλιάς, χρησιμεύει σαν αιματοποθήκη, και εκεί γίνεται η καταστροφή των γερασμένων κυττάρων του αίματος. Παράλληλα όμως, στην περιοχή του που λέγεται λευκός πολφός, υπάρχουν αθροίσεις λεμφοκυττάρων (λεμφοζίδια) και βλαστικά κέντρα που αποτελούν το κύριο μέρος παραγωγής των Β-λεμφοκυττάρων, ενώ γύρω από τις μικρές αρτηρίες του λευκού πολφού βρίσκονται τα Τ-λεμφοκύτταρα. Γύρω από το λευκό πολφό υπάρχει ο ερυθρός πολφός που περιέχει μεγάλο αριθμό ερυθρών αιμοσφαιρίων.
- ❖ Ο λεμφικός ιστός των βλεννογόνων (MALT) είναι σκορπισμένος στο βλεννογόνο διαφόρων οργάνων όπως το πεπτικό, το αναπνευστικό και το ουροποιητικό σύστημα. Τα λεμφοκύτταρα σε ορισμένα σημεία σχηματίζουν στρογγυλούς σχηματισμούς, τα λεγόμενα λεμφοζίδια. Τέτοια οργανωμένα και χαρακτηριστικά λεμφοζίδια συναντούμε στις Παυΐριες πλάκες του βλεννογόνου του εντέρου, στις αμυγδαλές και στη σκωληκοειδή απόφυση. (Εικόνα 2.11)

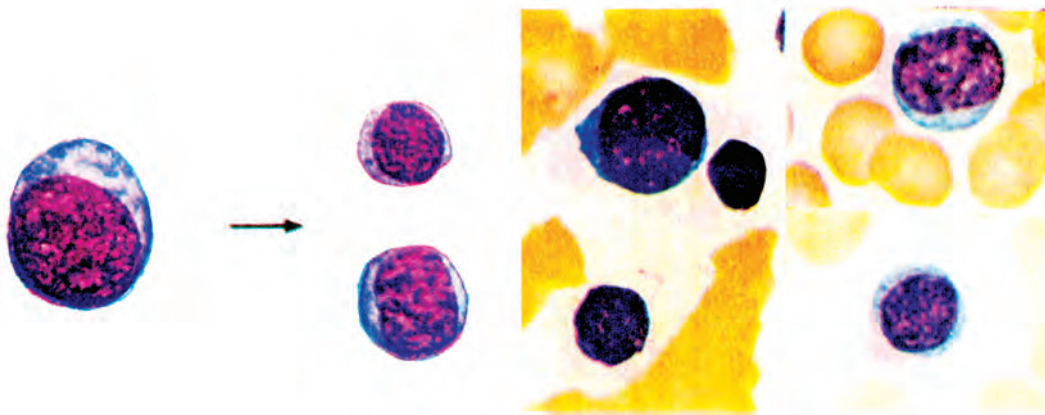


Εικόνα 2.11: Ιστολογική τομή βλεννογόνου του εντέρου που δείχνει την χαρακτηριστική σφαιρική άθροιση λεμφοζιδίων που είναι γνωστά σαν Παυΐριες πλάκες.

2.2.3 Λεμφοκύτταρα

Παρά το ότι στους μηχανισμούς της ανοσίας συμμετέχουν πολλά είδη κυττάρων, τα λεμφοκύτταρα είναι τα μοναδικά κύτταρα στο σώμα που έχουν την ικανότητα να αναγνωρίζουν τις καθοριστικές ομάδες των αντιγόνων. Για το λόγο αυτό τα κύτταρα αυτά είναι εκείνα με τα οποία πραγματοποιείται η ειδική ανοσολογική αντίδραση του οργανισμού.

Υπολογίζεται ότι ο οργανισμός μας παράγει κάθε μέρα ένα δισεκατομμύριο λεμφοκύτταρα τα οποία θα τροφοδοτήσουν την κυκλοφορία, και τα λεμφικά όργανα. Τα λεμφοκύτταρα στο αίμα μας αποτελούν περίπου το 20-35 % των λευκών αιμοσφαιρίων. Τα λεμφοκύτταρα είναι περίπου στρογγυλά κύτταρα με

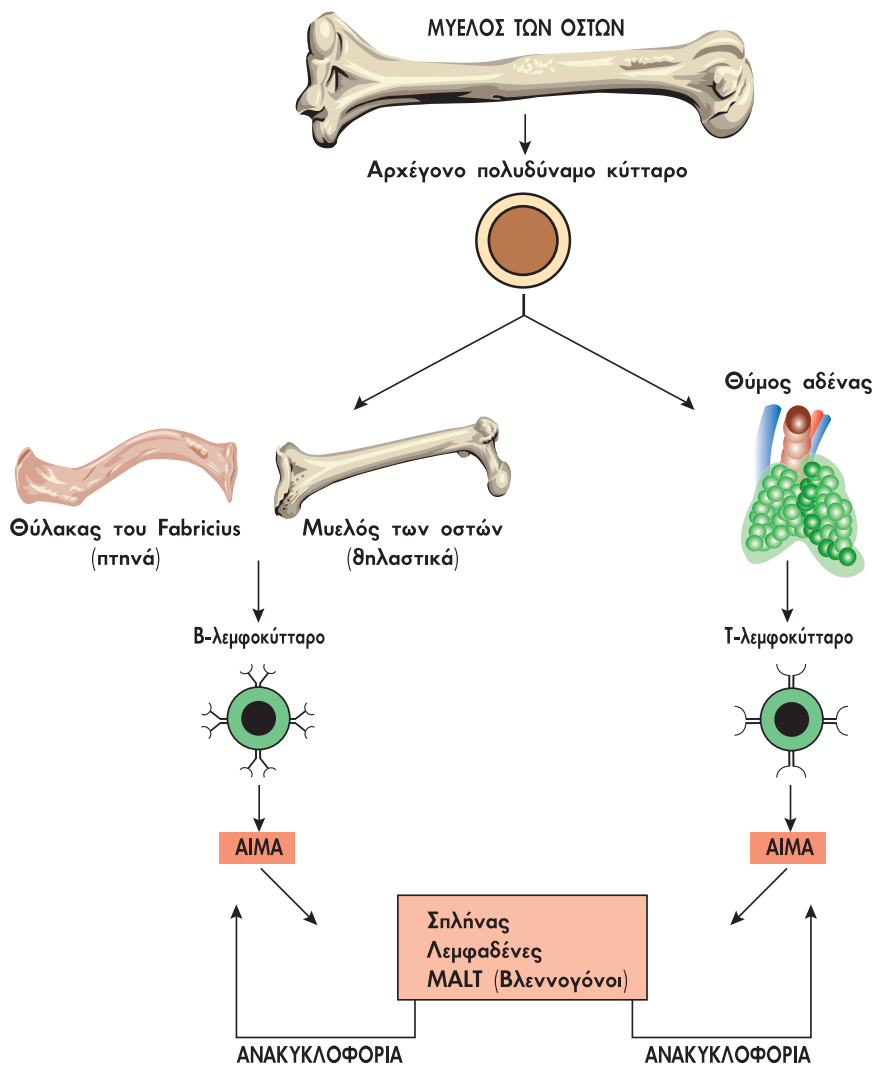


Εικόνα 2.12: *Αριστερά:* Ωρίμανση ενός άωρου λεμφοκυττάρου σε ώριμο λεμφοκύτταρο. *Δεξιά:* Τυπικά λεμφοκύτταρα στο μυελό των οστών και το περιφερικό αίμα

διάμετρο 6-10μm και το χαρακτηριστικό τους είναι το μεγάλο μέγεθος του πυρήνα τους σε σχέση με το κυτταρόπλασμα (Εικόνα 2.12).

Τα λεμφοκύτταρα, όπως και όλα τα άλλα κύτταρα του αίματος προέρχονται από ένα κοινό προγονικό κύτταρο του μυελού των οστών που λέγεται **αρχέγονο πολυδύναμο κύτταρο** (stem cell). Από αυτό δημιουργείται το προγονικό κύτταρο των λεμφοκυττάρων το οποίο, ανάλογα με το περιβάλλον στο οποίο θα βρεθεί και υπό την επίδραση τοπικών παραγόντων, θα υποστεί ορισμένες αλλαγές (διαφοροποίηση). Ένα μέρος αυτών των κυττάρων θα μετακινηθούν προς το **θύμο αδέν** και εκεί θα μετατραπούν σε μικρά λεμφοκύτταρα, τα λεγόμενα *T- λεμφοκύτταρα* που είναι υπεύθυνα για το σκέλος της **κυτταρικής ανοσίας**. Ένα άλλο μέρος των κυττάρων θα υποστεί την επίδραση του αντίστοιχου προς το **θύλακο του Fabricius** οργάνου, που στον άνθρωπο και τα υπόλοιπα θηλαστικά θεωρείται ότι είναι ο **μυελός των οστών**. Υπό την επίδραση αυτή τα κύτταρα θα μετατραπούν σε μικρά λεμφοκύτταρα, τα λεγόμενα *B-λεμφοκύτταρα* που είναι υπεύθυνα για το σκέλος της **χυμικής ανοσίας**. (βλ. εικόνα 2.13)

Εκτός από τις δυο κύριες ομάδες των T και B-λεμφοκυττάρων υπάρχει και μια τρίτη ομάδα λεμφοκυττάρων που είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος και διαθέτουν άφθονα κοκκία στο κυτταρόπλασμά τους. Αυτή η ομάδα κυττάρων δεν έχει τη δυνατότητα ανάπτυξης υποδοχέων για τα αντιγόνα στη μεμβράνη τους. Αυτά τα λεμφοκύτταρα ονομάστηκαν *κύτταρα φυσικοί-φονείς* (NK cells = *Natural Killer Cells*). Υπάρχουν στον οργανισμό από τη γέννηση και παρά το ότι δεν δημιουργούνται μετά από ανοσολογική διέγερση, ο αριθμός τους και η δραστηριότητά τους αυξάνει υπό την επίδραση διαφόρων κυτταροκινών. Αποτελούν το 10-15% των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος. Ο ρόλος τους είναι ακριβώς να αναγνωρίζουν και να εξοντώνουν ορισμένα κύτταρα όγκων καθώς και κύτταρα που έχουν προσβληθεί από ιούς. Έχουν ακόμα την ικανότητα να συνδέονται και να καταστρέφουν στόχους που έχουν περιχαρακωθεί με αντισώματα που ανήκουν στην τάξη της ανοσοσφαιρίνης IgG. Αυτή η τελευταία ιδιότητα είναι γνωστή σαν **εξαρτώμενη από το αντίσωμα κυτταροτοξικότητα**. Τέλος, τα κύτταρα NK, όταν ενεργοποιούνται, απελευθερώνουν διάφορες κυτταροκίνες όπως η ιντερφερόνη-γ, η ιντερλευκίνη-1 (IL-1) καθώς και ο αυξητικός παράγοντας των πολυμορφοπύρηνων και μονοπύρηνων (GM-CSF). Φαίνεται λοιπόν ότι παράλληλα τα κύτταρα NK παίζουν και ρόλο στη ρύθμιση της ανοσολογικής αντίδρασης του οργανισμού.



Εικόνα 2.13: Διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων σε T- και B- κύτταρα στα πρωτογενή λεμφικά όργανα.

Υποκατηγορίες λεμφοκυττάρων

Τόσο τα T όσο και τα B-λεμφοκύτταρα έχουν τη δυνατότητα ανάπτυξης υποδοχέων για αντιγόνα καθώς και άλλων επιφανειακών μορίων (δεικτών) πάνω στη μεμβράνη τους, που χρησιμεύουν στις διάφορες λειτουργίες τους.

Ανάλογα με τα μόρια -δείκτες που υπάρχουν στην επιφάνεια, τα T-λεμφοκύτταρα έχουν ταξινομηθεί σε κατηγορίες με το λεγόμενο σύστημα CD (Cluster Designation - σύστημα ταξινόμησης που χρησιμοποιεί τα μονοκλωνικά αντισώματα για την ανίχνευση των επιφανειακών δεικτών). Βάσει αυτού του συστήματος αναγνωρίστηκαν δυο υποκατηγορίες (υποπληθυσμοί) T- λεμφοκυττάρων: 1) Η υπο-

κατηγορία CD4 που περιλαμβάνει τα βοηθητικά ή επαγωγικά T- λεμφοκύτταρα ($T_H = T\text{-Helper}$) και 2) Η υποκατηγορία CD8 που περιλαμβάνει τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα ($T_c = T\text{-cytotoxic}$) καθώς και τα κατασταλτικά T- λεμφοκύτταρα ($T_s = T\text{-suppressor}$). Τα βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα (T_H) τα οποία διακρίνονται σε δυο υποομάδες τα T_{H1} και τα T_{H2} (που παράγουν διαφορετικές κυτταροκίνες), διευκολύνουν τα B-λεμφοκύτταρα να μετατραπούν σε πλασματοκύτταρα που θα παραγάγουν τις ανοσοσφαιρίνες, ενώ βοηθούν και τους μηχανισμούς κυτταρικής ανοσίας (κυτταροτοξικότητα). Τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα (T_c) έχουν την ικανότητα να καταστρέφουν κύτταρα όγκων και κύτταρα που έχουν προσβληθεί από ιό. Τέλος, τα κατασταλτικά λεμφοκύτταρα δρουν παρεμποδίζοντας τη χυμική (B-λεμφοκύτταρα) και κυτταρική (T-λεμφοκύτταρα) ανοσολογική αντίδραση.

2.2.4 Διαφορές T-Λεμφοκυττάρων και B-Λεμφοκυττάρων

Είδαμε προηγουμένως ότι τα T και B-λεμφοκύτταρα έχουν κοινή προέλευση από το αρχέγονο πολυδύναμο κύτταρο του μυελού των οστών και ότι η διαφοροποίησή τους στις δυο κύριες ομάδες γίνεται σε κεντρικά λεμφικά όργανα πριν αποκτήσουν τις ιδιαίτερές τους ιδιότητες. Οι δυο ομάδες λεμφοκυττάρων έχουν αρκετά κοινά σημεία, όπως την ειδικότητα για συγκεκριμένο αντιγόνο, την ικανότητα μεγάλου πολλαπλασιασμού τους όταν εκτεθούν σε αντιγόνο με το οποίο έχουν έρθει σε επαφή κατά το παρελθόν (δευτερογενής ανοσολογική αντίδραση), την ύπαρξη ειδικών υποδοχέων για το αντιγόνο στην επιφάνειά τους και βέβαια το γεγονός ότι βρίσκονται σε συνεργασία και αλληλεξάρτηση για την επιτέλεση του έργου της ανοσίας.

Οι βασικές διαφορές των δύο αυτών ομάδων λεμφοκυττάρων είναι οι ακόλουθες:

- ❖ Η διαφοροποίησή τους γίνεται σε διαφορετικό κεντρικό λεμφικό όργανο-στον θύμο αδένα για τα T-λεμφοκύτταρα και στον μυελό των οστών (αντίστοιχο για τον ενήλικα λεμφικό όργανο του θυλάκου του Fabricius) για τα B-λεμφοκύτταρα.
- ❖ Τα T-λεμφοκύτταρα δεν παράγουν αντισώματα και εξυπηρετούν την κυτταρική ανοσία, ενώ τα B-λεμφοκύτταρα παράγουν αντισώματα και εξυπηρετούν την χυμική ανοσία.
- ❖ Τα T-λεμφοκύτταρα απαρτίζουν περίπου το 80% ενώ τα B-λεμφοκύτταρα το 20% των λεμφοκυττάρων στο αίμα μας.
- ❖ Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, τα T-λεμφοκύτταρα εμφανίζουν αρκετά κοκκία λυσοσωμάτων στο κυτταρόπλασμά τους, ενώ τα B-λεμφοκύτταρα όχι.
- ❖ Τα T-λεμφοκύτταρα έχουν στην επιφάνειά τους λιγότερους υποδοχείς σε σχέση με τα B-κύτταρα. Οι υποδοχείς αυτοί των B-κυττάρων είναι ανοσοσφαιρίνες.
- ❖ Τα T-λεμφοκύτταρα έχουν τη δυνατότητα παραγωγής κυτταροκινών και μέσω αυτής της δράσης ασκούν τον κύριο ρόλο τους στην ανοσία, ενώ τα B-λεμφοκύτταρα έχουν περιορισμένη τη δυνατότητα αυτή γιατί ο κύριος ρόλος τους είναι η παραγωγή αντισωμάτων.
- ❖ Ο ρόλος των T-λεμφοκυττάρων στην ανοσία σχετίζεται με την καταπολέμηση ενδοκυττάρων μικροοργανισμών ενώ ο ρόλος των B-λεμφοκυττάρων με την καταπολέμηση εξωκυττάρων μικροοργανισμών και των τοξινών τους.

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Ανοσία είναι το σύνολο των μηχανισμών με τους οποίους αμύνεται ο οργανισμός εναντίον βλαπτικών παραγόντων (π.χ. μικροοργανισμών). Με τον όρο *εγγενής ή μη ειδική ανοσία* εννοούμε τους γενικούς τρόπους άμυνας του οργανισμού, που λειτουργούν προστατευτικά χωρίς να χρειάζεται ειδική αναγνώριση του βλαπτικού παράγοντα. Στη μη ειδική ανοσία περιλαμβάνεται η προστασία που παρέχει το *δέρμα*, οι *βλεννογόνοι*, οι *διάφορες εκκρίσεις* (βλέννα, σάλιο, ιδρώτας), η *ύπαρξη φυσιολογικών μικροβιακών ενοίκων στο σώμα*, η *ικανότητα της φαγοκυττάρωσης* και *διάφορες ουσίες* όπως η *ιντερφερόνη* και το *συμπλήρωμα*. Η *ειδική ανοσία* αναπτύσσεται μετά από έκθεση του οργανισμού σε παράγοντες που λόγω της χημικής δομής τους μπορούν να δράσουν σαν ανοσογόνα και να διεγείρουν το ανοσολογικό σύστημα ώστε να παράγει είτε *ειδικά αντισώματα* είτε *ειδικά ευαισθητοποιημένα λεμφοκύτταρα* για να τους αντιμετωπίσει. Η αντίδραση με παραγωγή αντισωμάτων γίνεται από τα *B-λεμφοκύτταρα* και λέγεται *χυμική ανοσία* ενώ η αντίδραση με παραγωγή *ευαισθητοποιημένων T-λεμφοκυττάρων* λέγεται *κυτταρική ανοσία*. Τα χαρακτηριστικά της ειδικής ανοσίας είναι 1) η *ικανότητα διάκρισης του ξένου*, 2) η *ειδικότητα*, 3) η *ποικιλομορφία κυττάρων* και *ουσιών* που συμμετέχουν και 4) η *ανοσολογική μνήμη*. Η ειδική ανοσία διακρίνεται σε *φυσική ανοσία* και *τεχνητή ανοσία*. Τα σημαντικότερα κύτταρα της ανοσίας είναι τα λεμφοκύτταρα. Αυτά προέρχονται από το *αρχέγονο πολυδύναμο κύτταρο* του μυελού των οστών. Για να μπορέσουν τα παραγόμενα στο μυελό προγονικά λεμφοκύτταρα να μετατραπούν σε T και B λεμφοκύτταρα πρέπει να υποστούν μια διαδικασία ωρίμανσης. Τα T-κύτταρα ωριμάζουν στο *θύμο* και τα B-κύτταρα στο *μυελό των οστών*. Αυτά τα όργανα (θύμος και μυελός των οστών) λέγονται *κεντρικά (πρωτογενή) λεμφικά όργανα*. Τα άλλα λεμφικά όργανα (σπλήνας, λεμφαδένες, περιοχές στους βλεννογόνους με λεμφικό ιστό) όπου γίνεται η επίδραση του αντιγόνου και η αλληλεπίδραση μεταξύ λεμφοκυττάρων λέγονται *περιφερικά (δευτερογενή) λεμφικά όργανα*. Τα T και B -λεμφοκύτταρα αν και διαφέρουν σε ιδιότητες και λειτουργίες συνεργάζονται μεταξύ τους για την επίτευξη του ανοσολογικού τους σκοπού.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

A) Να δώσετε σύντομες απαντήσεις:

- 1) Τι είναι ανοσία και σε τι διαφέρει η εγγενής ή μη ειδική ανοσία από την ειδική ανοσία;
- 2) Αναφέρατε μερικούς μηχανισμούς εγγενούς ή μη ειδικής ανοσίας.
- 3) Ποιοι είναι οι δυο βασικοί τρόποι (μηχανισμοί) της ειδικής ανοσίας και γιατί ονομάζονται έτσι;
- 4) Ποια είναι τα τέσσερα βασικά χαρακτηριστικά της ειδικής ανοσίας;
- 5) Ποια είναι τα κεντρικά (πρωτογενή) και ποια τα περιφερικά (δευτερογενή) λεμφικά όργανα και ποιος ο ρόλος της κάθε ομάδας λεμφικών οργάνων;
- 6) Ποια είδη κυττάρων συμμετέχουν στην ειδική ανοσία;
- 7) Από πού προέρχονται τα λεμφοκύτταρα και πώς γίνεται διαφοροποίησή τους σε T και B- λεμφοκύτταρα;
- 8) Ποιες είναι οι κύριες διαφορές μεταξύ T και B-λεμφοκυττάρων;

B) Να συμπληρώσετε τις λέξεις που λείπουν:

- 1) Στον άνθρωπο τα λεμφοκύτταρα αναπτύσσονται και ωριμάζουν σε T-κύτταρα στο αδένα, σε δε B-κύτταρα στο
- 2) Οι σφαιρικές αθροίσεις λεμφικού ιστού στους βλεννογόνους διαφόρων οργάνων λέγονται και τέτοιο παράδειγμα είναι οι που βρίσκονται στον βλεννογόνο του εντέρου.
- 3) Το λεμφικό όργανο των πουλιών στο οποίο γίνεται η ωρίμανση των B-κυττάρων (και από το οποίο πήραν και το όνομά τους σαν B) είναι
- 4) Τα κύτταρα φυσικοί- φονείς (NK cells) είναι στη πραγματικότητα που μπορούν να κύτταρα που προέρχονται από όγκους ή κύτταρα που έχουν προσβληθεί από
- 5) Τα λεμφοκύτταρα χαρακτηρίζονται από το σχεδόν σχήμα τους και τον σε σχέση με το κυτταρόπλασμα πυρήνα τους.

Γ) Επιλέξατε τη σωστή απάντηση.

1) Τα B-λεμφοκύτταρα:

- α) Ανήκουν στους μηχανισμούς της εγγενούς ή μη ειδικής ανοσίας.
- β) Δεν έχουν υποδοχείς για αντιγόνα στη μεμβράνη τους.
- γ) Αναπτύσσονται και ωριμάζουν στον σπλήνα.
- δ) Είναι υπεύθυνα για την παραγωγή αντισωμάτων.
- ε) Είναι περισσότερα από τα T-λεμφοκύτταρα στο περιφερικό αίμα.

2) Τα T-λεμφοκύτταρα:

- α) Προέρχονται από τα μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα
- β) Παράγουν διάφορες κυτταροκίνες
- γ) Αναπτύσσονται και ωριμάζουν στις Παυέριες πλάκες του εντέρου
- δ) Είναι υπεύθυνα για τη χυμική ανοσία
- ε) Έχουν σχέση με την ανοσία εναντίον εξωκυττάρων μικροοργανισμών

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

3.1 Ορισμός

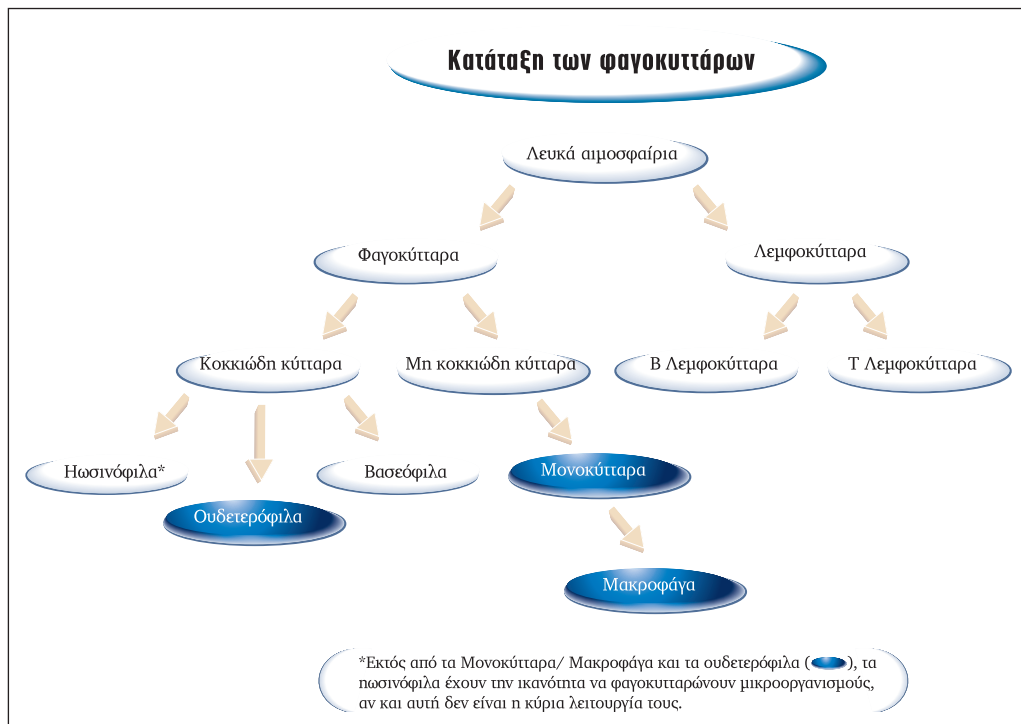
Φαγοκυττάρωση είναι ο μηχανισμός με τον οποίο κάποιες κατηγορίες κυττάρων εσωτερικεύουν και αποικοδομούν στο κυτταρόπλασμά τους ξένα κύτταρα ή σωματίδια (π.χ. βακτήρια, μύκητες, σωματίδια άνθρακα κ.τ.λ.).

Το 1884, ο Ρώσος ανοσολόγος Elie Metchnikoff (1845-1916, βραβείο Nobel το 1908) παρατήρησε συγκεκριμένα κύτταρα του αρθρόποδου *Daphnia sp.* να εγκολπώνουν κύτταρα του μύκητα *Blastomyces sp.*. Ονόμασε τα κύτταρα του αρθρόποδου **φαγοκύτταρα** και τη διαδικασία φαγοκυττάρωση. Η φαγοκυττάρωση επιτελείται σε όλους τους ζωικούς οργανισμούς από τα μονοκύτταρα πρωτόζωα μέχρι τους ανώτερους οργανισμούς. Πρόκειται για έναν από τους πιο αρχέγονους μηχανισμούς άμυνας. Τα φαγοκύτταρα δρουν με τον ίδιο τρόπο σε όλα τα φυσιολογικά άτομα και μπορούν να αντιμετωπίσουν πληθώρα παθογόνων μικροοργανισμών χωρίς να απαιτείται προηγούμενη έκθεση του ξενιστή. Συμμετέχουν τόσο στη διεργασία της φλεγμονής, που είναι μηχανισμός της μη ειδικής άμυνας, όσο και στους μηχανισμούς της ειδικής άμυνας. Σε αυτή την περίπτωση τα φαγοκύτταρα και συγκεκριμένα τα μακροφάγα παρουσιάζουν στην επιφάνειά τους πεπτιδία προερχόμενα από την αποικοδόμηση των φαγοκυτταρομένων μικροοργανισμών ενεργοποιώντας τα CD4 (T_H) βοηθητικά λεμφοκύτταρα.

Φλεγμονή είναι η αλληλουχία διαδοχικών φαινομένων που προκαλείται από την κάκωση κάποιου ιστού είτε από τη δράση μικροοργανισμών είτε από φυσική βλάβη (χημικές ουσίες, έγκαυμα, τραύμα κ.τ.λ.) που καταλήγουν στην αποκατάσταση των βλαβών (πχ. επούλωση του τραύματος). Χαρακτηρίζεται από πόνο, οίδημα (πρήξιμο), φλόγωση και κοκκίνισμα. Αυτό οφείλεται στην αύξηση της ροής του αίματος και στην ταυτόχρονη αύξηση της διαπερατότητας των τοιχωμάτων των αιμοφόρων αγγείων. Οι διεργασίες αυτές δίνουν τη δυνατότητα σε μεγάλο αριθμό φαγοκυττάρων να κατευθυνθούν προς την εστία της μόλυνσης και να αναλάβουν δράση άμεσα. Παράλληλα το πλάσμα του αίματος αραιώνει τις τοξίνες των μικροοργανισμών παρεμποδίζοντας τη δράση τους, ενώ μια πλειάδα αντιμικροβιακών ουσιών που περιέχει επιτυγχάνουν την εξουδετέρωσή τους.

3.2 Φαγοκύτταρα

Η λειτουργία της φαγοκυττάρωσης πραγματοποιείται από τα φαγοκύτταρα. Σε αυτή την κατηγορία κατατάσσονται: 1. Το **σύστημα των μονοπύρηνων φαγοκυττάρων** που αποτελείται από τα **μονοκύτταρα** του αίματος και από τα **μακροφάγα των ιστών**, και 2. Τα **ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρνηνα**.

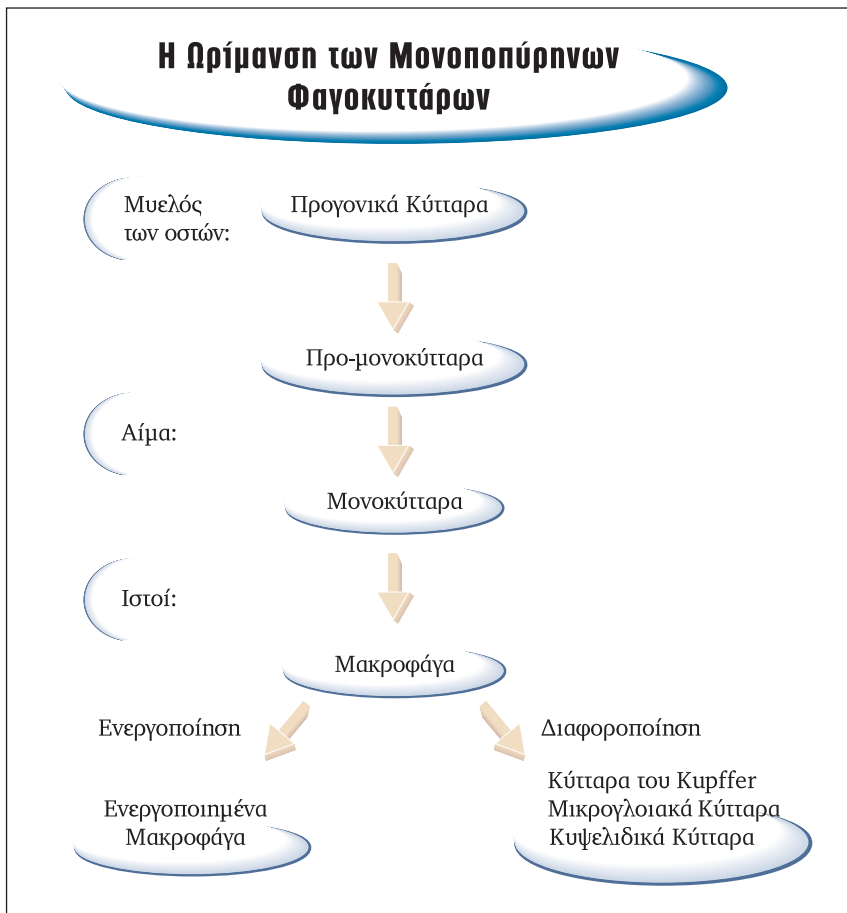


Εικόνα 3.1 Η κατάταξη των φαγοκυττάρων.

3.3 Σύστημα Μονοπύρηνων - Μακροφάγων

Τα κύτταρα του συστήματος των μονοπύρηνων φαγοκυττάρων παράγονται στο μυελό των οστών. Εκεί ωριμάζουν και καταλήγουν στη μορφή των προ-μονοκυττάρων. Τα προ-μονοκύτταρα εισέρχονται στο αίμα και διαφοροποιούνται στα μονοκύτταρα. Εκεί παραμένουν για 8 περίπου ώρες, στη συνέχεια μεταναστεύουν στους ιστούς και διαφοροποιούνται στα μακροφάγα.

Τα μακροφάγα βρίσκονται σε όλους τους ιστούς του σώματος, εξυπηρετούν διαφορετικές λειτουργίες και αποκτούν ανάλογη μορφολογία και αντίστοιχη ονομασία. Ορισμένα από αυτά αποτελούν μέρος της δομής του ιστού στον οποίο μεταναστεύουν, ενώ η διάρκεια ζωής τους ανέρχεται σε μήνες.



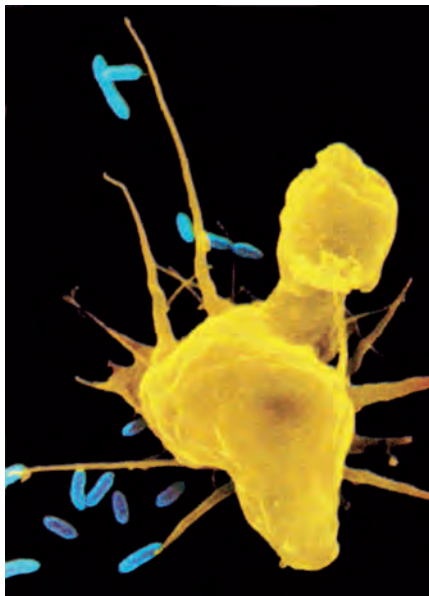
Εικόνα 3.2 Η ωρίμανση των Μονοπύρηνων Φαγοκυττάρων.

Κύτταρα του Συστήματος Μονοπύρηνων - Μακροφάγων

Τύπος κυττάρων	Ιστοί/ Όργανα στα οποία βρίσκονται
Μονοκύτταρα	Κυκλοφορούν στο αίμα
Κύτταρα του Kupffer	Ήπαρ
Μεσαγγειακά κύτταρα	Νεφρούς
Κυψελιδικά κύτταρα	Πνεύμονες
Μικρογλοιακά κύτταρα	Εγκέφαλο
Ορογονικά μακροφάγα	Περιτοναϊκή κοιλότητα
Μακροφάγα κολποειδών	Σπλήνα και λεμφαδένες

Εικόνα 3.3 Τα κύτταρα του Συστήματος Μονοπύρηνων - Μακροφάγων.

Τα μακροφάγα συμμετέχουν στην πρώτη γραμμή άμυνας των οργανισμών, στη μη ειδική ανοσία, φαγοκυτταρώνοντας ξένες ουσίες (π.χ. μικρόβια, μακρομόρια κτλ.). Επίσης, όταν ενεργοποιηθούν υφίσταται αλλαγές οι οποίες αυξάνουν σημαντικά την αντιβακτηριακή τους δράση και ενισχύουν την ανοσολογική απόκριση του οργανισμού. Εκκρίνουν μεγάλο αριθμό πρωτεϊνικών παραγόντων όπως είναι ο TNF-α, η IL-1, IL-6, IL-8 και IL-12.



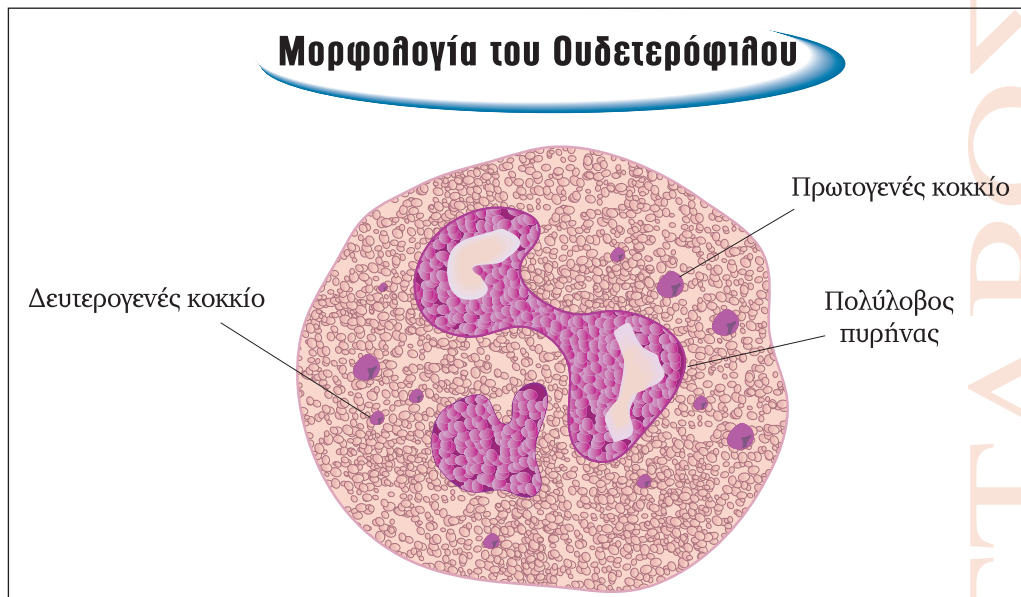
Εικόνα 3.4 Γραφική αναπαράσταση μακροφάγου το οποίο επιτίθεται σε βακτήρια. Με το κίτρινο χρώμα απεικονίζεται το μακροφάγο με τα χαρακτηριστικά ψευδοπόδια ενώ τα βακτηριακά κύτταρα απεικονίζονται με μπλε χρώμα.

3.4 Ουδετερόφιλα - Πολυμορφοπύρρηνα

Τα **πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα** αποτελούν το 60 με 70% του συνόλου των φυσιολογικών λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος. Κύριο μορφολογικό χαρακτηριστικό τους είναι η ύπαρξη πολύλοβων πυρήνων και κυτταροπλασματικών κοκκίων. Τα πολυμορφοπύρρηνα διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες: τα **ουδετερόφιλα**, τα **ηωσινόφιλα** και τα **βασεόφιλα**. Η διάκριση τους γίνεται ανάλογα με τη χρώση των κοκκίων τους από διάφορες χρωστικές.

Τα ουδετερόφιλα (PMN) είναι ο επικρατέστερος πληθυσμός κυττάρων του αίματος μετά τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Παράγονται στο μυελό των οστών όπως άλλωστε και τα λεμφοκύτταρα, ενώ η διάρκεια ζωής τους είναι μόνο τρεις με τέσσερις μέρες. Πεθαίνουν ενώ βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος μέσω προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, παθαίνουν δηλαδή **απόπτωση**. Αποτελούν το 90% των κυκλοφορούντων πολυμορφοπύρρηνων. Πρόκειται για κύτταρα τα οποία δεν διαιρούνται. Έχουν διάμετρο 10-20μm, είναι μικρότερα από τα μονοκύτταρα και μακροφάγα φαγοκύτταρα και ονομάζονται και μικροκύτταρα. Τα κυτταροπλασματικά τους κοκκία, τα **λυσοσώματα** περιέχουν μεγάλο αριθμό ενζύμων και

άλλων παραγόντων και είναι υπεύθυνα για το θάνατο και την αποικοδόμηση των ουσιών που φαγοκυττώνονται. Διακρίνονται στα πρωτογενή και στα δευτερογενή κοκκία. Τα πρωτογενή κοκκία περιέχουν όξινες υδρολάσες, μυελοϋπεροξειδάση και λυσοζύμη ενώ τα δευτερογενή κοκκία περιέχουν εκτός από λυσοζύμη και λακτοφερρίνη.



Εικόνα 3.5 Γραφική αναπαράσταση ενός Ουδετερόφιλου. Διακρίνεται ο χαρακτηριστικός πολύλοβος πυρήνας και ο μεγάλος αριθμός κοκκίων.

Τα ουδετερόφιλα συμμετέχουν στο μηχανισμό της φλεγμονής με τη λειτουργία της φαγοκυττάρωσης. Πρόκειται για τα πρώτα φαγοκύτταρα που καταφθάνουν στο σημείο της προσβολής από τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Μεταναστεύουν από το αίμα προς το σημείο της βλάβης μέσω της **διαπίδυσης**, έχουν δηλαδή την ικανότητα να διαπερνούν τα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων και να μετακινούνται δια μέσου της μεσοκυττάριας ουσίας στην περιοχή όπου έχει εμφανιστεί η μόλυνση.

Ο ρόλος των ουδετερόφιλων στην άμυνα του οργανισμού είναι πολύ σημαντικός, γεγονός που αποδεικνύεται από τη μελέτη ασθενών οι οποίοι παρουσιάζουν κληρονομικές διαταραχές στην ωρίμανσή τους ή στις λειτουργίες τους. Οι ασθενείς αυτοί παρουσιάζουν επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις από βακτήρια και μύκητες οι οποίοι αποτελούν τη φυσιολογική χλωρίδα του οργανισμού τους και εάν δεν αντιμετωπιστούν με κατάλληλη θεραπευτική αγωγή καταλήγουν σε σηψαιμία με θανατηφόρο έκβαση.

Ανεπάρκειες των Φαγοκυττάρων

Ελάττωμα	Συνέπεια	Νόσος
1. Ανεπάρκεια στα μόρια προσκόλλησης των φαγοκυττάρων στα αγγειακά τοιχώματα	Αδυναμία των φαγοκυττάρων να μεταναστεύσουν μέσα από τα αγγειακά τοιχώματα στις εστίες της λοίμωξης	Διάχυτη λοίμωξη από πυογενή βακτήρια ανθεκτικά στην αντιβιοτική θεραπεία
2. Χρόνια κοκκιωματώδη νόσο	Αδυναμία καταστροφής φαγοκυτταρωμένων βακτηρίων	Λοιμώξεις, κοκκιώματα
3. Ελλείψεις στα ένζυμα G6 - PD και μυελοϋπεροξειδάση	Αδυναμία καταστροφής φαγοκυτταρωμένων βακτηρίων	Χρόνια λοίμωξη
4. Σύνδρομο Chediak - Higashi άγνωστης αιτίας	Αποτυχία συγχώνευσης λυσοσωμάτων με φαγοσώματα	Λοιμώξεις, κοκκιώματα

Εικόνα 3.6 Οι ανεπάρκειες των φαγοκυττάρων.

3.5 Χημειοταξία

Όταν προκύψει μια εισβολή ή βλάβη σε κάποιον ιστό του οργανισμού τα πρώτα κύτταρα που καταφθάνουν είναι τα ουδετερόφιλα και κατόπιν τα μονοκύτταρα. Ο προσανατολισμός τους δεν είναι τυχαίος αλλά οφείλεται στην παρουσία **χημειοτακτικών παραγόντων** οι οποίοι εκκρίνονται από το σημείο προσβολής του οργανισμού. Τα φαγοκυτταρικά κύτταρα παρουσιάζουν **χημειοταξία** δηλαδή έχουν την ικανότητα να κινούνται προς την κατεύθυνση του χημειοτακτικού παράγοντα χωρίς μεταβολή της ταχύτητάς των. Τέτοιος παράγοντας είναι το C5a, το οποίο παράγεται από την αντίδραση του συμπληρώματος.

Τα φαγοκύτταρα όταν βρεθούν στην περιοχή της φλεγμονής αρχικά πρέπει να αναγνωρίσουν τους μικροοργανισμούς που θα φαγοκυτταρώσουν. Η αναγνώριση μπορεί να οφείλεται είτε σε φυσικοχημικές δυνάμεις ή σε αναγνώριση ειδικών θέσεων δέσμευσης της επιφάνειας των φαγοκυττάρων από υποδοχείς του ξένου σώματος ή στην ύπαρξη **οψωνινών**. Πρόκειται για ουσίες οι οποίες τροποποιούν την επιφάνεια του εισβολέα αυξάνοντας τον υδρόφοβο χαρακτήρα του έτσι ώστε να μπορεί να προσληφθεί από τα φαγοκύτταρα. Οψωνίνες είναι τα αντισώματα και το συμπλήρωμα. Η ύπαρξη των οψωνινών είναι απαραίτητη γιατί πολλά παθογόνα βακτήρια διαθέτουν κάψα πολυσακχαριτών που τους επιτρέπουν να αντισταθούν στην φαγοκυττάρωσή τους από τα φαγοκύτταρα. Μόνο όταν επικαλυφθούν με αντισώματα που επιστρατεύουν τους Fcγ υποδοχείς στα φαγοκύτταρα αρχίζει η διαδικασία της φαγοκυττάρωσης.

Εκτός από τους υποδοχείς του Fc και του συμπληρώματος, οι οποίοι συμμετέχουν στην οψωνοποίηση, τα φαγοκύτταρα διαθέτουν στην επιφάνειά τους υποδοχείς για διάφορα συστατικά των μικροοργανισμών. Τέτοιοι είναι η επιφανειακή πρωτεΐνη CD14 η οποία αναγνωρίζει τους βακτηριακούς λιποπολυσακχαρίτες (LPS), συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων και υπεύθυνου για τη σηψαιμική τους δράση.

Υποδοχείς προσκόλλησης των Οψωνοποιημένων Μικροοργανισμών

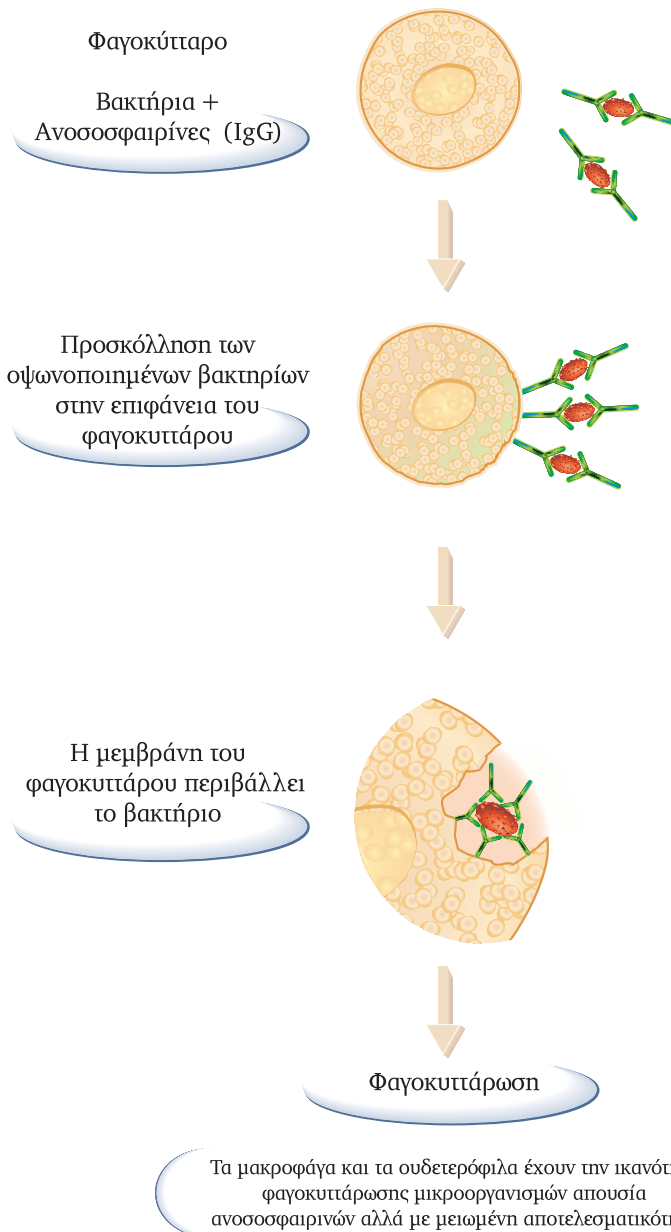
A/A	Ονομασία	Παρουσία	Λειτουργία
1	FcγRI (CD 64)	Μακροφάγα, ουδετερόφιλα και πωσινόφιλα	Φαγοκυττάρωση, Ενεργοποίηση των φαγοκυττάρων
2	FcγRIIA (CD 32)	Μακροφάγα, ουδετερόφιλα πωσινόφιλα και αιμοπετάλια	Φαγοκυττάρωση
3	FcγRIIIB (CD 16)	Ουδετερόφιλα	Φαγοκυττάρωση (Αναποτελεσματική)

Εικόνα 3.7 Οι υποδοχείς προσκόλλησης των Οψωνοποιημένων Μικροοργανισμών. Πρόκειται για διαμεμβρανικά μόρια τα οποία δεσμεύονται με την σταθερή περιοχή (Fc) των ανοσοσφαιρινών (αντισωμάτων).

Με την ολοκλήρωση της αναγνώρισης το φαγοκύτταρο έχει έρθει πλέον σε επαφή με το μικροοργανισμό και σχηματίζει **ψευδοπόδια**, προεκτάσεις της κυτταροπλάσματικής μεμβράνης του φαγοκυττάρου, τα οποία εγκολπώνουν τον εισβολέα ο οποίος εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα. Το ξένο σώμα εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα του φαγοκυττάρου κλεισμένο μέσα σε ένα κυστίδιο, το **φαγόσωμα**. Το φαγόσωμα κινείται προς το εσωτερικό του φαγοκυττάρου και στη συνέχεια συγχωνεύεται με ένα ή περισσότερα λυσοσώματα σχηματίζοντας ένα **φαγολυσόσωμα**. Τα λυσοσώματα περιέχουν υδρολυτικά ένζυμα, λυσοζύμη, κτλ. τα οποία διοχετεύονται στο εσωτερικό του φαγολυσοσώματος και καταστρέφουν τον εγκυστωμένο μικροοργανισμό. Ο κυριότερος μηχανισμός θανάτωσης βακτηρίων, μυκήτων και πρωτόζωων στο φαγολυσόσωμα γίνεται με την **αναπνευστική έκρηξη**. Πρόκειται για τη μετατροπή του μοριακού οξυγόνου σε ενεργά προϋόντα όπως είναι το υπεροξειδίο του υδρογόνου και οι ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου και οξυγόνου.

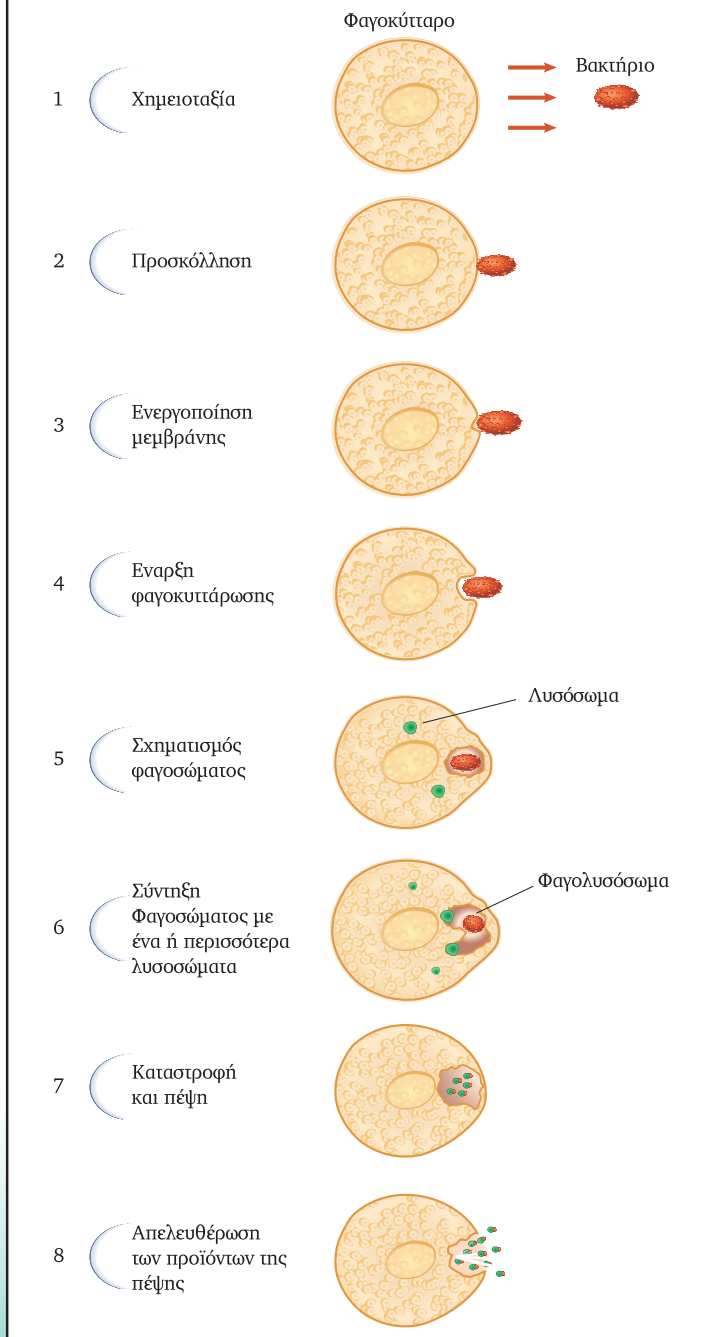
Όπως είναι φυσικό κάποιοι από τους μικροοργανισμούς έχουν αναπτύξει επίσης αντίστοιχους μηχανισμούς άμυνας στην φαγοκυττάρωση. Είτε εκκρίνουν τοξίνες που αναστέλλουν τη χημειοταξία, είτε έχουν εξωτερικά επικαλύμματα που αναστέλλουν την αναγνώριση, είτε, τέλος, έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν τη σύντηξη των λυσοσωμάτων με το φαγόσωμα, όπως στην περίπτωση των Μυκοβακτηρίων.

Οψωνοποίηση και φαγοκυττάρωση



Εικόνα 3.8 Τα στάδια της οψωνοποίησης.

Μηχανισμός της φαγοκυττάρωσης



Εικόνα 3.9 Σχηματική αναπαράσταση των διαδοχικών σταδίων της φαγοκυττάρωσης.

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Ένας από τους σημαντικότερους μηχανισμούς της μη ειδικής ανοσίας είναι ο μηχανισμός της φαγοκυττάρωσης, ο οποίος όμως παίζει ρόλο και στην ειδική ανοσία. Στη διαδικασία αυτή συμμετέχουν τα μονοκύτταρα και τα ουδετερόφιλα πολυμορφοκύτταρα. Τα φαγοκύτταρα συγκεντρώνονται στο σημείο της φλεγμονής με χημειοταξία, αναγνωρίζουν τον οψωνοποιημένο μικροοργανισμό και με τη βοήθεια των ψευδοποδίων που σχηματίζουν τον περικλείουν στο φαγόσωμα το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε φαγολυσόσωμα και οδηγεί στη θανάτωσή τους.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Τι είναι η φαγοκυττάρωση;
2. Αναφέρατε τις κατηγορίες κυττάρων που φαγοκυτταρώνουν.
3. Σε ποιες κατηγορίες κυττάρων διακρίνονται τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα και ποιο είναι το κύριο μορφολογικό τους γνώρισμα;
4. Δώστε τον ορισμό της απόπτωσης.
5. Τι είναι η διαπίδυση;
6. Τι ονομάζουμε χημειοταξία;
7. Να βάλετε σε κύκλο το γράμμα που αντιστοιχεί στη σωστή απάντηση ή στη φράση που συμπληρώνει σωστά την πρόταση:
 - A.- Η φαγοκυττάρωση
 - α. περιορίζεται στα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα.
 - β. πραγματοποιείται από κύτταρα της ειδικής ανοσίας.
 - γ. είναι διαδικασία που δεν καταναλώνει ενέργεια.
 - δ. παίζει σημαντικό ρόλο στις βακτηριακές μολύνσεις.
 - B.- Τα μακροφάγα
 - α. προέρχονται από τα κοκκιώδη κύτταρα.
 - β. δε διαπερνούν τα τοιχώματα των αγγείων.
 - γ. παρουσιάζουν έντονη εκκριτική δραστηριότητα όταν ενεργοποιούνται.
 - δ. παράγουν μεγάλο αριθμό αντισωμάτων σε σύντομο χρονικό διάστημα.
 - Γ.- Τα ουδετερόφιλα
 - α. ζουν για μεγάλο χρονικό διάστημα (μήνες).
 - β. φαγοκυτταρώνουν με βραδύτερο ρυθμό από τα μακροφάγα.
 - γ. έχουν σύντομη διάρκεια ζωής και κινούνται γρηγορότερα από τα μακροφάγα.
 - δ. δεν περιέχουν κοκκία στο κυτταρόπλασμά τους.
 - Δ.- Το φαγολυσόσωμα
 - α. δημιουργείται από τη σύντηξη του φαγοσώματος με λυσοσώματα.
 - β. έχει ουδέτερο pH στο εσωτερικό του.
 - γ. συμβάλλει στην παραγωγή ενέργειας για τα ουδετερόφιλα.
 - δ. αποτελεί τόπο σύνθεσης πρωτεϊνών.
8. Σε ποιο στάδιο της φαγοκυττάρωσης εμφανίζεται το φαινόμενο της αναπνευστικής έκρηξης;
9. Ποιες ουσίες ονομάζονται οψωνίνες και ποιος ο ρόλος τους στη φαγοκυττάρωση;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

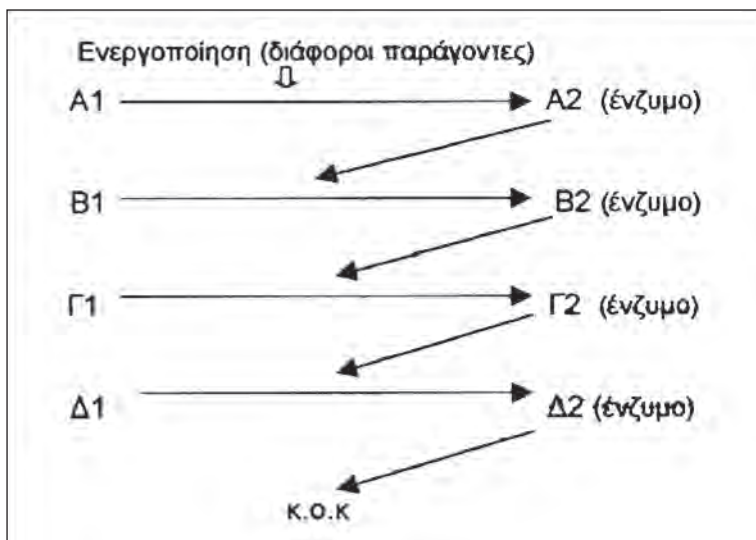
ΤΟ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ

4.1 Γενικά

Το **συμπλήρωμα** αποτελεί ένα σημαντικό μέρος του οπλοστασίου της ανοσίας του οργανισμού μας. Είναι μια ομάδα πρωτεϊνών που βρίσκονται σε ελάχιστες ποσότητες στον ορό αλλά και στις μεμβράνες των κυττάρων και ενεργοποιούνται με ένα ιδιαίτερο τρόπο διαδοχικών αντιδράσεων που είναι γνωστές σαν μηχανισμός καταρράκτη. Αυτό σημαίνει ότι, αν γίνει μια πρώτη χημική αντίδραση, το προϊόν της θα παίξει το ρόλο του καταλύτη (ενζύμου στην περίπτωση αυτή) που θα διευκολύνει την επόμενη αντίδραση κ.ο.κ. Με τον τρόπο αυτό, θα πραγματοποιηθεί μια σειρά αντιδράσεων που η κάθε μια προκαλεί την έναρξη της επόμενης, μέχρι να φτάσουμε σε κάποια τελική φάση (βλ. εικόνα 4.1 και 4.2).



Εικόνα 4.1: Στον καταρράκτη η υδατόπτωση προς το αμέσως χαμηλότερο επίπεδο προκαλεί υπερχειλίση και υδατόπτωση στο επόμενο χαμηλότερο επίπεδο κ.ο.κ.



Εικόνα 4.2: Το ξεκίνημα της πρώτης χημικής αντίδρασης δημιουργεί προϊόν που δρα σαν καταλύτης (ένζυμο) για την αμέσως επόμενη αντίδραση Κ.Ο.Κ.

Από τι αποτελείται το συμπλήρωμα

Το συμπλήρωμα αποτελείται από τουλάχιστον 30 διαφορετικές πρωτεΐνες από τις οποίες κάποιες είναι **διαλυτές πρωτεΐνες** του ορού και άλλες είναι **πρωτεΐνες των μεμβρανών** των κυττάρων.

Οι διαλυτές πρωτεΐνες διακρίνονται στους ενεργοποιούμενους παράγοντες και στις ρυθμιστικές πρωτεΐνες. Οι πρώτοι είναι οι πρωτεΐνες που θα υποστούν τις διαδοχικές χημικές αντιδράσεις όταν ξεκινήσει η ενεργοποίηση ενώ οι δεύτεροι είναι εκείνοι που μπορούν να εποπτεύουν και να αναχαιτίζουν τις αντιδράσεις αυτές. Οι αντιδράσεις αυτές χρειάζεται να βρίσκονται υπό έλεγχο για να μην παθαίνουν βλάβες και τα κύτταρα του ίδιου του οργανισμού. Οι πρωτεΐνες των μεμβρανών διακρίνονται στους μεμβρανικούς αναστολείς και τους μεμβρανικούς υποδοχείς. Οι πρώτοι, που βρίσκονται επάνω στις μεμβράνες των κυττάρων του οργανισμού αδρανοποιούν παράγοντες της ενεργοποίησης του συμπληρώματος που μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στα κύτταρα αυτά, ενώ οι δεύτεροι είναι εκείνοι που συνδέονται με προϊόντα της ενεργοποίησης πάνω στη μεμβράνη κάποιων κυττάρων για να προκαλέσουν τις επιθυμητές αλλαγές σε ορισμένα κύτταρα. (Βλέπε τον πίνακα στη διπλανή σελίδα).

Το συμπλήρωμα ονομάζεται έτσι, γιατί η δράση του συμπληρώνει τους μηχανισμούς που διαθέτει η χυμική ανοσία. Οι διαλυτές πρωτεΐνες του συμπληρώματος καταστρέφονται στην υψηλή θερμοκρασία (θερμοευαίσθητες πρωτεΐνες) και αυτή η ιδιότητα είναι που οδήγησε πριν από ένα περίπου αιώνα τους επιστήμονες να υποπτευθούν την ύπαρξη του συμπληρώματος. Η ανακάλυψη του συμπληρώματος προήλθε από την παρατήρηση ότι, αν ο ορός που περιέχει αντισώματα εναντίον κάποιων βακτηριδίων προστεθεί σε διάλυμα που υπάρχουν τέτοια βακτηρίδια, τότε αυτά καταστρέφονται (παθαίνουν λύση). Αν όμως ο ορός προθερμανθεί σε θερμοκρασία περίπου 60° C, η ικανότητά του να προκαλεί λύση των βακτηριδίων χάνεται.

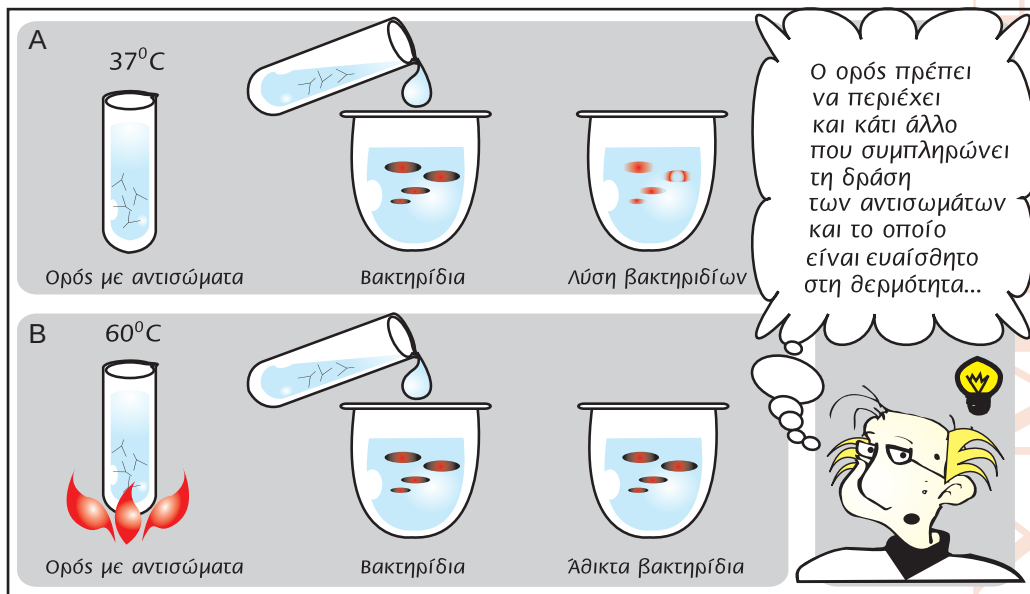
ΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΠΟΥ ΠΑΙΖΟΥΝ

1. ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

- **Ενεργοποιούμενοι παράγοντες** > Πρωτεΐνες του ορού που παθαίνουν διάσπαση σε πολυπεπτιδικά τμήματα όταν ξεκινήσει η ενεργοποίηση.
- **Ρυθμιστικές πρωτεΐνες** > πρωτεΐνες που αναστέλλουν ή και αδρανοποιούν τα ένζυμα των αντιδράσεων ενεργοποίησης, ασκώντας έλεγχο στην ενεργοποίηση.

2. ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

- **Μεμβρανικοί αναστολείς** > Παρεμποδίζουν τη δημιουργία ενζύμων που μπορούν να προσβά-λουν την μεμβράνη των κυττάρων του οργανισμού.
- **Μεμβρανικοί υποδοχείς** > Σχηματισμοί της μεμβράνης των κυττάρων που μπορούν να δε-σμεύουν ενεργοποιημένα συστατικά του συμπληρώματος και να γίνεται η επιθυμητή βιολογική επίδραση πάνω στο κύτταρο.



Εικόνα 4.3: Α) Ο ορός με αντισώματα εναντίον των βακτηριδίων προκαλεί λύση των βακτηριδίων. Β) Αν ο ορός έχει προηγουμένα θερμανθεί δεν έχει κανένα αποτέλεσμα

Επειδή τα αντισώματα δεν καταστρέφονται στη θερμοκρασία αυτή, υπέθεσαν ότι ο ορός περιέχει και έναν άλλο παράγοντα, ευαίσθητο στη θερμότητα, ο οποίος χρειάζεται για να "συμπληρώνει" την δράση των αντισωμάτων ώστε αυτά να μπορούν να καταστρέφουν τα βακτηρίδια. Αυτή ήταν η πρώτη ένδειξη για την ύπαρξη του συμπληρώματος. (Βλ. εικόνα 4.3)

Η σύνθεση των συστατικών του συμπληρώματος γίνεται κυρίως από το ήπαρ, αν και μερικά από αυτά μπορούν να παραχθούν και από άλλα κύτταρα όπως τα μακροφάγα. Αν κάπου στον οργανισμό δημιουργηθεί μια φλεγμονή, η σύνθεση του συμπληρώματος επιταχύνεται. Η εντολή για να συμβεί αυτό, φαίνεται ότι διαβιβάζεται μέσω κάποιων ουσιών (των κυτταροκινών), όπως η ιντερλευκίνη -1 (IL-1) και η ιντερφερόνη-γ (INF-γ).

Συμβολισμοί και ονόματα στο σύστημα του συμπληρώματος

Τα ονόματα των συστατικών που απαρτίζουν την ομάδα του συμπληρώματος αν και κάπως περίπλοκα, μπορούμε να τα κατανοήσουμε αν ξέρουμε κάποιους κανόνες. Καλό είναι λοιπόν να ξέρουμε ότι κάθε συστατικό που συμμετέχει στη λεγόμενη κλασική οδό ενεργοποίησης, συμβολίζεται με το κεφαλαίο γράμμα C (αρχικό της λέξης complement =συμπλήρωμα) και ένα αριθμό δίπλα του (πχ C3, C4, C5 κλπ). Επειδή κατά την ενεργοποίηση, κάποιες από τις ουσίες του συμπληρώματος διασπώνται, τα δυο κομμάτια στα οποία χωρίζονται, τα χαρακτηρίζουμε με τα γράμματα a (για το μικρότερο κομμάτι) και b (για το μεγαλύτερο) για να τα ξεχωρίζουμε. (Πχ C3a = το μικρό κομμάτι που προκύπτει από τη διάσπαση του C3). Ειδικά το συστατικό C1, είναι ένα πρωτεϊνικό πολυμερές και αποτελείται από 3 υπομονάδες που συμβολίζονται σαν C1q, C1r και C1s.

Όταν δούμε μια παύλα πάνω από τα προσδιοριστικά στοιχεία του C, αυτό δείχνει ότι το συγκεκριμένο συστατικό του συμπληρώματος βρίσκεται στην ενεργοποιημένη του μορφή σαν ένζυμο (πχ C1r = μη ενεργοποιημένο, $\overline{\text{C1r}}$ = ενεργοποιημένο κλάσμα με ικανότητα να δράσει σαν ένζυμο). Αντίθετα, αν προστίθεται δίπλα το σύμβολο i σημαίνει ότι ο παράγοντας που συμβολίζουμε έχει αδρανοποιηθεί (πχ iC3b = αδρανοποιημένο C3b). Οι πρωτεΐνες που ανήκουν στη λεγόμενη εναλλακτική οδό ενεργοποίησης του συμπληρώματος (που θα εξετάσουμε πιο κάτω) συμβολίζονται με κεφαλαία αγγλικά γράμματα (πχ παράγοντες B, H, P κλπ).

4.2 Ενεργοποίηση του συμπληρώματος

Τι είναι η ενεργοποίηση του συμπληρώματος.

Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος είναι μια σειρά διαδοχικών αντιδράσεων με τις οποίες οι διαλυτές πρωτεΐνες (ενεργοποιούμενοι παράγοντες) παθαίνουν μερική διάσπαση. Τελική κατάληξη της ενεργοποίησης είναι η δημιουργία του λεγόμενου **συμπλέγματος προσβολής της μεμβράνης** (MAC = membrane attack complex). Το σύμπλεγμα αυτό των πρωτεϊνών έχει την ικανότητα να δημιουργεί μεταβολές στη μεμβράνη κάποιων κυττάρων και να προκαλείται η καταστροφή τους (λύση). Παράλληλα, στη διαδικασία των αντιδράσεων της ενεργοποίησης δημιουργούνται και προϊόντα που έχουν άλλες λειτουργίες, όπως η **διευκόλυνση της φαγοκυττάρωσης** μικροοργανισμών (οψωνοποίηση) και η κινητοποίηση της **φλεγμονής**.

Πώς γίνεται η ενεργοποίηση

Η διαδικασία αυτή μπορεί να γίνει με δυο κύριους τρόπους, αν και σήμερα θεωρείται ότι υπάρχει και τρίτος τρόπος που είναι παρόμοιος με την κλασική οδό, όπως θα δούμε αμέσως πιο κάτω:

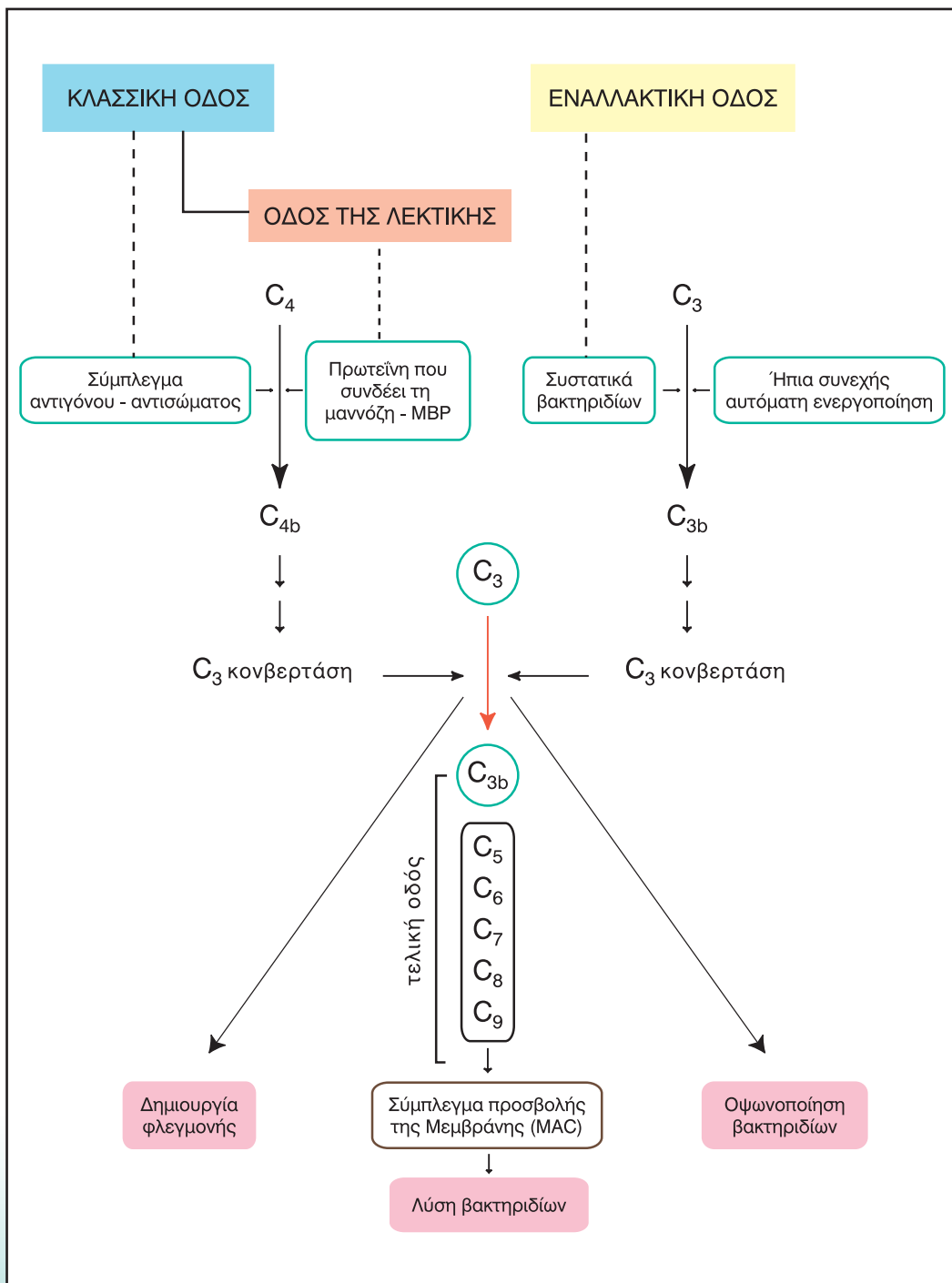
1) **Με την κλασική οδό:** ☞ Ενεργοποίηση: Από το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος. Η ενεργοποίηση με αυτό τον τρόπο ξεκινάει όταν κάποιο αντίσωμα (IgG ή IgM) ενωθεί με το αντιγόνο (όπως έναν ιό ή βακτήριο). Για να ξεκινήσει η σειρά των διαδοχικών αντιδράσεων θα πρέπει η διαλυτή πρωτεΐνη του ορού που ονομάζεται C1, να συνδεθεί με το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος (για την ακρίβεια με το Fc τμήμα του αντισώματος-βλ. κεφάλαιο 1ο).

Πρόσφατα ανακαλύφθηκε ένας νέος τρόπος ενεργοποίησης, η **οδός της λεκτίνης**, που στην πραγματικότητα ακολουθεί την ίδια σειρά αντιδράσεων όπως η κλασική οδός. Η διαφορά βρίσκεται στο ότι δεν απαιτείται η σύνδεση αντιγόνου-αντισώματος αλλά η ενεργοποίηση μπορεί να γίνει, αν μια πρωτεΐνη η MBP (= πρωτεΐνη που συνδέει τη μανόζη), προσκολληθεί στην επιφάνεια ενός μικροοργανισμού.

2) **Με την εναλλακτική οδό:** ☞ Ενεργοποίηση: Από προϊόντα μικροβίων.

Η ενεργοποίηση με τον τρόπο αυτό δεν απαιτεί την σύνδεση αντιγόνου-αντισώματος αλλά μπορεί να προκληθεί από διάφορες ουσίες μικροοργανισμών (όπως π.χ. οι ενδοτοξίνες των Gram-αρνητικών βακτηριδίων). Η εναλλακτική οδός είναι πιο αρχέγονος τρόπος ενεργοποίησης του συμπληρώματος και δεν απαιτεί από το ανοσολογικό σύστημα την ειδική αναγνώριση του "ξένου" παράγοντα που ήρθε σε επαφή με τον οργανισμό. Η ενεργοποίηση της εναλλακτικής οδού ξεκινάει από τη διάσπαση του κλάσματος C3, παρακάμπτοντας τα προηγούμενα στάδια που ακολουθεί η κλασική οδός. Να σημειώσουμε ότι η εναλλακτική οδός βρίσκεται σε συνεχή αυτόματη μικρή ενεργοποίηση χωρίς την μεσολάβηση κάποιου ειδικού παράγοντα. Ενδιαφέρον είναι ότι η εναλλακτική οδός μπορεί να ενεργοποιηθεί από μια ουσία που βρίσκεται στο δηλητήριο της κόμπρας.

Κοινό στοιχείο των δυο διαφορετικών τρόπων ενεργοποίησης είναι η δημιουργία ενός ενζύμου της C3-κονβερτάσης που διασπά τον παράγοντα C3 στα κλάσματα C3a και C3b. Το C3b ξεκινά την τελική φάση ενεργοποίησης του συμπληρώματος που καταλήγει στη δημιουργία του συμπλέγματος προσβολής της μεμβράνης (MAC). Παράλληλα το C3b παίζει δυο άλλους επιπρόσθετους ρόλους: α) Διευκολύνει την φαγοκυττάρωση των μικροβίων και β) βοηθά την διαλυτοποίηση και απομάκρυνση των συμπλεγμάτων αντιγόνου-αντισώματος. Το C3a μαζί με άλλα κλάσματα του συμπληρώματος (C4a, C5a) αποτελούν τις ουσίες που δημιουργούν τα φαινόμενα της φλεγμονής. Στην εικόνα 4.4 βλέπουμε ένα απλουστευμένο διάγραμμα της ενεργοποίησης του συμπληρώματος με τους δυο διαφορετικούς τρόπους ενεργοποίησης, την κοινή τελική οδό και τα βιολογικά αποτελέσματα της ενεργοποίησης.



Εικόνα 4.4: Συνοπτικό διάγραμμα της ενεργοποίησης του συμπληρώματος και των βιολογικών της αποτελεσμάτων.

Στον πιο κάτω πίνακα φαίνονται οι ομοιότητες και οι διαφορές της κλασικής και της εναλλακτικής οδού ενεργοποίησης του συμπληρώματος.

Σύγκριση μεταξύ κλασικής και εναλλακτικής οδού

Κλασική οδός

- Ανήκει στην επίκτητη ειδική ανοσία
- Ενεργοποίηση από σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος.
- Απαιτεί τη συμμετοχή και των 9 κύριων συστατικών του συμπληρώματος (C1-C9)

Εναλλακτική οδός

- Ανήκει στη μη ειδική εγγενή ανοσία.
- Ενεργοποίηση από συστατικά των βακτηριδίων.
- Δεν απαιτείται η συμμετοχή των κλασμάτων C1, C4 και C2.

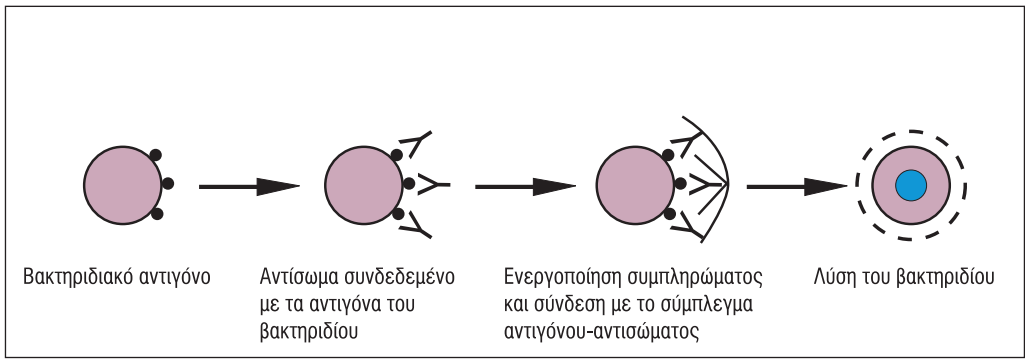
Και στις δύο οδούς υπάρχουν τρεις φάσεις: της έναρξης, της ενίσχυσης και της τελικής φάσης, όπου δημιουργείται το σύμπλεγμα προσβολής των μεμβρανών. Οι φάσεις έναρξης και ενίσχυσης είναι διαφορετικές μεταξύ των δύο οδών αλλά η τελική φάση είναι κοινή.

4.3 Η σημασία του συμπληρώματος

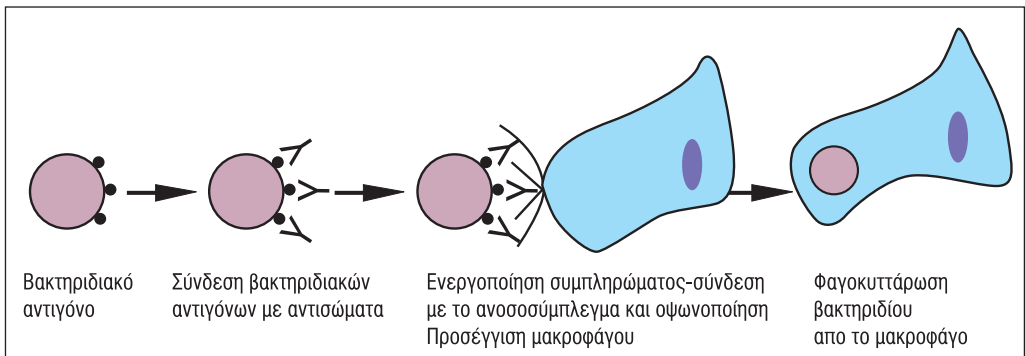
Οι λειτουργίες του ενεργοποιημένου συμπληρώματος μπορούν να ενταχθούν σε δυο κύριες γενικές κατηγορίες: 1) την τροποποίηση των κυτταρικών μεμβρανών και 2) την απελευθέρωση ουσιών που κινητοποιούν τους μηχανισμούς της φλεγμονής.

Οι συγκεκριμένες επί μέρους λειτουργίες του ενεργοποιημένου συμπληρώματος είναι:

- Α) Η λύση των κυτάρων:** Ορισμένα ενεργοποιημένα συστατικά του συμπληρώματος πολυμεριζόμενα προσβάλλουν την κυτταρική μεμβράνη μικροοργανισμών και δημιουργούν "τρύπες" στην φωσφολιπιδική μεμβράνη. Αυτό οδηγεί στην οσμωτική λύση του κυττάρου. (Εικόνα 4.5)
- Β) Η οψωνοποίηση** (δευκόλυνση της φαγοκυττάρωσης) μικροοργανισμών ή ξένων σωματιδίων: Συστατικά του ενεργοποιημένου συμπληρώματος (που λέγονται και οψωνίνες) προσκολλώνται πάνω στις επιφάνειες των μικροοργανισμών ή των σωματιδίων τα οποία με αυτό τον τρόπο καθελώνονται και γίνονται εύκολος στόχος για τα φαγοκύτταρα. (Εικόνα 4.6)
- Γ) Η προώθηση της φλεγμονής:** Μερικά από τα συστατικά του ενεργοποιημένου συμπληρώματος (C3a, C4a και C5a, ονομαζόμενα αναφυλατοξίνες), δρουν πάνω σε ορισμένα κύτταρα στόχους και προκαλούν τα φαινόμενα της φλεγμονής. Στα μαστοκύτταρα προκαλούν την απελευθέρωση των αγγειοδραστικών ουσιών που περιέχουν στα κοκκία τους (αποκοκκίωση μαστοκυττάρων). Στις λείες μυϊκές ίνες προκαλούν σύσπαση, στα αγγεία προκαλείται αυξημένη διαπερατότητα του τοιχώματός τους με εξίδρωση υγρού έξω από τα αγγεία, στα λευκοκύτταρα προκαλούν συσώρευση και απελευθέρωση ενζύμων κ.ά. Όλα αυτά τα γεγονότα δημιουργούν την φλεγμονή.
- Δ) Η δευκόλυνση της απομάκρυνσης των ανοσοσυμπλεγμάτων:** Το ενεργοποιημένο συμπλήρωμα συμβάλλει στην διαλυτοποίηση των συμπλεγμάτων αντιγόνου-αντισώματος και την απομάκρυνσή τους αφού πρώτα φαγοκυτταρωθούν. Με τον τρόπο αυτό αποφεύγεται η εναπόθεσή τους στα τοιχώματα των αγγείων.



Εικόνα 4.5: Λύση του μικροοργανισμού.



Εικόνα 4.6: Οψωνοποίηση του βακτηριδίου.

- ε) **Η υποβοήθηση της χυμικής ανοσίας:** Συστατικά της ενεργοποίησης του συμπληρώματος υποβοηθούν την παρουσίαση των αντιγόνων από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα προς τα Β-λεμφοκύτταρα, έτσι ώστε να μπορούν να παραχθούν αντισώματα εναντίον αυτών των αντιγόνων.

Σχέση του συμπληρώματος με νοσήματα

Το συμπλήρωμα σχετίζεται με την εμφάνιση νοσημάτων με δυο διαφορετικούς τρόπους:

1. Υπάρχουν περιπτώσεις όπου παρατηρείται ανεπάρκεια ενός συστατικού του συμπληρώματος. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η έλλειψη σε κάποια άτομα του παράγοντα C2 και η κατάσταση αυτή τα κάνει επιρρεπή στο να εμφανίσουν την νόσο που λέγεται συστηματικός ερυθματώδης λύκος. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στην αδυναμία να απομακρυνθούν και διαλυθούν τα σχηματιζόμενα ανοσοσυμπλέγματα.
2. Σε περιπτώσεις νοσημάτων που οφείλονται σε εναπόθεση ανοσοσυμπλεγμάτων (συστηματική αγγειίτιδα ή νεφρίτιδα) οι μηχανισμοί που προκαλούν την μεγαλύτερη καταστροφή στους ιστούς προέρχονται από την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Η κινητοποίηση των μηχανισμών φλεγμονής από το ενεργοποιημένο συμπλήρωμα προκαλεί τις βλάβες στους ιστούς που έχουν εναποτεθεί τα ανοσοσυμπλέγματα (βλ. κεφάλαιο 9°).

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Το συμπλήρωμα ανήκει στους μηχανισμούς της ανοσίας μας και ονομάζεται έτσι γιατί συμπληρώνει τους μηχανισμούς της χυμικής ανοσίας. Είναι μια ομάδα πρωτεϊνών που βρίσκονται στον ορό αλλά και στις μεμβράνες των κυττάρων. Οι διαλυτές πρωτεΐνες παράγονται στο ήπαρ (αλλά και στα μακροφάγα) και εύκολα καταστρέφονται με τη θερμότητα. Όταν ενεργοποιηθεί το συμπλήρωμα, αρχίζει μια σειρά διαδοχικών αντιδράσεων κατά την οποία το προϊόν της πρώτης ευνοεί την πραγματοποίηση της επόμενης. Το συμπλήρωμα μπορεί να ενεργοποιηθεί με δυο κύριους τρόπους: α) Με την κλασική οδό, όταν γίνει ένωση ενός αντισώματος με το αντιγόνο. (Παραλλαγή του τρόπου αυτού, είναι η οδός της λεκτίνης όπου δεν χρειάζεται η παρουσία του αντισώματος). β) Με την εναλλακτική οδό που ενεργοποιείται από συστατικά μικροοργανισμών (ενδοτοξίνες). Και οι δυο τρόποι ενεργοποίησης οδηγούν σε κοινά αποτελέσματα που είναι α) η δημιουργία του λεγομένου συμπλέγματος προσβολής της μεμβράνης (MAC) και β) η παραγωγή ουσιών που διευκολύνουν την φαγοκυττάρωση (οψωνίνες) και ουσιών που κινητοποιούν τους μηχανισμούς της φλεγμονής (αναφυλατοξίνες). Κοινό στοιχείο στις διαδοχικές αντιδράσεις των δυο τρόπων (οδών) ενεργοποίησης είναι η δημιουργία ενός ενζύμου, της C3-κονβεργτάσης που διασπά το διαλυτό κλάσμα C3 σε C3a και Cb. Από το σημείο αυτό και πέρα οι δυο τρόποι ενεργοποίησης (κλασική και εναλλακτική οδός) ακολουθούν την ίδια σειρά αντιδράσεων που λέγεται τελική οδός και έχει κοινό αποτέλεσμα. Η κλασική οδός χρειάζεται την ύπαρξη μηχανισμών ειδικής ανοσίας (και ειδικά της χυμικής) γιατί ενεργοποιείται από τη σύνδεση αντιγόνου-αντισώματος. Η εναλλακτική οδός δεν χρειάζεται την παρουσία ειδικής ανοσίας γιατί ενεργοποιείται από ουσίες μικροβίων και δεν απαιτεί την παρουσία αντισώματος. Οι βιολογικές λειτουργίες του ενεργοποιούμενου συμπληρώματος είναι α) η προσβολή της μεμβράνης και η λύση των κυττάρων β) η οψωνοποίηση μικροοργανισμών γ) η προώθηση της φλεγμονής δ) η διευκόλυνση της απομάκρυνσης συμπλεγμάτων αντιγόνου-αντισώματος (που σε κάποιες περιπτώσεις είναι βλαπτικά) και ε) η υποβοήθηση της χυμικής ανοσίας (υποβοήθηση παρουσίας αντιγόνων στα Β-κύτταρα).

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

A) Απαντήστε με συντομία

- 1) Τι είναι το συμπλήρωμα και από ποια κύρια στοιχεία αποτελείται;
- 2) Τι ακριβώς είναι η ενεργοποίηση του συμπληρώματος και ποιο είναι το τελικό αποτέλεσμα αυτής της ενεργοποίησης;
- 3) Ποιοι είναι οι κύριοι τρόποι (οδοί) ενεργοποίησης και ποιο γεγονός δημιουργεί την έναρξη του κάθε ενός;
- 4) Σε τι μοιάζουν και σε τι διαφέρουν οι δυο κύριοι τρόποι (οδοί) ενεργοποίησης;
- 5) Ποιο είναι το κοινό σημείο συνάντησης των δυο οδών ενεργοποίησης του συμπληρώματος;
- 6) Τι είναι το σύμπλεγμα προσβολής της μεμβράνης (MAC);
- 7) Τι είναι η οψωνοποίηση;
- 8) Ποια είναι τα σημαντικότερα βιολογικά αποτελέσματα της ενεργοποίησης του συμπληρώματος;

B) Συμπληρώστε τις λέξεις ή φράσεις που λείπουν

- 1) Οι διαλυτές πρωτεΐνες του συμπληρώματος είναι ευαίσθητες στην
- 2) Η C3-κονβεράση είναι το που διασπά το κλάσμα C3 και η δημιουργία της είναι το κοινό σημείο συνάντησης μεταξύ και
- 3) Η εναλλακτική οδός ενεργοποίησης αρχίζει με
- 4) Αναφυλατοξίνες είναι μερικά από τα προϊόντα ενεργοποίησης του συμπληρώματος που προωθούν τη διαδικασία της
- 5) Η οψωνοποίηση είναι μια από τις βιολογικές λειτουργίες της ενεργοποίησης του συμπληρώματος και σημαίνει την υποβοήθηση της

Γ) Επιλέξατε τη σωστή απάντηση.

Το συμπλήρωμα:

- α) Είναι μια ομάδα πρωτεϊνών που βρίσκεται στα λεμφικά όργανα.
- β) Ενεργοποιείται από ελεύθερα αντισώματα του ορού.
- γ) Δεν μπορεί να ενεργοποιηθεί από συστατικά μικροοργανισμών.
- δ) Όταν ενεργοποιηθεί εμποδίζει τους μηχανισμούς της φλεγμονής.
- ε) Αποτελείται από διαλυτές πρωτεΐνες και μεμβρανικές πρωτεΐνες.

Δ) Αντιστοιχίστε τις λέξεις ή φράσεις μεταξύ των δύο στηλών.

Προώθηση φλεγμονής	Οδός της λεκτίνης
Παραλλαγή κλασικής οδού	Ένωση αντιγόνου αντισώματος
Ενεργοποίηση κλασικής οδού	Αναφυλατοξίνες
Μη συμμετοχή C1,C2,C4	Μηχανισμός καταρράχτη
Αντιδράσεις ενεργοποίησης	Εναλλακτική οδός

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5°

ΑΛΛΕΡΓΙΑ - ΥΠΕΡΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

5.1 Γενικά για τις αλλεργίες

Εισαγωγικές παρατηρήσεις

Ο σκοπός της ύπαρξης του ανοσολογικού μας συστήματος είναι η προστασία του οργανισμού μας από βλαπτικούς παράγοντες. Ο τρόπος λειτουργίας του μοιάζει με τον τρόπο άμυνας μιας χώρας. Η οργάνωση μιας τέτοιας άμυνας περιλαμβάνει γενικούς προστατευτικούς μηχανισμούς (σύνορα, ραντάρ, στρατιωτικές περιπόλους, ναρκοθετημένα πεδία, κ.λπ.) και ειδικούς προστατευτικούς μηχανισμούς (αναγνωριστικά αεροπλάνα, αντιαεροπορικούς πυραύλους, αντιαρματικά όπλα κ.λπ.). Αντίστοιχα, (όπως είδαμε και στα κεφάλαια 1° και 2°), το ανοσολογικό σύστημα περιλαμβάνει μη ειδικούς (γενικούς) μηχανισμούς (δέρμα, βλεννογόνοι, φαγοκύτταρα κ.λπ.) καθώς και ειδικούς μηχανισμούς (*χυμική και κυτταρική ανοσία*) που στόχο έχουν την παρεμπόδιση και εξειδικευμένη εξουδετέρωση των παραγόντων που μπορούν να μας βλάψουν (μικρόβια, τοξίνες, ιοί, κ.λπ.). Μάθαμε ακόμη ότι, προϋπόθεση για την λειτουργία της ειδικής μας ανοσίας είναι η αναγνώριση του "εχθρού", για να κατασκευάσουμε ειδικά "όπλα" ώστε να τον αντιμετωπίσουμε (*αντισώματα, ευαισθητοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα*). Η αναγνώριση αυτή βασίζεται σε συγκεκριμένα κατασκευαστικά (δομικά) χαρακτηριστικά του "εχθρικού παράγοντα" (όπως το μεγάλο μέγεθος του μορίου του, π.χ. πρωτεΐνη) τα οποία όλα μαζί είναι γνωστά με τον όρο *αντιγονικότητα*. Ξέρουμε επίσης, ότι τα συστατικά του ίδιου μας του σώματος δεν παρουσιάζουν αντιγονικότητα προς το ανοσολογικό μας σύστημα γιατί έχει μάθει ο οργανισμός να τα ξεχωρίζει από τα ξένα συστατικά (ανοσολογική ανοχή - βλ. κεφάλαιο 7°).

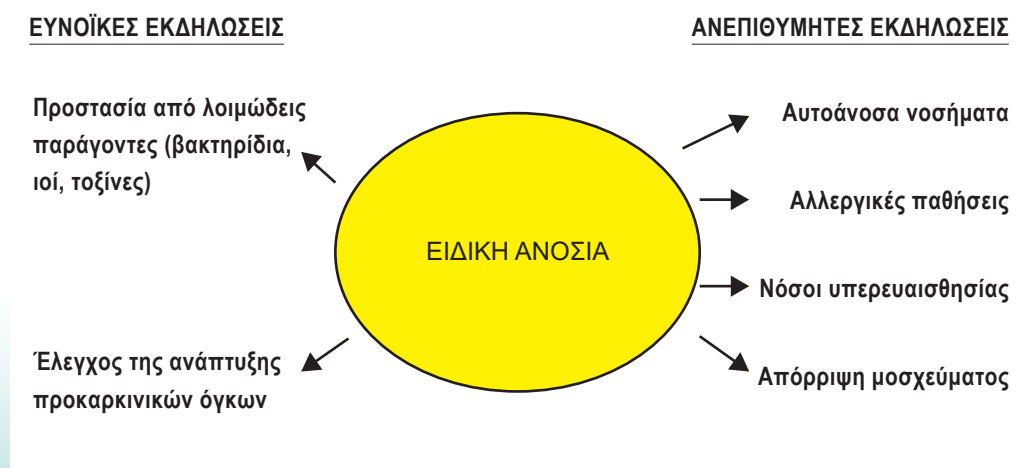
Κάποιες φορές όμως, είναι δυνατό να συμβούν μερικά παράδοξα φαινόμενα που θα μπορούσαμε σχηματικά να τα εντάξουμε σε τρεις γενικές περιπτώσεις:

1. Είναι δυνατόν ο οργανισμός, να αναγνωρίσει σαν ξένο (αντιγονικό) κάποιο συστατικό δικό του και να αρχίσει να στρέφεται εναντίον του με τους ειδικούς ανοσολογικούς μηχανισμούς. Το αποτέλεσμα μιας τέτοιας διαδικασίας είναι να δημιουργηθεί βλάβη σε κάποιο όργανο ή ιστό. Στην περίπτωση αυτή μιλάμε για τη λεγόμενη **αυτοανοσία** και τα νοσήματα που δημιουργούνται με τον τρόπο αυτό τα ονομάζουμε αυτοάνοσα νοσήματα (βλ. κεφάλαιο 9°).
2. Μπορεί ακόμη, μια πραγματικά αβλαβής ουσία με την οποία ερχόμαστε σε επαφή, (π.χ. η γύρη κάποιων φυτών), επειδή έχει -από κατασκευαστική άποψη- τους χαρακτήρες αντιγόνου, να "ξεσηκώσει" το ανοσολογικό σύστημα σε μια σφοδρή μάχη εναντίον της. Το αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι να υποστεί ο οργανισμός μια μεγάλη αναστάτωση, γιατί μερικά από τα "πυρά" εναντίον του υποτιθέμενου εχθρού προκαλούν παράλληλα και κάποιες διαταραχές σε όργανα ή συστήματα οργάνων, χωρίς στη πραγματικότητα να υπάρχει σοβαρός λόγος γι' αυτή όλη την αντίδραση. Στην περίπτωση αυτή μιλάμε για **αλλεργία** και οι παθήσεις που οφείλονται σε μια τέτοια αντίδραση ονομάζονται αλλερ-

γικά νοσήματα. Για την ακρίβεια της ορολογίας, θα πρέπει να πούμε ότι στην αλλεργία, η αντίδραση του ανοσολογικού συστήματος στο αντιγόνο γίνεται κατά κανόνα, με αντισώματα της τάξης IgE. Εδώ χρειάζεται να σημειώσουμε ότι ο όρος "αλλεργία" που σημαίνει "άλλο έργο", θέλει να δείξει ότι στην κατάσταση αυτή το ανοσολογικό μας σύστημα, με την επίθεση που κάνει στο αντιγόνο, δεν εξυπηρετεί την προστασία μας από νοσήματα (α-νοσία), μια και το αντιγόνο είναι πρακτικά ακίνδυνο. Αντίθετα, μας δημιουργεί μια δυσάρεστη κατάσταση από την αδικαιολόγητη και υπερβολική αντίδρασή του.

3. Υπάρχει τέλος και το ενδεχόμενο, στην προσπάθεια να αντιμετωπισθεί ένα αντιγόνο (βλαπτικό ή αβλαβές), να προκληθεί μια έντονη αντίδραση, κατά την οποία, παράλληλα προς την καταπολέμηση του αντιγόνου, να δημιουργηθούν έντονες και βλαπτικές επιδράσεις πάνω στον ίδιο τον οργανισμό. Η κατάσταση αυτή ονομάζεται **υπερευαισθησία** και θα μπορούσε να παρομοιαστεί με την κατάσταση όπου οι αεροπορικές δυνάμεις ενός στρατού, στη προσπάθειά τους να πλήξουν εχθρικό στόχο, βομβαρδίζουν τα πάντα, ανεξάρτητα από την πρόκληση καταστροφών και σε συμμαχικά εδάφη.

Με τις απλουστευμένες περιγραφές κάποιων ανοσολογικών φαινομένων που δώσαμε πιο πάνω, θέλουμε να επισημάνουμε την ύπαρξη εκδηλώσεων του ανοσολογικού μας συστήματος, οι οποίες αντί να μας προστατεύουν μας δημιουργούν διαταραχές και νοσήματα. Έτσι θα πρέπει να κατανοήσουμε ότι η ίδια η δράση του ανοσολογικού μας συστήματος που προορίζεται να μας προστατεύει, κάποτε μπορεί να μας δημιουργεί προβλήματα και ασθένειες. Αντιλαμβανόμαστε λοιπόν ότι η λειτουργία του ανοσολογικού μας συστήματος μπορεί να είναι δίκοπο μαχαίρι, με άλλοτε προστατευτικές και ωφέλιμες δραστηριότητες και άλλοτε βλαπτικές και ασύμφορες. (βλ. εικόνα 5.1)

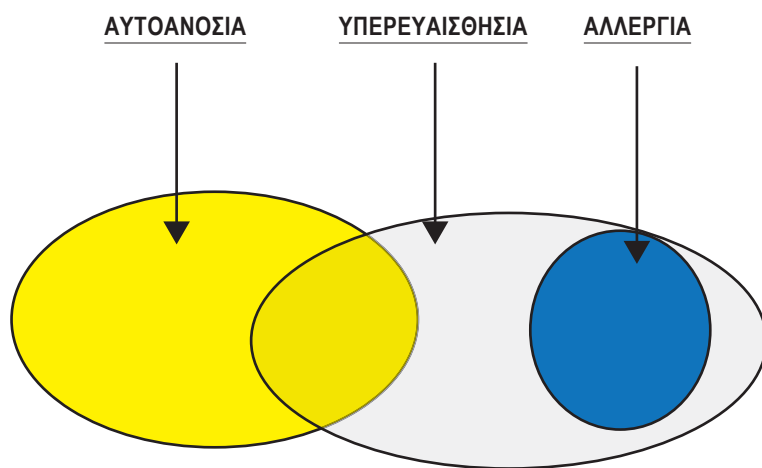


Εικόνα 5.1: Ευνοϊκές και ανεπιθύμητες εκδηλώσεις της λειτουργίας της ειδικής ανοσίας.

Στα παραδείγματα που είδαμε πιο πάνω, θίξαμε τις έννοιες της αυτοανοσίας, της αλλεργίας και της υπερευαισθησίας που θεωρούμε ότι ανήκουν στις ανεπιθύμητες δράσεις της ειδικής ανοσίας. Ας προσπαθήσουμε να τις ξεκαθαρίσουμε με κάποιους ορισμούς:

- ❖ **Αυτοανοσία** είναι η κατάσταση εκείνη κατά την οποία οι μηχανισμοί της ειδικής ανοσίας στρέφονται εναντίον αντιγόνων που αποτελούν συστατικά του ίδιου του οργανισμού. (βλ. και κεφ.9°)
- ❖ **Αλλεργία** είναι η κατάσταση εκείνη κατά την οποία εμφανίζονται συμπτώματα στο άτομο σαν συνέπεια της ειδικής ανοσολογικής αντίδρασής του σε κάποιο αβλαβές αντιγόνο του περιβάλλοντος.
- ❖ **Υπερευαισθησία** είναι η κατάσταση εκείνη κατά την οποία η ειδική ανοσολογική αντίδραση του οργανισμού σε κάποιο αντιγόνο (βλαβερό ή αβλαβές), συνοδεύεται και από φαινόμενα που βλάπτουν και τον ίδιο τον οργανισμό.

Εδώ θα πρέπει να σημειώσουμε ότι οι πιο πάνω όροι δεν χρησιμοποιούνται πάντα με τον τρόπο που ορίστηκαν. Έτσι πολλές φορές η έννοια της αλλεργίας χρησιμοποιείται σαν ίδια με την έννοια της υπερευαισθησίας. Στη πραγματικότητα η αλλεργία είναι υποκατηγορία της υπερευαισθησίας. Η σχέση μεταξύ των εννοιών που ορίσαμε φαίνεται στα διαγράμματα της εικόνας 5.2.



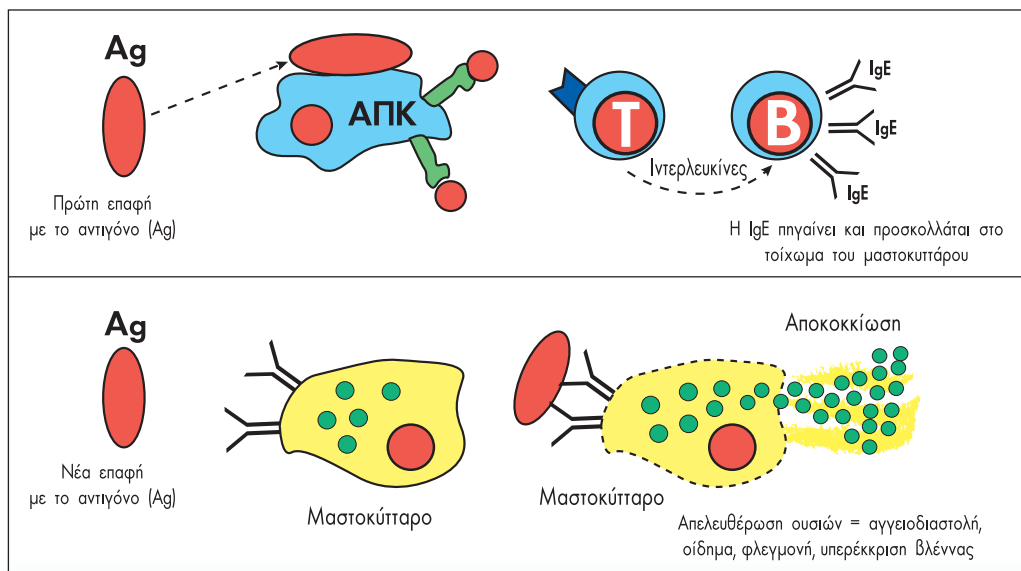
Εικόνα 5.2: Διάγραμμα που δείχνει την σχέση μεταξύ αλλεργίας, υπερευαισθησίας και αυτοανοσίας.

Παρατηρούμε ότι η αλλεργία αποτελεί υποσύνολο των καταστάσεων υπερευαισθησίας και ότι η υπερευαισθησία μπορεί να συνυπάρχει σε περιπτώσεις αυτοανοσίας.

Αλλεργία

Όπως είδαμε, στην κατάσταση που ονομάζουμε *αλλεργία*, το άτομο εμφανίζει κάποια συμπτώματα που οφείλονται στη δράση της ειδικής ανοσίας, όταν έρθουμε σε επαφή με κάποιο αντιγόνο, που αυτό καθ' εαυτό δεν είναι βλαπτικό για τον οργανισμό. Στις περιπτώσεις αυτές το αντιγόνο δεν έχει από μόνο του οποιαδήποτε τοξική δράση στον οργανισμό μας. Η ίδια η κινητοποίηση της ειδικής ανοσίας είναι αυτή που δημιουργεί τα συμπτώματα της αλλεργίας.

Οι αλλεργικές παθήσεις είναι συχνές και η εμφάνισή τους εξαρτάται από τη γενετική προδιάθεση του ατόμου, την έκθεση στα αντιγόνα που μπορεί να τις προκαλέσουν (τα λεγόμενα αλλεργιογόνα) και την ευαισθητοποίηση του ατόμου στα αντιγόνα, από προηγούμενη έκθεση σε αυτά. Οι αλλεργικές παθήσεις, στην πλειονότητά τους ανήκουν στον τύπο Ι της υπερευαισθησίας (που ονομάζεται και αναφυλακτικός τύπος υπερευαισθησίας). Ο βασικός μηχανισμός μιας αλλεργικής πάθησης είναι η απελευθέρωση διάφορων αγγειοδραστικών ουσιών και μεσολαβητών της φλεγμονής κυρίως από τα mastοκύτταρα (σιτευτικά κύτταρα) αλλά και τα βασεόφιλα κύτταρα. Η σειρά των γεγονότων έχει ως εξής: Η πρώτη έκθεση ενός ατόμου σε κάποιο αλλεργιογόνο οδηγεί σε αναγνώριση της αντιγονικής του σύστασης και η χυμική ανοσία κινητοποιείται έτσι ώστε να παραχθούν αντισώματα. Τα ειδικά αυτά αντισώματα ανήκουν στην τάξη IgE των ανοσοσφαιρινών (βλ. κεφάλαιο 1ο). Τα μόρια της ειδικής IgE ανοσοσφαιρίνης πηγαίνουν και καθλώνονται στην επιφάνεια των mastοκυττάρων και των βασεοφίλων κυττάρων. Όταν σε δεύτερο χρόνο, το συγκεκριμένο αλλεργιογόνο ξαναμπει στον οργανισμό, τότε συνδέεται με το ειδικό IgE αντίσωμα που υπάρχει στη μεμβράνη των mastοκυττάρων. Η ένωση αντιγόνου (αλλεργιογόνου) - αντισώματος πάνω στην επιφάνεια του mastοκυττάρου προκαλεί εκκένωση των κοκκίων του mastοκυττάρου προς τα έξω (αποκοκκίωση mastοκυττάρου). Τα κοκκία αυτά, περιέχουν ουσίες με δράση πάνω στα αγγεία (αγγειοδραστικές), μεσολαβητές της φλεγμονής και παράγοντες που προσελκύουν άλλα κύτταρα στην περιοχή (χημειοτακτικοί παράγοντες)- βλ. εικόνα 5.3.



Εικόνα 5.3: Μηχανισμός αλλεργικής αντίδρασης. Α: Κατά την πρώτη επαφή με το αντιγόνο (Ag), το αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο (ΑΠΚ) παρουσιάζει τμήμα του αντιγόνου στο βοηθητικό T-λεμφοκύτταρο, το οποίο με τη σειρά του απελευθερώνει ιντερλευκίνες που διεγείρουν το B-κύτταρο να αρχίσει την παραγωγή ειδικών αντισωμάτων (IgE). Β: Τα IgE αντισώματα προσκολλώνται στην επιφάνεια των mastοκυττάρων. Σε νέα είσοδο του αντιγόνου, η σύνδεση αντιγόνου με το IgE αντίσωμα που βρίσκεται στην μεμβράνη του mastοκυττάρου, προκαλεί το άδειασμα των κοκκίων του mastοκυττάρου προς τα έξω, με αποτέλεσμα οι δραστικές ουσίες που περιέχονται στα κοκκία να δημιουργούν τα φαινόμενα της αλλεργίας.

Τα αποτελέσματα της δράσης αυτών των ουσιών (ισταμίνη, σεροτονίνη, χημειοτακτικός παράγοντας των ηωσινοφίλων (ECF), χημειοτακτικός παράγοντας των ουδετερόφιλων (NCF), παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF), βραδυκίνη, λευκοτριένια, προσταγλανδίνες και θρομβοξάνες) είναι συνοπτικά τα εξής: Αγγειοδιαστολή, αυξημένη διαπερατότητα των αγγείων, σύσπαση των λείων μυϊκών ινών, προσέλκυση ηωσινοφίλων και ουδετεροφίλων, συσσωρευση αιμοπεταλίων και αυξημένη έκκριση βλέννας.

Όλες αυτές οι δραστικές ουσίες δημιουργούν αλλαγές στην περιοχή του ιστού που απελευθερώνονται και δημιουργούν αντίστοιχα συμπτώματα. Αν για παράδειγμα η αντίδραση αλλεργιογόνου και IgE αντισώματος γίνει πάνω στα μαστοκύτταρα του βλεννογόνου της μύτης, τότε στον βλεννογόνο της μύτης θα δημιουργηθεί ερυθρότητα, οίδημα (πρήξιμο), φλεγμονή, αύξηση της έκκρισης βλέννας με αντίστοιχα συμπτώματα την ρινική συμφόρηση (βούλωμα της μύτης), την καταρροή, τα φταρνίσματα και τον κνησμό (φαγούρα). Η πάθηση με τα χαρακτηριστικά που περιγράψαμε δεν είναι τίποτε άλλο από την **αλλεργική ρινίτιδα**. Αντίστοιχα φαινόμενα στο βρογχικό δένδρο δημιουργούν το εξωγενές αλλεργικό **βρογχικό άσθμα** και αν πάλι συμβούν στο δέρμα μας έχουμε την **κνίδωση** ή χρονιότερα το **έκζεμα ή ατοπική δερματίτιδα**. Σε περίπτωση που το αλλεργιογόνο μπει κατ' ευθείαν στη κυκλοφορία του αίματος ενός ευαίσθητοποιημένου ατόμου (π.χ. ενδοφλέβια ένεση πενικιλίνης σε αλλεργικό στην πενικιλίνη άτομο, τσίμπημα εντόμου σε επίσης αλλεργικό άτομο), τότε μπορεί να εμφανισθεί το **αναφυλακτικό shock** (καταπληξία).

Οι αλλεργικές εκδηλώσεις που αναφέρθηκαν, οφείλονται, όπως είδαμε στην ένωση του αλλεργιογόνου (αντιγόνου) με αντίσωμα της τάξης E των ανοσοσφαιρινών (IgE). Αυτού ακριβώς του είδους οι αλλεργικές αντιδράσεις που οφείλονται σε IgE αντισώματα ονομάζονται συλλογικά **ατοπία ή ατοπικές αντιδράσεις**. Η μορφή αυτή της αλλεργίας που λέγεται ατοπία, έχει κληρονομικό χαρακτήρα και τα άτομα που την εμφανίζουν παρουσιάζουν πολύ αυξημένη παραγωγή της IgE όταν εκτεθούν σε αλλεργιογόνο (έως και δεκαπλάσια) σε σύγκριση με φυσιολογικά άτομα.

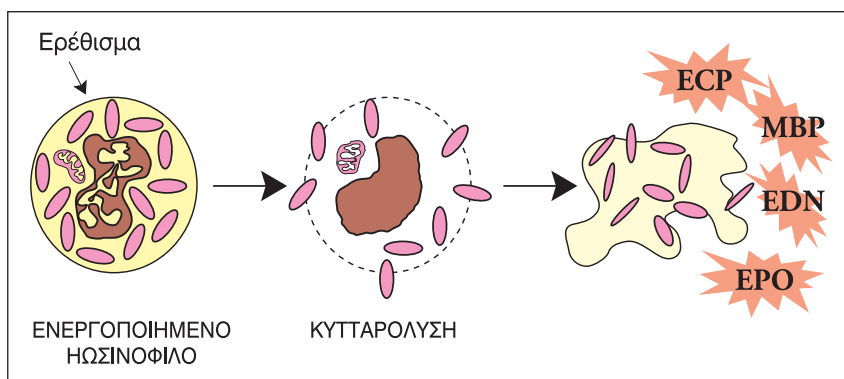
Τα σημαντικά κύτταρα στην αλλεργική αντίδραση

Πολλά κύτταρα και ουσίες εμπλέκονται στην ανοσολογική αντίδραση που δημιουργεί τα φαινόμενα της αλλεργίας. Τα κύτταρα όμως με τον σημαντικότερο ρόλο στην εκδήλωση των φαινομένων αυτών είναι το μαστοκύτταρο και το ηωσινόφιλο.

- ♦ **Το μαστοκύτταρο** (ή αλλιώς *σιτευτικό κύτταρο*) προέρχεται κι αυτό από προγονικά κύτταρα του μυελού των οστών, τα οποία μεταναστεύουν σε διάφορους ιστούς και εκεί διαφοροποιούνται σε ώριμα μαστοκύτταρα. Το χαρακτηριστικό τους είναι το στρογγυλό ή ελλειψοειδές σχήμα, ο στρογγυλός πυρήνας αλλά κυρίως η *παρουσία άφθονων κοκκίων* στο κυτταρόπλασμά τους. Ο ρόλος των κοκκίων αυτών (όπως είδαμε και στην εικόνα 5.3), είναι ότι περιέχουν *αγγειοδραστικές ουσίες, χημειοτακτικούς παράγοντες* (= ουσίες που προσελκύουν άλλα κύτταρα) και άλλους παράγοντες που δημιουργούν τις τοπικές μεταβολές στους ιστούς και ευθύνονται για τα αλλεργικά συμπτώματα.

♦ **Το ηωσινόφιλο κύτταρο** ανήκει στην κατηγορία των λευκών αιμοσφαιρίων που ονομάζουμε πολυμορφοπύρνα. Το κύτταρο αυτό περιέχει επίσης πολλά κοκκία στο κυτταρόπλασμά του. (βλ. εικόνα 5.4). Προέρχεται και αυτό από τα προγονικά κύτταρα των πολυμορφοπύρνων του μυελού των οστών και κυκλοφορεί στο αίμα μαζί με τα άλλα λευκά αιμοσφαίρια σε μικρή αναλογία (1-4% του συνόλου των λευκών αιμοσφαιρίων).

Ο ρόλος των ηωσινοφίλων κυττάρων στον οργανισμό δεν ήταν ξεκαθαρισμένος. Ξέρουμε όμως ότι ο αριθμός των ηωσινοφίλων στο αίμα αυξάνεται στις αλλεργικές καταστάσεις και σε λοιμώξεις από διάφορα παράσιτα (π.χ. εχινόκοκκος). Ο χημειοτακτικός παράγοντας των ηωσινοφίλων (ECF) που απελευθερώνεται από τα μαστοκύτταρα προσελκύει τα ηωσινόφιλα στο σημείο που έγινε η ένωση αντιγόνου-αντισώματος. Η επαφή του ηωσινοφίλου με αντιγόνο μπορεί να προκαλέσει τη λύση του κυττάρου και απελευθέρωση των κοκκίων του. Οι ουσίες που περιέχονται στα κοκκία του ηωσινοφίλου είναι βλαπτικές για τους ιστούς και σε αυτές οφείλονται κάποιες από τις βλάβες που δημιουργούνται στην αλλεργία. (Οι βλαπτικές αυτές ουσίες του ηωσινοφίλου είναι η μείζων βασική πρωτεΐνη -MBP, η ηωσινοφιλική κατιονική πρωτεΐνη -ECP, η προερχόμενη από το ηωσινόφιλο νευροτοξίνη -EDN και η ηωσινοφιλική υπεροξειδάση -EPO -βλ. εικόνα 5.4).



Εικόνα 5.4: Η ενεργοποίηση του ηωσινοφίλου και η άφιξή του στο σημείο εισόδου του αντιγόνου (αλλεργιογόνου) μπορεί να οδηγήσει στη λύση του κυττάρου και την απελευθέρωση των κοκκίων του, στα οποία περιέχονται ουσίες με βλαπτική επίδραση στους ιστούς (MBP, ECP, EDN και EPO. Βλ. κείμενο).

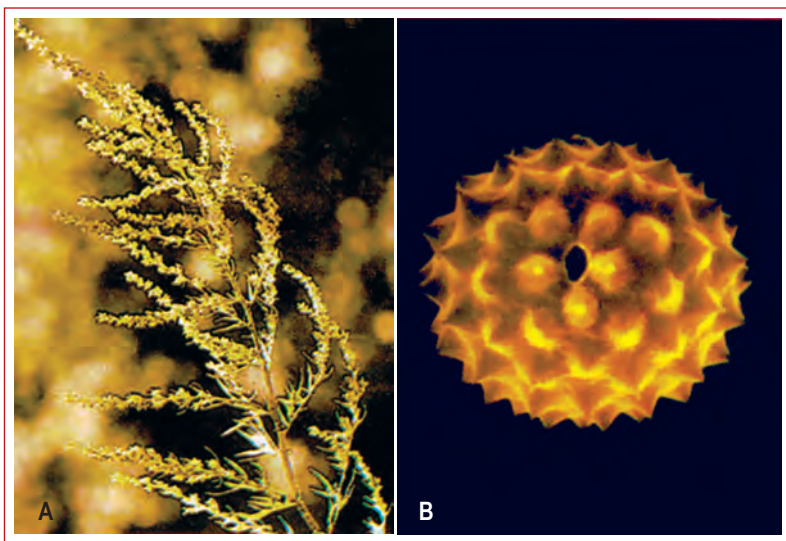
Συμπερασματικά, θα πρέπει να πούμε ότι οι αλλεργικές παθήσεις είναι συχνές και οφείλονται στην αντίδραση της ειδικής ανοσίας σε γενικά αβλαβείς περιβαλλοντικές ουσίες που έχουν χαρακτηρήρα αντιγόνου. Τα βασικά κύτταρα στην αλλεργία είναι κυρίως το μαστοκύτταρο και το ηωσινόφιλο. Τα φαινόμενα της αλλεργίας ξεκινούν από την ένωση του αλλεργιογόνου με αντίσωμα IgE (που έχει παραχθεί από προηγούμενη επαφή με το αλλεργιογόνο) και βρίσκεται καθηλωμένο πάνω στο μαστοκύτταρο. Η ένωση αλλεργιογόνου-αντισώματος απελευθερώνει τα κοκκία του μαστοκυττάρου και οι διάφορες ουσίες που περιέχονται σ' αυτά προκαλούν μεταβολές στους ιστούς και προσελκύουν ηωσινόφιλα. Ουσίες που βρίσκονται στα ηωσινόφιλα δημιουργούν και αυτές βλάβες στους ιστούς και όλα αυτά που συμβαίνουν είναι υπεύθυνα για τα συμπτώματα της αλλεργικής πάθησης.

5.2 Αλλεργιογόνα

Τα **αλλεργιογόνα** είναι οι αντιγονικές ουσίες που μπορούν να δημιουργήσουν στον οργανισμό αντίδραση άμεσης υπερευαισθησίας (ή τύπου I υπερευαισθησία) και κατά συνέπεια να προκαλέσουν αλλεργικές εκδηλώσεις όπως αυτές στις οποίες αναφερθήκαμε (αλλεργική ρινίτιδα, άσθμα, ατοπική δερματίτιδα, κνίδωση, ή ακόμα και αναφυλακτικό shock). Είχαμε επισημάνει ακόμα, ότι κατά κανόνα, *τα αλλεργιογόνα είναι ουσίες οι οποίες από μόνες τους δεν έχουν βλαβερή επίδραση στον οργανισμό. Δεν είναι δηλαδή όπως π.χ. οι τοξίνες των μικροβίων οι οποίες αν δεν εξουδετερωθούν από τους μηχανισμούς ειδικής ανοσίας, μπορεί να δημιουργήσουν σοβαρές διαταραχές (π.χ. οι σπασμοί που μπορεί να προκαλέσει η τοξίνη του κλωστηριδίου του τετάνου). Αντίθετα, τα περισσότερα αλλεργιογόνα δεν έχουν καμιά άμεση βλαπτική δράση. Τα σοβαρά συμπτώματα που μπορούν να προκαλέσουν, οφείλονται αποκλειστικά στην αντίδραση των μηχανισμών της ειδικής ανοσίας. Είναι λοιπόν τα αλλεργιογόνα, κατά κάποιο τρόπο, παράγοντες, των οποίων τις "προθέσεις" έχει παρεξηγήσει το ανοσολογικό σύστημα. Στη περίπτωση αυτή, η ειδική μας ανοσία ενεργεί σύμφωνα με το "γράμμα του νόμου" που είναι η καταπολέμηση του ξένου παράγοντα, αλλά αντίθετα με το "πνεύμα του νόμου" που είναι η προστασία του οργανισμού από πραγματικά επικίνδυνους παράγοντες.*

Τα αλλεργιογόνα μπορεί να είναι *πλήρη αντιγόνα* (πρωτεΐνες) ή *απτίνες* (βλ. κεφ. 1°). Αυτά που είναι πλήρη αντιγόνα μπορούν να προκαλέσουν την παραγωγή των IgE αντισωμάτων και να συνδεθούν με αυτά. Οι απτίνες μπορούν να συνδεθούν με τα IgE αντισώματα αλλά για να προκαλέσουν την παραγωγή τους πρέπει να έχουν προηγούμενα συνδεθεί με κάποιο πρωτεϊνικό φορέα (συνήθως κάποια πρωτεΐνη του οργανισμού). Οι τρόποι με τους οποίους ένα αλλεργιογόνο μπορεί να μπει στον οργανισμό είναι:

- Με την εισπνοή αέρα στον οποίο μπορεί να αιωρούνται υπό μορφή σωματιδίων.
- Από το πεπτικό σύστημα σαν συστατικό της τροφής ή σαν φάρμακο που παίρνουμε.
- Δια μέσου του δέρματος αν υπάρξει τσίμπημα εντόμου ή τραύμα.
- Μέσα από την κυκλοφορία του αίματος αν γίνει ένεση κάποιας φαρμακευτικής ουσίας.
- Στα αλλεργιογόνα που μπορούμε να εισπνεύσουμε, περιλαμβάνονται η γύρη διαφόρων φυτών, η οικιακή σκόνη, οι τρίχες ή και η απολεπισμένη επιδερμίδα ζώων, οι σπόροι διαφόρων μυκήτων και



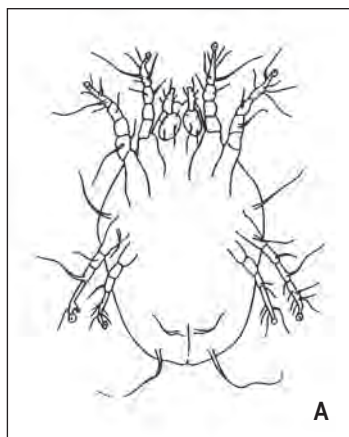
Εικόνα 5.5: A: Τα αγρωστώδη (*Ambrosia artemisiifolia* και *Ambrosia trifida*) αποτελούν συχνή πηγή τροφοδοσίας του αέρα με γύρη, που είναι από τα πιο συνηθισμένα αλλεργιογόνα.

B: Φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ενός κόκκου γύρης των αγρωστωδών.

άλλα. Η γύρη των φυτών κατά την εποχή της ανθοφορίας μεταφέρεται με τη βοήθεια του ανέμου και αιωρείται στον ατμοσφαιρικό αέρα και έτσι μπορεί κανείς να την εισπνεύσει. Συχνά αλλεργιογόνα αυτής της κατηγορίας είναι η γύρη των αγρωστωδών, του πεύκου, του έλατου κλπ. (βλ. εικ.5.5).

Η οικιακή σκόνη είναι ένα επίσης πολύ συχνό αλλεργιογόνο γιατί σ' αυτήν υπάρχει ένα άκαρι (μικροσκοπικό ζώο που ανήκει στην κατηγορία των αρθροπόδων) και του οποίου η επίσημη ονομασία είναι *dermatophagoides pteronyssinus*. Αυτό βρίσκεται συνήθως μέσα στα χαλιά, τα κιλίμια, τις φωλιές των πουλιών, στα δημητριακά ή και το αλεύρι. Είναι πολύ μικρό σε μέγεθος για να το δει κανείς με το μάτι (200-500μm) αλλά σε μεγέθυνση η εμφάνισή του είναι εντυπωσιακά τερατώδης (βλ. εικόνα 5.6). Η παρουσία του ευνοείται από τη ζέστη και την υγρασία ενώ το συχνό τσίμπημα των χαλιών στον αέρα βοηθά την απομάκρυνσή του.

- Από τα αλλεργιογόνα της τροφής πιο συνηθισμένα είναι πρωτεΐνες που υπάρχουν στα αυγά, το γάλα, τη σοκολάτα, τα ψάρια και τα διάφορα θαλασσινά (οστρακοειδή).
- Από τα φάρμακα υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία αλλεργιογόνων, αλλά τα πιο συνηθισμένα είναι η πενικιλίνη, οι σουλφοναμίδες και άλλα αντιβιοτικά φάρμακα.
- Τα αλλεργιογόνα που μπαίνουν στον οργανισμό μέσω του δέρματος μετά από τσίμπημα εντόμων προέρχονται κυρίως από την ομάδα των εντόμων που λέγονται υμενόπτερα και είναι η μέλισσα, η σφήκα και τα κουνούπια. Το τσίμπημα των εντόμων αυτών καμιά φορά μπορεί να προκαλέσει σοβαρές αλλεργικές αντιδράσεις, μέχρι και αναφυλακτικό shock.
- Αλλεργιογόνα που μπορούν να μπουν κατ' ευθείαν στην κυκλοφορία είναι τα φάρμακα που αναφέραμε, όταν αυτά χορηγηθούν με ένεση ή ουσίες που μπαίνουν με το τσίμπημα κάποιων εντόμων.



Εικόνα 5.6: Το άκαρι της οικιακής σκόνης (*Dermatophagoides pteronyssinus*) που αποτελεί ένα από τα πιο συνηθισμένα αλλεργιογόνα που μπορεί να εισπνεύσουμε. Α: Σχηματική δομή του ακάρεος. Β: Φωτογραφία του ακάρεος σε μεγέθυνση).

Η διαπίστωση της ύπαρξης ευαισθησίας ενός ατόμου σε ένα ή περισσότερα από τα γνωστά αλλεργιογόνα, μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους. Μερικές φορές το ιστορικό του ατόμου είναι ενδεικτικό για το είδος του αλλεργιογόνου που του προκαλεί τα αλλεργικά συμπτώματα. Άλλοι τρόποι διαπίστωσης της ευαισθησίας σε κάποιο αλλεργιογόνο είναι:

1. Οι δερματικές δοκιμασίες, κατά τις οποίες ελέγχεται η επίδραση διαλυμάτων διαφόρων αλλεργιογόνων στο δέρμα. (βλ. εικόνα 5.7)
2. Οι δοκιμασίες πρόκλησης (pronocation tests) με τις οποίες προκαλούμε την επαφή του οργάνου στο οποίο εμφανίζονται τα αλλεργικά φαινόμενα, με το αλλεργιογόνο.
3. Ο προσδιορισμός της ολικής IgE του ορού μας δείχνει αν τα επίπεδα της συγκεκριμένης ανοσοσφαιρίνης είναι πολύ αυξημένα.
4. Ο προσδιορισμός της ειδικής IgE στον ορό με την μέθοδο του αλλεργοπροσρόφησης (RAST = Radio allergosorbent test) που είναι η πιο εξειδικευμένη μέθοδος για την διαπίστωση ευαισθησίας σε κάποιο αλλεργιογόνο.



Εικόνα 5.7: Α: Τρόπος εκτέλεσης των δερματικών δοκιμασιών σε διάφορα κοινά αλλεργιογόνα. Β: θετική δερματική δοκιμασία σε αρκετά αλλεργιογόνα.

5.3 Διάκριση αντιδράσεων υπερευαισθησίας

Έχουμε αναφέρει ότι η υπερευαισθησία είναι η κατάσταση εκείνη κατά την οποία η ειδική ανοσολογική αντίδραση του οργανισμού προς ένα αντιγόνο (βλαπτικό ή αβλαβές), προκαλεί βλάβες και στους ιστούς του ίδιου του οργανισμού. Η διάκριση των τύπων της υπερευαισθησίας (γνωστή σαν ταξινόμηση κατά Gell και Coombs) είναι η εξής:

1. Τύπος I - Αντίδραση άμεσης υπερευαισθησίας (αναφυλακτικός τύπος)
2. Τύπος II - Κυτταροτοξική αντίδραση
3. Τύπος III - Αντίδραση από ανοσοσυμπλέγματα
4. Τύπος IV - Αντίδραση επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας (κυτταρική υπερευαισθησία)

Τύπος I ή αντίδραση άμεσης υπερευαισθησίας (Αναφυλακτικός τύπος)

Σ' αυτό τον τύπο υπερευαισθησίας (που ήδη περιγράψαμε στις αλλεργίες), έχουμε αντίδραση ενός αντιγόνου με αντίσωμα της τάξης IgE το οποίο βρίσκεται προσκολλημένο στην μεμβράνη των μαστοκυττάρων και των βασεοφίλων κυττάρων. Αποτέλεσμα της ένωσης αντιγόνου - αντισώματος είναι η απελευθέρωση των κοκκίων των κυττάρων αυτών που περιέχουν διάφορες δραστικές ουσίες. (Βλ. πιο πάνω § 5.1). Συνέπεια αυτού του τύπου αντίδρασης είναι οι αλλεργικές καταστάσεις που περιγράψαμε πιο πάνω. Ονομάζεται και άμεση υπερευαισθησία γιατί εμφανίζεται σχεδόν αμέσως μετά την επαφή με το αντιγόνο.

Τύπος II ή κυτταροτοξική αντίδραση

Σ' αυτό τον τύπο υπερευαισθησίας η αντίδραση ξεκινά από αντισώματα που συνήθως ανήκουν στην τάξη IgG ή IgM τα οποία αντιδρούν με αντιγόνο που βρίσκεται πάνω σε κάποια κύτταρα. Το αποτέλεσμα αυτής της αντίδρασης μπορεί να είναι ένα από τα ακόλουθα: α) Λύση του κυττάρου μέσω της ενεργοποίησης του συμπληρώματος (βλ. και κεφ. 4°) β) Οψωνοποίηση (διευκόλυνση της φαγοκυττάρωσης) του κυττάρου και γ) Λύση ή αδρανοποίηση του κυττάρου μέσω της δράσης των λεγόμενων NK- κυττάρων (κυττάρων φυσικών- φονέων -βλ. κεφ. 2°).

Αυτός ο τύπος υπερευαισθησίας είναι υπεύθυνος για α) την αιμόλυση από ασύμβατη μετάγγιση αίματος, β) την αιμολυτική νόσο του νεογνού (ασυμβατότητα Rhesus) γ) τις αυτοάνοσες αιμολυτικές αναιμίες δ) την ακοκκιοκυτταραιμία (ουδετεροπενία) και θρομβοπενική πορφύρα (=καταστροφή των αιμοπεταλίων), από φάρμακα. (Ο τύπος II υπερευαισθησίας συμμετέχει -μαζί με τον τύπο III- στους μηχανισμούς της νόσου που είναι γνωστή σαν Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος).

Τύπος III ή αντίδραση από ανοσοσυμπλέγματα

Σ' αυτό τον τύπο υπερευαισθησίας δημιουργούνται αντιδράσεις οι οποίες είναι συνέπεια της *εναπόθεσης ανοσοσυμπλεγμάτων* (συμπλεγμάτων αντιγόνου-αντισώματος). Τα ανοσοσυμπλέγματα μπορεί να δημιουργηθούν στον ιστό που εναποτίθενται ή να μεταφερθούν από το σημείο σχηματισμού τους στον συγκεκριμένο ιστό, μέσω της κυκλοφορίας του αίματος. Τα αντισώματα στα συμπλέγματα αυτά ανήκουν στις τάξεις των ανοσοσφαιρινών που μπορούν να ενεργοποιήσουν το συμπλήρωμα (IgG ή IgM). Τα αντιγόνα μπορεί να είναι φάρμακα, διατροφικά αντιγόνα ή μικροοργανισμοί (ακόμα και ορισμένα αυτοαντιγόνα). Υπεύθυνα για τον τύπο III υπερευαισθησίας είναι τα μικρού μεγέθους ανοσοσυμπλέγματα που ξεφεύγουν

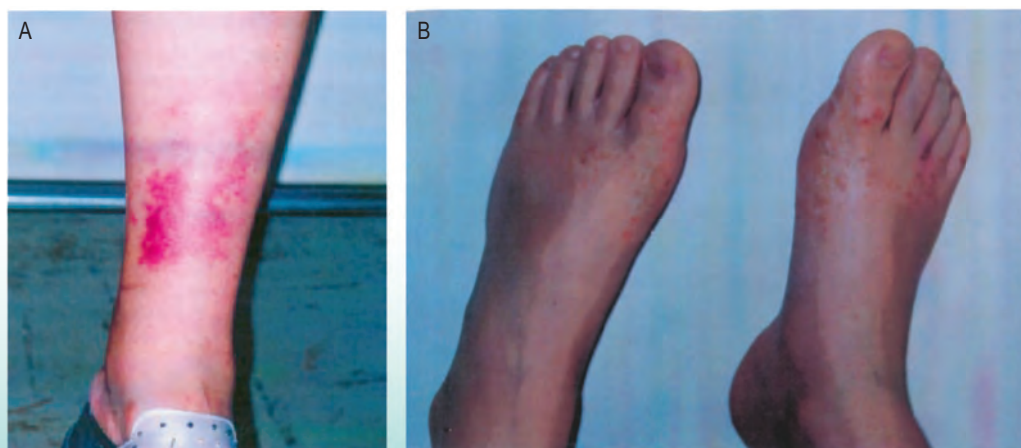
από τη διαδικασία της φαγοκυττάρωσης. Αυτά εναποτίθενται στο τοίχωμα μικρών αγγείων (π.χ. το αγγειώδες σπείραμα του νεφρού). Τα ανοσοσυμπλέγματα, ενεργοποιώντας το συμπλήρωμα (κλασική οδός) οδηγούν στην δημιουργία διαφόρων προϊόντων της ενεργοποίησης (που όπως είδαμε στο 4^ο κεφάλαιο) είναι αναφυλατογίνες και μεσολαβητές της φλεγμονής. Έτσι στο σημείο εναπόθεσης των ανοσοσυμπλεγμάτων τελικά δημιουργείται οίδημα και φλεγμονή.

Οι παθολογικές καταστάσεις που ανήκουν στην υπερευαισθησία τύπου III είναι η *ορονοσία* (από χορήγηση αντιτοξικού ορού ανοσοποιημένου ζώου- βλ. κεφ. 6^ο), η *σπειραματονεφρίτιδα*, η *πνευμονία από υπερευαισθησία* (νόσος των αγροτών και πλήθος άλλων πνευμονικών νόσων από υπερευαισθησία), *αυτοάνοσα νοσήματα* (συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, ρευματοειδής αρθρίτιδα).

Τύπος IV ή επιβραδυνόμενη υπερευαισθησία (κυτταρική υπερευαισθησία)

Αυτός ο τύπος της υπερευαισθησίας δεν προκαλείται από αντισώματα και δεν χαρακτηρίζεται από συμμετοχή του συμπληρώματος. Η υπερευαισθησία αυτή αποτελεί αντίδραση της κυτταρικής ανοσίας και για την οποία υπεύθυνα είναι τα Τ-λεμφοκύτταρα. Στη περίπτωση αυτή, το ευαισθητοποιημένο (βοηθητικό) Τ-λεμφοκύτταρο (T_H1) αντιδρά με το αντιγόνο και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή διαφόρων κυτταροκινών, οι οποίες προσελκύουν διάφορα άλλα κύτταρα στο σημείο της αντίδρασης. Αποτέλεσμα αυτής της διεργασίας είναι η δημιουργία φλεγμονής στο σημείο αυτό. Ο τύπος IV, μπορεί να έχει χαρακτηριστικά τοπικής ή και γενικευμένης αντίδρασης και λέγεται επιβραδυνόμενη υπερευαισθησία γιατί τα φαινόμενα εκδηλώνονται σε 24 - 48 ώρες μετά την (νέα) επαφή με το αντιγόνο.

Στον τύπο αυτό της υπερευαισθησίας ανήκουν και οι αντιδράσεις σε διάφορους μικροοργανισμούς, όπως κάποια από τα βακτήρια (μυκοβακτηρίδιο φυματίωσης, βρουκέλλα), τους ιούς, τους μύκητες, τα πρωτόζωα και τους έλμινθες. Επίσης, στον τύπο IV, περιλαμβάνονται η αντίδραση στη δοκιμασία φυματίνης (δερμοαντίδραση Mantoux), η αντίδραση απόρριψης μοσχεύματος (βλ. κεφ. 7^ο), και η δερματίτιδα εξ επαφής (βλ. εικ. 5.8).



Εικόνα 5.8: Α. Δερματίτιδα εξ επαφής σε ενήλικα από συνθετικό πλαστικό υλικό σε προστατευτικό περισφύριο. Β. Δερματίτιδα εξ επαφής σε εννιάχρονο αγόρι από κόλλα αθλητικού παπουτσιού.

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Καμιά φορά, το ανοσολογικό μας σύστημα, αντί να μας προστατεύει από πραγματικά επικίνδυνους παράγοντες που απειλούν την υγεία μας, μας δημιουργεί προβλήματα, μέσα στο πλαίσιο της προσπάθειάς του να εκτελεί πιστά το πρόγραμμα που έχει, να καταπολεμά δηλαδή κάθε τι «ξένο». Τέτοια παραδείγματα είναι 1. η *αυτοανοσία*, κατά την οποία στρέφεται εναντίον συστατικών του ίδιου του οργανισμού τα οποία εκλαμβάνει σαν ξένα, 2. η *αλλεργία*, κατά την οποία η έντονη αντίδρασή του σε αβλαβή αντιγόνα του περιβάλλοντος, δημιουργεί διαταραχές και ενοχλητικά συμπτώματα στον οργανισμό και 3. η *υπερευαισθησία*, κατά την οποία η αντίδραση σε κάποιο αντιγόνο (ξένο ή οικείο, βλαπτικό ή αβλαβές) συνοδεύεται από φαινόμενα που βλάπτουν τον οργανισμό και τον κάνουν να νοσήει. Η αλλεργία είναι λοιπόν ένας τύπος υπερευαισθησίας (Τύπος I), στην οποία το αντιγόνο είναι μια αθώα, κατά κανόνα, ουσία του περιβάλλοντος, την οποία ονομάζουμε *αλλεργιογόνο*. Τα αλλεργιογόνα μπορεί να είναι πλήρη αντιγόνα ή απτίνες. Οι αλλεργίες είναι σχετικά συχνές παθήσεις και περιλαμβάνουν την *αλλεργική ρινίτιδα*, το *εξωγενές αλλεργικό άσθμα*, την *κνίδωση*, την *ατοπική δερματίτιδα (έκζεμα)* και το *αναφυλακτικό shock (καταπληξία)*. Η εμφάνιση των αλλεργικών αυτών παθήσεων ευνοείται σε άτομα με γενετική προδιάθεση να παράγουν μεγάλες ποσότητες IgE αντισωμάτων όταν εκτεθούν σε κάποιο αλλεργιογόνο. Η κατάσταση αυτή λέγεται *ατοπία* και έχει κληρονομικό χαρακτήρα. Η *υπερευαισθησία* είναι μια γενικότερη κατάσταση σε σχέση με την αλλεργία κατά την οποία ο οργανισμός νοσεί εξ αιτίας διαφορετικών τύπων ειδικής ανοσολογικής αντίδρασης, προς διάφορα αντιγόνα (ξένες ουσίες ή συστατικά του οργανισμού, βλαπτικές ουσίες ή αθώες). Η υπερευαισθησία έχει ταξινομηθεί σε 4 τύπους. Ο τύπος I (αντίδραση άμεσης υπερευαισθησίας ή αναφυλακτικός τύπος) είναι αυτός που συμβαίνει στις αλλεργικές παθήσεις που αναφέρθηκαν. Σ' αυτόν τον τύπο, το αντιγόνο (που εδώ πρόκειται για αλλεργιογόνο) αντιδρά με αντίσωμα IgE που βρίσκεται προσκολλημένο στην επιφάνεια του μαστοκυττάρου και έχει παραχθεί από προηγούμενη έκθεση του οργανισμού στο αντιγόνο. Η αντίδραση αντιγόνου αντισώματος πάνω στο μαστοκύτταρο προκαλεί το άδειασμα των κοκκίων που περιέχει προς τα έξω (αποκοκκίωση). Οι δραστικές ουσίες των κοκκίων προκαλούν, μεταξύ άλλων, διαστολή των αγγείων, οίδημα και φλεγμονή στο σημείο που απελευθερώθηκαν. Αυτά τα φαινόμενα που συμβαίνουν στο σημείο της αντίδρασης αντιγόνου-αντισώματος ευθύνονται για τα συμπτώματα της αλλεργίας (ή υπερευαισθησίας τύπου I). Ο τύπος II υπερευαισθησίας (ή κυτταροτοξική αντίδραση) περιλαμβάνει την αντίδραση αντιγόνων που βρίσκονται πάνω σε κάποια κύτταρα (π.χ. ερυθρά αιμοσφαίρια) με αντισώματα των τάξεων IgG ή IgM. Η σύνδεση αντιγόνου –αντισώματος ενεργοποιεί το συμπλήρωμα και το κύτταρο που έχει τα αντιγόνα τελικά καταστρέφεται. Χαρακτηριστική περίπτωση τύπου II υπερευαισθησίας είναι η αιμόλυση που προκαλείται από ασυμβατότητα των ομάδων αίματος κατά τις μεταγγίσεις. Ο τύπος III (ή αντίδραση από ανοσοσυμπλέγματα) δημιουργείται από την εναπόθεση μικρών συμπλεγμάτων αντιγόνου-αντισώματος σε κάποιον ιστό, συνήθως μικρά αιμοφόρα αγγεία. Επειδή τα αντισώματα στα συμπλέγματα αυτά είναι IgG ή IgM μπορούν να ενεργοποιήσουν το συμπλήρωμα που θα παράγει στη συνέχεια μεσολαβητές της φλεγμονής. Έτσι ο ιστός στον οποίο κατακάθισαν τα ανοσοσυμπλέγματα θα παρουσιάσει φλεγμονή. Χαρακτηριστική περίπτωση τύπου III υπερευαισθησίας είναι η σπειραματονεφρίτιδα (μετά από λοίμωξη του οργανισμού από στρεπτόκοκκο). Τέλος ο τύπος IV υπερευαισθησίας (επιβραδυνόμενη ή κυτταρική υπερευαισθησία) δεν σχετίζεται με αντισώματα

(χυμική ανοσία) αλλά με τα Τ-λεμφοκύτταρα (κυτταρική ανοσία). Αποτέλεσμα της αντίδρασης αυτής είναι η προσέλκυση κυττάρων στο σημείο της αντίδρασης και η δημιουργία φλεγμονής. Τα φαινόμενα αυτά εμφανίζονται καθυστερημένα (24-48 ώρες μετά) σε σχέση με τη στιγμή εισόδου του αντιγόνου. Χαρακτηριστική περίπτωση τύπου IV υπερευαισθησίας είναι η δερματική αντίδραση στην φυματίνη, γνωστή σαν δερμοαντίδραση Mantoux. Να σημειωθεί ότι ο τύπος IV είναι ο τρόπος αντίδρασης της ειδικής ανοσίας σε ορισμένους μικροοργανισμούς.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

A) Απαντήστε με συντομία.

- 1) Τι είναι η αλλεργία και τι το αλλεργιογόνο;
- 2) Τι είναι η ατοπία και ποιες αλλεργικές παθήσεις είναι δυνατό να αποκτήσουν τα ατοπικά άτομα;
- 3) Τι διαφέρει η υπερευαισθησία από την αυτοανοσία;
- 4) Ποια είναι η σχέση αλλεργίας και υπερευαισθησίας;
- 5) Με ποιους τρόπους μπορεί να έρθει ο οργανισμός σε επαφή με ένα αλλεργιογόνο;
- 6) Αναφέρατε πέντε κοινά αλλεργιογόνα.
- 7) Ποιος είναι ο μηχανισμός πρόκλησης της αλλεργικής αντίδρασης (υπερευαισθησίας τύπου I) όταν άτομο με ειδική ευαισθησία έρθει σε επαφή με το αλλεργιογόνο;
- 8) Ποια είναι η βασική διαφορά στον ανοσολογικό μηχανισμό της αντίδρασης υπερευαισθησίας τύπου IV (επιβραδυνόμενης ή κυτταρικής υπερευαισθησίας) από τους υπόλοιπους τρεις τύπους;
- 9) Αναφέρατε μια χαρακτηριστική κατάσταση που αντιστοιχεί σε κάθε έναν από τους 4 τύπους υπερευαισθησίας.

B) Επιλέξατε τη σωστή απάντηση

Σ' ένα φύλακα δόθηκε αυστηρή διαταγή να μην αφήνει κανένα να πλησιάζει το κτίριο που φυλάει και σε αντίθετη περίπτωση να τον εξουδετερώνει αμέσως. Ενώ περιπολούσε στο προαύλιο βλέπει ξαφνικά ένα μικροσκοπικό μυρμήγκι να περιφέρεται πλησιάζοντας το κτίριο. Το περιλουζει λοιπόν αμέσως με βενζίνη και πετάει αναμμένο σπίρτο. Από την μεγάλη ανάφλεξη που έγινε, το κτίριο έπαθε σημαντικές ζημιές. Ποια κατάσταση σας θυμίζει η μικρή αυτή ιστορία;

- α) Την ενεργοποίηση του συμπληρώματος στην υπερευαισθησία τύπου II.
- β) Την αυτοανοσία.
- γ) Την αλλεργία (υπερευαισθησία τύπου I).
- δ) Την υπερευαισθησία τύπου III (από ανοσοσυμπλέγματα).
- ε) Όλα τα πιο πάνω.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6°

ΕΜΒΟΛΙΑ ΚΑΙ ΟΡΟΙ

6.1 Τρόποι ανοσοποίησης του οργανισμού

Γενικά

Ο οργανισμός μας βρίσκεται σε συνεχή επαφή με μικροοργανισμούς με αρκετούς από τους οποίους συμβιώνει χωρίς να βλάπτεται. Αυτοί οι μικροοργανισμοί που υπάρχουν σε διάφορα σημεία του σώματος χωρίς να είναι βλαπτικοί (μη παθογόνοι), αποτελούν την λεγόμενη *φυσιολογική χλωρίδα*. Μάλιστα η παρουσία τους είναι συχνά προστατευτική, γιατί οι φυσιολογικοί αυτοί ένοικοι του σώματος εμποδίζουν και ανταγωνίζονται την εγκατάσταση άλλων παθογόνων μικροοργανισμών που μπορούν να προκαλέσουν νόσο. Αν κάποιοι παθογόνοι μικροοργανισμοί (βακτήρια, ιοί, μύκητες κλπ), κατορθώσουν να εισχωρήσουν και να πολλαπλασιαστούν μέσα στον οργανισμό μας προκαλούν νόσο την οποία ονομάζουμε *λοίμωξη*.

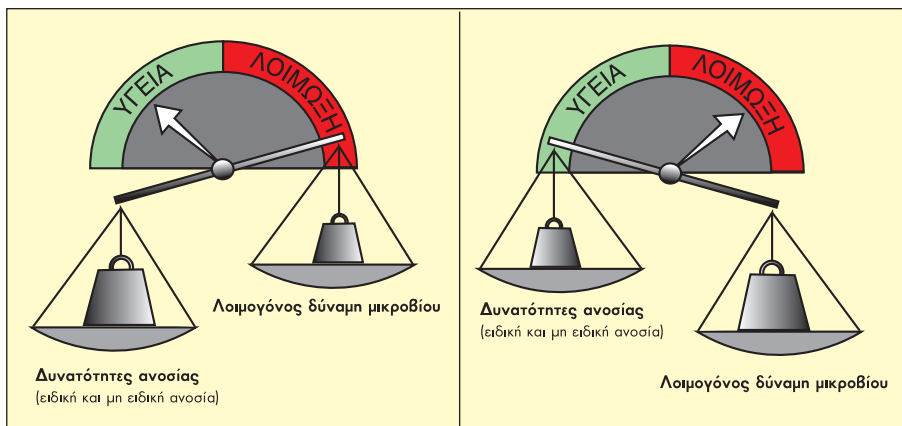
Η άμυνά μας εναντίον των λοιμώξεων εξαρτάται τόσο από την *εγγενή ή μη ειδική ανοσία* μας (δέρμα, βλεννογόνοι, εκκρίσεις, φαγοκύτταρα κλπ) όσο και από τη δυνατότητα που έχουν οι μηχανισμοί της *ειδικής ανοσίας* (αντισώματα και ευαισθητοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα – βλ. κεφ. 2°).

Το κατά πόσον ο οργανισμός μας θα πάθει μια λοίμωξη από κάποιον παθογόνο μικροοργανισμό με τον οποίο ήρθε σε επαφή, εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ των δυνατοτήτων του ανοσολογικού μας συστήματος και των «επιθετικών» μηχανισμών που διαθέτει ο μικροοργανισμός και τους οποίους συνολικά ονομάζουμε *λοιμογόνο δύναμη* του μικροοργανισμού. Αν η ανοσολογική δυνατότητα του οργανισμού μας είναι επαρκής και ξεπερνά τους μηχανισμούς της λοιμογόνου δράσης του μικροοργανισμού τότε δεν προκαλείται λοίμωξη. Αντίθετα αν η λοιμογόνος δύναμη του μικροοργανισμού υπερβαίνει τις ανοσολογικές μας δυνατότητες τότε εμφανίζεται η λοίμωξη (Βλ. Εικόνα 6.1 και 6.2).

Τρόποι ανοσοποίησης

Η ιδέα ότι η ενίσχυση του ανοσολογικού μας συστήματος θα μπορούσε να παίζει ρόλο στην προφύλαξη από τις λοιμώξεις, ξηπήδησε από την παρατήρηση ότι οι ασθενείς που είχαν αναρρώσει από κάποιες λοιμώδεις ασθένειες δεν προσβάλλονταν ξανά από αυτές, παρά την επανειλημμένη έκθεσή τους στον παθογόνο μικροοργανισμό. Αυτός ο τρόπος ανοσίας που είναι αποτέλεσμα μιας προηγηθείσας λοίμωξης, εξ αιτίας της οποίας το άτομο αποκτά με φυσικό τρόπο ειδική ανοσία απέναντι σε συγκεκριμένο μικροοργανισμό λέγεται *φυσική ανοσία* και η διαδικασία με την οποία την απόκτησε **φυσική ανοσοποίηση**.

Από τη διαπίστωση αυτής της μορφής ανοσοποίησης προέκυψε η υπόθεση, πως αν ερεθίσουμε το ανοσολογικό μας σύστημα με αντιγονικά συστατικά των μικροοργανισμών που δεν είναι σε θέση από μόνα τους να προκαλέσουν νόσο (λοίμωξη), θα μπορούσαμε να διεγείρουμε την ειδική ανοσολογική αντίδραση προς αυτά τα αντιγόνα, έτσι ώστε όταν ο οργανισμός έρθει σε επαφή με τον παθογόνο μικρο-



Εικ. 6.1: ΥΓΕΙΑ: Υπερισχύουν οι δυνάμεις του ανοσολογικού συστήματος.

Εικ. 6.2: ΛΟΙΜΩΞΗ: Υπερισχύει η λοιμογόνος δύναμη του μικροοργανισμού.

οργανισμό να διαθέτει ήδη εξειδικευμένα "όπλα" (αντισώματα ή ευαισθητοποιημένα Τ-κύτταρα) να τον αντιμετωπίσει. Η διαδικασία με την οποία εισάγοντας κάποιους παράγοντες στον οργανισμό δημιουργούμε συνθήκες ειδικής ανοσίας ώστε να τον προφυλάξουμε από το να νοσήσει αν προσβληθεί από κάποιο βλαπτικό αίτιο, ονομάζεται **τεχνητή ανοσοποίηση**. Αν αυτή γίνει με χορήγηση μη βλαπτικών ανοσογόνων στον οργανισμό για να διεγείρουμε το ανοσολογικό σύστημα ώστε να δημιουργήσει ειδική ανοσία στον βλαπτικό παράγοντα (μικροοργανισμό) την ονομάζουμε **ενεργητική ανοσοποίηση**. Η μορφή αυτή της ανοσοποίησης επιτυγχάνεται με τα διάφορα **εμβόλια**. Αν όμως η ανοσοποίηση γίνει με χορήγηση στον οργανισμό έτοιμων προϊόντων ειδικής ανοσολογικής αντίδρασης (π.χ. ειδικών αντισωμάτων που έχουν δημιουργηθεί σε άλλον οργανισμό) τότε μιλάμε για **παθητική ανοσοποίηση** (π.χ. αντιτετανικός ορός). Την παθητική ανοσοποίηση την χαρακτηρίζουμε έτσι, γιατί δεν διεγείρουμε το ανοσοποιητικό σύστημα αλλά παρέχουμε στον οργανισμό έτοιμα προϊόντα μιας τέτοιας διέγερσης (Βλ. Πίνακα 6.1).

Πίνακας 6.1

Τρόποι ανοσοποίησης του οργανισμού εναντίον κάποιου μικροοργανισμού

ΦΥΣΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ

Ανάπτυξη ειδικής ανοσίας μετά από προσβολή από κάποιο μικροοργανισμό (δηλ. μετά από ένα φυσικό γεγονός όπως είναι μια λοίμωξη, π.χ. ιλαρά).

ΤΕΧΝΗΤΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ

Ανάπτυξη ειδικής ανοσίας μετά από τεχνητή παρέμβαση στον οργανισμό μας ώστε να παράγει αντισώματα ή ευαισθητοποιημένα Τ-κύτταρα ή χορήγηση έτοιμων τέτοιων προϊόντων.

ΜΟΡΦΕΣ

- ΕΝΕΡΓΗΤΙΚΗ: Διέγερση με μη βλαπτικά αντιγόνα του μικροοργανισμού (εμβόλια)
- ΠΑΘΗΤΙΚΗ: Χορήγηση έτοιμων αντισωμάτων κατά του μικροοργανισμού (οροί)

6.2 Εμβόλια

Τα **εμβόλια** είναι ουσίες οι οποίες όταν χορηγούνται στον οργανισμό προκαλούν διέγερση του ανοσολογικού συστήματος ώστε να παράγει αντισώματα ή ευαισθητοποιημένα Τ- λεμφοκύτταρα που να μπορούν να καταπολεμούν τις ουσίες αυτές. Με τη χρήση του εμβολίου εκμεταλλευόμαστε την αντιγονική (ανοσογόνο) ιδιότητα κάποιων συστατικών ενός μικροοργανισμού εξαλείφοντας παράλληλα τα βλαπτικά του στοιχεία που μπορούν να προκαλέσουν νόσο (λοίμωξη).

Για την παρασκευή ενός εμβολίου γίνεται ειδική επεξεργασία του βλαπτικού παράγοντα για να μπορεί όταν χορηγηθεί, απλά και μόνο να προκαλεί την ειδική ανοσολογική αντίδραση χωρίς να κάνει τον οργανισμό να νοσήσει.

ΤΡΟΠΟΙ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΤΩΝ ΕΜΒΟΛΙΩΝ

Ανάλογα με τον τρόπο που χορηγούμε τα εμβόλια τα διακρίνουμε στα *παρεντερικά* (δηλαδή αυτά που δίνουμε με ένεση) και τα *στοματεμβόλια* (τα οποία δίνουμε από το στόμα). Τα περισσότερα είναι παρεντερικά εμβόλια (πχ το τριπλούν - DTP, το αντιγριπτικό κλπ) ενώ ελάχιστα είναι στοματεμβόλια (πχ το εμβόλιο Sabin κατά της πολιομυελίτιδας). Σήμερα δοκιμάζεται και η παρασκευή ενδορρινικών εμβολίων (εμβόλια που ψεκάζονται μέσα στη μύτη), αλλά η αποτελεσματικότητά τους δεν έχει επιβεβαιωθεί.

Τα παρεντερικά εμβόλια χορηγούνται *ενδομυϊκά* ή *υποδόρια* και κατά κανόνα στην περιοχή του δελτοειδούς μυός (το πάνω έξω μέρος του βραχίονα, λίγα εκατοστά κάτω από τον ώμο - Βλ. εικόνα 6.3 και 6.4).



Εικόνα 6.3: Υποδόρια χορήγηση εμβολίου.



Εικόνα 6.4: Ενδομυϊκή χορήγηση εμβολίου.

ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΕΜΒΟΛΙΩΝ

Όλα τα εμβόλια για να επιτύχουν το σκοπό τους, οφείλουν να έχουν ανοσογονικότητα χωρίς να είναι βλαπτικά. Έτσι ανάλογα με τον τρόπο που παρασκευάζονται διακρίνονται στις εξής κατηγορίες ως προς το περιεχόμενο:

❖ Τοξοειδή (αδρανοποιημένες τοξίνες) μικροοργανισμών.

Οι βλαπτικές επιδράσεις που προκαλούνται από κάποια βακτηρίδια στον οργανισμό οφείλονται στις λεγόμενες εξωτοξίνες τους (τοξίνες που απελευθερώνονται χωρίς να καταστραφεί το κύτταρο του βακτηριδίου). Η κατεργασία τέτοιων τοξινών με φορμόλη ή με θερμότητα μπορεί να εξαφανίσει τις βλαπτικές (τοξικές) τους ιδιότητες χωρίς να επηρεάσει την ικανότητά τους να διεγείρουν το ανοσολογικό σύστημα (αντιγονικότητα ή ανοσογονικότητα). Με τον τρόπο αυτό, η χορήγηση της αδρανοποιημένης τοξίνης (τοξοειδούς) θα προκαλέσει την παραγωγή αντισωμάτων (αντιτοξινών) και έτσι αν ο οργανισμός προσβληθεί από το βακτηρίδιο θα διαθέτει αντισώματα εναντίον της συγκεκριμένης τοξίνης του βακτηριδίου. Παραδείγματα τέτοιων εμβολίων είναι το εμβόλιο κατά του τετάνου και το εμβόλιο κατά της διφθερίτιδας (αντιτετανικό και αντιδιφθεριτικό εμβόλιο).

❖ Νεκροί μικροοργανισμοί.

Ορισμένα εμβόλια περιέχουν νεκρούς μικροοργανισμούς που μπορεί να είναι βακτήρια ή ιοί. Οι μικροοργανισμοί παραλαμβάνονται από καλλιέργειες και σκοτώνονται με τη θερμότητα ή με τη χρήση διαφόρων χημικών ουσιών (ακετόνη, φορμόλη, φαινόλη κ.α.) ή και φυσικών παραγόντων (υπεριώδης ακτινοβολία). Η επεξεργασία πρέπει να είναι τέτοια ώστε να σκοτώνει μεν τον μικροοργανισμό αλλά να μη καταστρέφει την ανοσογονικότητα των συστατικών του. Παράδειγμα τέτοιων εμβολίων είναι, για μεν τα βακτήρια το εμβόλιο κατά της χολέρας και του τύφου ενώ για τους ιούς το εμβόλιο κατά της λύσσας.

❖ Ζωντανοί εξασθενημένοι μικροοργανισμοί.

Τα εμβόλια που περιέχουν ζωντανούς μεν αλλά εξασθενημένους μικροοργανισμούς (βακτήρια ή ιούς) έχουν μεγαλύτερη δυναμικότητα γιατί δημιουργούν στον οργανισμό συνθήκες παρόμοιες με τη φυσική μόλυνση από το μικροοργανισμό και έτσι φτιάχνουν την καλύτερη και πλέον μακρόχρονη ανοσία. Η εξασθένιση των μικροοργανισμών προκειμένου να παραχθεί το εμβόλιο επιτυγχάνεται με διάφορους τρόπους όπως οι πολλαπλές ανακαλλιέργειες των μικροοργανισμών με αλλαγμένες συνθήκες σε τεχνητά θρεπτικά υλικά. Παραδείγματα τέτοιων εμβολίων για μεν τα βακτήρια είναι το αντιφυματικό εμβόλιο BCG, για δε τους ιούς είναι τα εμβόλια κατά της ιλαράς, της ερυθράς της παρωτίτιδας και της γρίπης.

Σε αυτή την κατηγορία των εμβολίων πρέπει να γνωρίζουμε και τα ενδεχόμενα μειονεκτήματα όπως την πιθανότητα να ξαναποκτήσει ο μικροοργανισμός του εμβολίου την λοιμογόνο δύναμή του στον οργανισμό και να προκαλέσει λοίμωξη. Η πιθανότητα μιας τέτοιας ανεπιθύμητης εξέλιξης γίνεται μεγαλύτερη αν εμβολιασθεί άτομο που πάσχει από κάποια διαταραχή του ανοσολογικού του συστήματος.

❖ Πολυσακχαρίτες μικροοργανισμών.

Στα εμβόλια αυτά χρησιμοποιούνται σαν ανοσογόνα κάποιοι πολυσακχαρίτες της κάψας ορισμένων βακτηρίων. Σε κάποια εμβόλια της κατηγορίας αυτής οι πολυσακχαρίτες βρίσκονται συνδεδεμένοι με πρωτεΐνες. Η σύνδεση του πολυσακχαρίτη με πρωτεΐνη αυξάνει την αντιγονικότητα (διότι ο πολυσακχαρίτης έχει μόνο τη δυνατότητα να δρα σαν απτίνη και όχι σαν πλήρες αντιγόνο - βλ. κεφ. 1°) και κατά συνέπεια την δυναμικότητα του εμβολίου. Παράδειγμα τέτοιου εμβολίου είναι το εμβόλιο κατά του Αιμόφιλου της Ινφλουέντζας τύπου b, που είναι και το πιο παθογόνο στέλεχος του βακτήριου αυτού για συστηματικές λοιμώξεις (π.χ μηνιγγίτιδα) στα βρέφη και παιδιά. Άλλα εμβόλια που περιέχουν πολυσακχαρίτες μικροοργανισμών είναι το πολυδύναμο εμβόλιο κατά του πνευμονιόκoccου (που προκαλεί πνευμονία αλλά και μηνιγγίτιδα στα παιδιά) καθώς και το εμβόλιο κατά του μηνιγγιτιδοκόccου (που προκαλεί την επιδημική μηνιγγίτιδα).

❖ Συνθετικά πεπτίδια με τη μέθοδο του ανασυνδυασμού του DNA.

Με τη μέθοδο αυτή παρασκευάζονται συνθετικά πεπτίδια που έχουν την ίδια σύσταση με καθοριστικές ομάδες (επιτόπους) των αντιγόνων ενός ιού. Για να γίνει αυτό, χρησιμοποιείται το κομμάτι του DNA που αντιστοιχεί στο συγκεκριμένο πεπτίδιο. Οι επίτοποι των αντιγόνων χωρίς οι ίδιοι να είναι βλαπτικοί για τον οργανισμό διεγείρουν το ανοσολογικό σύστημα και δημιουργούν επαρκή προφύλαξη από τη νόσο. Τέτοιου τύπου εμβόλιο σήμερα είναι το εμβόλιο κατά της ηπατίτιδας-B.

ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΤΩΝ ΕΜΒΟΛΙΩΝ.

Γενικά, τα εμβόλια είναι ασφαλή και οι παρενέργειές τους περιορισμένες και ήπιες. Μερικά εμβόλια μπορεί να προκαλέσουν αλλεργικές αντιδράσεις ιδίως σε άτομα που έχουν γνωστή αλλεργία σε πρωτεΐνες των αυγών (π.χ. εμβόλιο ιλαράς, παρωτίτιδας, γρίπης κ.ά.). Κάποτε μπορεί να παρουσιασθεί πυρετός ή δερματική αντίδραση στο σημείο της ένεσης. Εκείνο που έχει πολύ μεγάλη σημασία, για την αποφυγή των παρενεργειών από τα εμβόλια, είναι το ιατρικό ιστορικό και η εκτίμηση της κατάστασης της υγείας του ατόμου που πρόκειται να εμβολιασθεί.

Τα εμβόλια και ιδίως αυτά που περιέχουν ζωντανούς εξασθενημένους μικροοργανισμούς, δεν πρέπει να χορηγούνται:

- A) σε εγκύους γυναίκες
- B) κατά την περίοδο μιας εμπύρετης αρρώστιας
- Γ) σε άτομα που έχουν διαταραχή στο ανοσολογικό τους σύστημα
- Δ) σε άτομα που παίρνουν φάρμακα που καταστέλλουν το ανοσολογικό σύστημα

Τα κυριότερα εμβόλια που διατίθενται σήμερα είναι τα εξής:

Διφθερίτιδας	}	Τριπλούν (DTP)
Τετάνου		
Κοκκύτη		
Ιλαράς	}	MMR
Ερυθράς		
Παρωτίτιδας		
Πολιομυελίτιδας		OPV (Sabin)
Αιμοφίλου Ινφλουέντζας τύπου B		(Act-Hib)
Πολυδύναμο του πνευμονιοκόκκου		(Pneu-immune 23)
Ηπατίτιδας B		Gen-H-B vax ή Engerix-B
Γρίπης		(Διάφορα εμπορικά σκευάσματα)
Επιδημικής μηνιγγίτιδας (μηνιγγιτιδοκόκκου)		
Φυματίωσης		BCG
Διάφορα άλλα (Ευλογίας, Τύφου, Χολέρας, Λύσσας, Κίτρινου πυρετού, Άνθρακα κ.λπ.)		

Οι εμβολιασμοί των παιδιών αποτελούν ένα από τα πιο σημαντικά μέτρα πρόληψης σοβαρών λοιμωδών ασθενειών και πρέπει να εφαρμόζονται σύμφωνα με το σύγχρονο πρόγραμμα παιδικών εμβολιασμών. Ένα τέτοιο πρόγραμμα εμβολιασμών στη παιδική ηλικία όπου φαίνεται ο χρόνος πραγματοποίησης και επανάληψης των εμβολίων βλέπουμε στον πιο κάτω πίνακα.

ΣΥΓΧΡΟΝΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΠΑΙΔΙΚΩΝ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΩΝ								
ΕΙΔΟΣ ΕΜΒΟΛΙΟΥ	2 ΜΗΝΕΣ	4 ΜΗΝΕΣ	6 ΜΗΝΕΣ	15 ΜΗΝΕΣ	18 ΜΗΝΕΣ	24 ΜΗΝΕΣ	4-6 ΧΡΟΝΙΑ	14-15 ΧΡΟΝΙΑ
Τριπλούν (Διφθερίτιδας, Τετάνου, Κοκκύτη) DTP								
Πολιομυελίτιδας OPV								
Ιλαράς								
Ερυθράς								
Παρωτίτιδας								
Αιμοφίλου Ινφλουέντζας -B								
Διπλούν (Διφθερίτιδας, Τετάνου)								

6.3 Οροί

Οι **οροί** ή καλύτερα οι άνοσοι οροί χρησιμεύουν για την πρόκληση παθητικής ανοσίας σε κάποιο μικροοργανισμό ή τις τοξίνες του. Όπως είδαμε προηγούμενα, η παθητική ανοσοποίηση συνίσταται στη χορήγηση έτοιμων αντισωμάτων σε μη άνοσο οργανισμό που λαμβάνονται από άλλον οργανισμό που έχει ανοσοποιηθεί.

Παλαιότερα γινόταν χρήση του ορού ανοσοποιημένων ζώων και κυρίως των αλόγων. Η επιλογή του αλόγου για τη δημιουργία των άνοσων ορών είχε να κάνει με το μεγάλο μέγεθος του ζώου και επομένως την μεγάλη ποσότητα αντισωμάτων που περιέχονται στον ορό του αίματός του όταν ανοσοποιηθεί. Παράλληλα το άλογο έχει την ιδιαιτερότητα να μην προσβάλλεται από ορισμένα λοιμώδη νοσήματα που θα μπορούσαν μέσω της χορήγησης του ορού του να μεταδοθούν στον άνθρωπο.

Σήμερα προτιμώνται και βρίσκονται σε χρήση τα αντισώματα ανθρώπινης προέλευσης υπό μορφή **γ-σφαιρίνης** με την οποία αποφεύγονται οι παρενέργειες των ορών από ζώα όπως είναι οι αλλεργικές αντιδράσεις και κυρίως η ορονοσία (βλ. κεφ. 5°). Η προτίμηση της ανθρώπινης γ-σφαιρίνης σε σχέση με τον ανθρώπινο άνοσο ορό είναι για τη μεγάλη ποσότητα αντισωμάτων που περιέχει ανά μονάδα όγκου και βέβαια η αποφυγή του κινδύνου μετάδοσης νόσων μέσω του ορού όπως είναι η ηπατίτιδα-B και το AIDS.

Εκτός από την πολυδύναμη ανθρώπινη γ-σφαιρίνη που περιέχει ποικιλία αντισωμάτων και χορηγείται για προφύλαξη από διάφορες λοιμώξεις ή σε άτομα που παρουσιάζουν διαταραχές της χυμικής ανοσίας (υπογαμμασφαιριναιμία), υπάρχει και η **ειδική υπεράνοσος γ-σφαιρίνη**. Η ειδική γ-σφαιρίνη λαμβάνεται από άτομα που πρόσφατα έχουν αναρρώσει από συγκεκριμένο λοιμώδες νόσημα ή που έχουν εμβολιασθεί για το συγκεκριμένο λοιμώδες νόσημα.

Η παθητική ανοσοποίηση πρέπει να γίνεται σε άτομα που έχουν ενδεχόμενα μολυνθεί από κάποιο επικίνδυνο μικροοργανισμό προκειμένου να αποκτήσουν ταχύτατα έτοιμα αντισώματα για να τον αντιμετωπίσουν (τον ίδιο τον μικροοργανισμό ή τις τοξίνες του).

Οι κυριότερες μορφές παθητικής ανοσοποίησης που χρησιμοποιούνται σήμερα φαίνονται στον ακόλουθο πίνακα:

Τρόποι και είδη παθητικής ανοσοποίησης στις μέρες μας

A) ΑΝΤΙΤΟΞΙΝΕΣ (ΑΝΤΙΤΟΞΙΚΟΙ ΟΡΟΙ)

Αντιτοξίνη αλλαντίασης

Αντιτοξίνη τετάνου (ανθρώπινη)

Αντιτοξίνη διφθερίτιδας

Αντιτοξίνη για δήγματα φιδιών

B) ΠΟΛΥΔΥΝΑΜΗ Γ-ΣΦΑΙΡΙΝΗ

Χρήση για προφύλαξη σε διάφορα νοσήματα

Χρήση για άτομα με έλλειψη γ-σφαιρίνης (υπογαμμασφαιριναιμία)

Γ) ΕΙΔΙΚΗ (ΥΠΕΡΑΝΟΣΟΣ) Γ-ΣΦΑΙΡΙΝΗ

Ειδική ανοσοσφαιρίνη ηπατίτιδας-B (HBIG)

Ειδική ανοσοσφαιρίνη λύσσας (HRIG)

Ειδική ανοσοσφαιρίνη τετάνου (HTIG)

Ειδική ανοσοσφαιρίνη ανεμευλογιάς-ζωστήρος (HVIG)

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Η άμυνά μας προς τους παθογόνους μικροοργανισμούς εξαρτάται τόσο από την *εγγενή ή μη ειδική ανοσία* μας που προβάλλει εμπόδια στην είσοδο και πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών, όσο και από τους μηχανισμούς της *ειδικής ανοσίας*. Η *ειδική ανοσία* που αποκτούμε μετά τη λοίμωξη από ένα μικροοργανισμό ονομάζεται φυσική ανοσία ενώ αν προκληθεί με τεχνητά μέσα που θα μας χορηγηθούν λέγεται *τεχνητή ανοσία*. Η τεχνητή ανοσία γίνεται με διέγερση του ανοσολογικού συστήματος χρησιμοποιώντας ανοσογόνα αλλά μη βλαπτικά συστατικά των μικροβίων, με σκοπό τη δημιουργία αντισωμάτων και ευαισθητοποιημένων Τ-λεμφοκυττάρων για να τα εξουδετερώνουν. Αυτός ο τρόπος ανοσοποίησης λέγεται *ενεργητική ανοσοποίηση* και γίνεται με τα *εμβόλια*. Ένας άλλος τρόπος τεχνητής ανοσοποίησης είναι η χορήγηση στον οργανισμό έτοιμων αντισωμάτων κατά του μικροβίου, τα οποία όμως λαμβάνονται από άλλο οργανισμό που είτε έχει νοσήσει φυσικά είτε έχει υποστεί εμβολιασμό. Αυτός ο τρόπος ανοσοποίησης λέγεται *παθητική ανοσοποίηση* και γίνεται με τους *άνοσους ορούς ή τη γ-σφαιρίνη*. Ανάλογα με τον τρόπο χορήγησης τα εμβόλια διακρίνονται σε *παρεντερικά* (που δίνονται με υποδόρια ή ενδομυϊκή ένεση) και σε *στοματεμβόλια* (που δίνονται από το στόμα). Ανάλογα με το είδος των ανοσογόνων που περιέχουν τα εμβόλια τα διακρίνουμε σε εκείνα που περιέχουν α) τοξοειδή (αδρανικοποιημένες τοξίνες) μικροβίων (πχ αντιτετανικό εμβόλιο), β) νεκρούς μικροοργανισμούς (εμβόλιο κατά της λύσσας) γ) ζωντανούς εξασθενημένους μικροοργανισμούς (BCG, MMR), δ) πολυσακχαρίτες μικροοργανισμών (εμβόλιο κατά του αιμοφίλου της ινφλουέντζας) ε) συνθετικά πεπτίδια με τη μέθοδο του ανασυνδυασμού του DNA (εμβόλιο κατά της ηπατίτιδας- Β). Τα εμβόλια είναι ασφαλή με *σπάνιες παρενέργειες*. Τα εμβόλια (ιδίως αυτά που περιέχουν ζωντανούς εξασθενημένους μικροοργανισμούς) *δεν πρέπει να δίνονται στις εγκύους, σε άτομα με διαταραχή του ανοσολογικού συστήματος ή άτομα που παίρνουν ανοσοκατασταλτικά φάρμακα καθώς και κατά τη διάρκεια μιας εμπύρετης λοίμωξης*. Οι *άνοσοι οροί* χρησιμοποιούνται για την παθητική ανοσοποίηση (χορήγηση έτοιμων αντισωμάτων) ατόμων που μολύνθηκαν από κάποιο μικροοργανισμό και πιθανώς να νοσήσουν από κάποια σοβαρή λοίμωξη (τέτανος, αλλαντίαση, λύσσα, ηπατίτιδα-Β). Οι *άνοσοι οροί* λαμβάνονται σήμερα πια από ανοσοποιημένους ανθρώπους. Αντί των ορών προτιμάται η *γ-σφαιρίνη*, της οποίας η χορήγηση παρακάμπτει τον κίνδυνο μετάδοσης ασθενειών (ηπατίτιδα-Β, AIDS). Η ύπαρξη σήμερα της *ειδικής υπεράνοσης γ-σφαιρίνης* επιτρέπει την αποτελεσματική παθητική ανοσοποίηση σε συγκεκριμένους μικροοργανισμούς όπως της ηπατίτιδας, του τετάνου, της λύσσας κ.λπ.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

A) Απαντήστε με συντομία.

- 1) Από ποιους παράγοντες εξαρτάται το αν θα πάθουμε λοίμωξη από κάποιον μικροοργανισμό με τον οποίο ήρθαμε σε επαφή;
- 2) Σε τι διαφέρει η ενεργητική ανοσοποίηση από την παθητική ανοσοποίηση και με ποια μέσα επιτυγχάνεται η κάθε μια;
- 3) Τι είναι ένα εμβόλιο και σε τι διακρίνονται τα εμβόλια ως προς τον τρόπο χορήγησής τους;
- 4) Ποιες ομάδες εμβολίων έχουμε σε σχέση με το περιεχόμενό τους;
- 5) Ποιες είναι οι πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες (παρενέργειες) από τα εμβόλια;
- 6) Σε ποιες καταστάσεις ή άτομα θα πρέπει να αποφεύγεται ο εμβολιασμός;
- 7) Αναφέρατε 6 από τα πλέον χρησιμοποιούμενα εμβόλια στις μέρες μας.
- 8) Τι είναι οι άνοσοι οροί και πώς λέγεται το είδος της ανοσοποίησης που επιτυγχάνουν;
- 9) Πότε πρέπει να χορηγείται ο άνοσος ορός;

B) Συμπληρώστε τις λέξεις ή φράσεις που λείπουν.

- 1) Η ανοσία που αποκτά κανείς μετά από μία λοίμωξη από κάποιο μικρόβιο λέγεται
..... ανοσία σε αντίθεση με αυτήν που αποκτά μετά από κάποιο εμβολιασμό, η οποία λέγεται ανοσία.
- 2) Τα εμβόλια που περιέχουν ζωντανούς εξασθενημένους μικροοργανισμούς δεν πρέπει να δίνονται σε άτομα που πάσχουν από διαταραχή του
- 3) Η παθητική ανοσοποίηση με άνοσους ορούς από ζώα έχει σήμερα παραχωρήσει τη θέση της στους άνοσους ορούς από και τη χρήση της

Γ) Επιλέξατε τη σωστή απάντηση.

Ένα άτομο αποκτά ενεργητική τεχνητή ανοσία:

- α) Με χορήγηση πολυδύναμης γ-σφαιρίνης.
- β) Με χορήγηση άνοσου ορού.
- γ) Μετά από λοίμωξη από το συγκεκριμένο μικρόβιο.
- δ) Με εμβολιασμό.
- ε) Με κανένα από τα πιο πάνω.

ΜΕΙΖΟΝ ΣΥΣΤΗΜΑ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ

7.1 Τι είναι ιστοσυμβατότητα

Γνωρίζουμε ότι το ανοσολογικό μας σύστημα έχει την *ικανότητα αναγνώρισης* των ξένων μεγαλομοριακών παραγόντων με τους οποίους μπορεί να έρθουμε σε επαφή ή και να εισχωρήσουν στον οργανισμό μας. Η ικανότητα αυτή, βασίζεται όπως είδαμε (κεφ. 1°), στην *αντιγονικότητα* των ξένων μεγαλομοριακών ουσιών τις οποίες αναγνωρίζει σαν διαφορετικές από τις ουσίες του ίδιου του οργανισμού μας. Το αποτέλεσμα της αναγνώρισης των αντιγονικών ουσιών είναι η *ειδική ανοσολογική αντίδραση (ή απάντηση)*, που οδηγεί στην παραγωγή *αντισωμάτων* (χυμική ανοσία) ή *ευαισθητοποιημένων Τ-λεμφοκυττάρων* (κυτταρική ανοσία), για να εξουδετερώσει τις ξένες ουσίες (βλ. κεφ. 2°).

Εκτός λοιπόν από την αντιγονικότητα που έχουν για τον οργανισμό τα βακτήρια, οι τοξίνες, οι ιοί, οι ξένες πρωτεΐνες κ.λ.π., αντιγονικότητα παρουσιάζουν και τα κύτταρα ή οι ιστοί που προέρχονται από άλλο άτομο. Κλασικό παράδειγμα αντιγονικότητας κυττάρων άλλου ατόμου, είναι τα ερυθροκύτταρα με διαφορετικά αντιγόνα Α και Β της μεμβράνης ή αντιγόνο Rhesus, που ξέρουμε ότι ευθύνονται για τις περιπτώσεις ασυμβατότητας στις μεταγγίσεις αίματος.

Κατά ανάλογο τρόπο, αν ένα άτομο δεχθεί στον οργανισμό του κύτταρα, ιστό ή και όργανο (δηλαδή ένα μόσχευμα) που προέρχεται από άλλο άτομο, η "αποδοχή" τους από τον οργανισμό, εξαρτάται από το πόσο διαφορετικά είναι τα αντιγόνα των κυττάρων του μοσχεύματος από εκείνα των κυττάρων του οργανισμού-δέκτη. Αν, υποθετικά, όλα τα κύτταρα του μοσχεύματος είχαν τα ίδια αντιγόνα με αυτά των κυττάρων του δέκτη, τότε ο οργανισμός θα τα θεωρούσε οικεία και δεν θα τα εκλάμβανε ως ξένα για να θέλει να τα καταπολεμά. Σαν αποτέλεσμα αυτού θα είχαμε απουσία οποιασδήποτε κινητοποίησης των μηχανισμών της ειδικής ανοσίας και θα υπήρχε ανοχή προς τον "επισκέπτη διαρκείας" που, στη προκειμένη περίπτωση, είναι το μόσχευμα. Αυτό συμβαίνει διότι ο οργανισμός παρουσιάζει (υπό φυσιολογικές συνθήκες) το λεγόμενο φαινόμενο της **ανοσολογικής ανοχής**. Δηλαδή δεν κινητοποιείται εναντίον των αντιγόνων που υπάρχουν στα ίδια τα δικά του συστατικά. Η ανοσολογική ανοχή αποκτάται στη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής, όταν αναπτύσσεται το ανοσολογικό σύστημα. Κατά τη διάρκεια της περιόδου αυτής, τα αναπτυσσόμενα κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος που ευαισθητοποιούνται, μέσω των υποδοχέων της μεμβράνης τους, με τα αντιγόνα του ίδιου του οργανισμού μας, παροπλίζονται και εξαλείφονται. Βέβαια, παρατηρούνται περιπτώσεις, όπου η ανοσολογική ανοχή διαταράσσεται. Τότε παρατηρείται το φαινόμενο κατά το οποίο το ανοσολογικό σύστημα αναγνωρίζει την αντιγονικότητα δικών του συστατικών (σαν να ήταν ξένα) και στρέφεται εναντίον τους με αποτέλεσμα την εμφάνιση των λεγόμενων *αυτοάνοσων νοσημάτων* (βλ. κεφ. 9°).

Όσο πιο όμοιοι είναι δυο οργανισμοί ως προς το γενετικό τους υλικό, τόσο πιο όμοια θα είναι και τα

αντιγόνα που έχουν στα κύτταρα και τους ιστούς τους. Αυτό συμβαίνει διότι η σύσταση κάθε πρωτεϊνικού μορίου στον οργανισμό μας βρίσκεται κωδικοποιημένη στα γονίδια μας. Έτσι, και τα κάθε λογής αντιγόνα (που είναι πρωτεΐνες), καθορίζονται, ως προς τη σύστασή τους, από τα γονίδια μας.

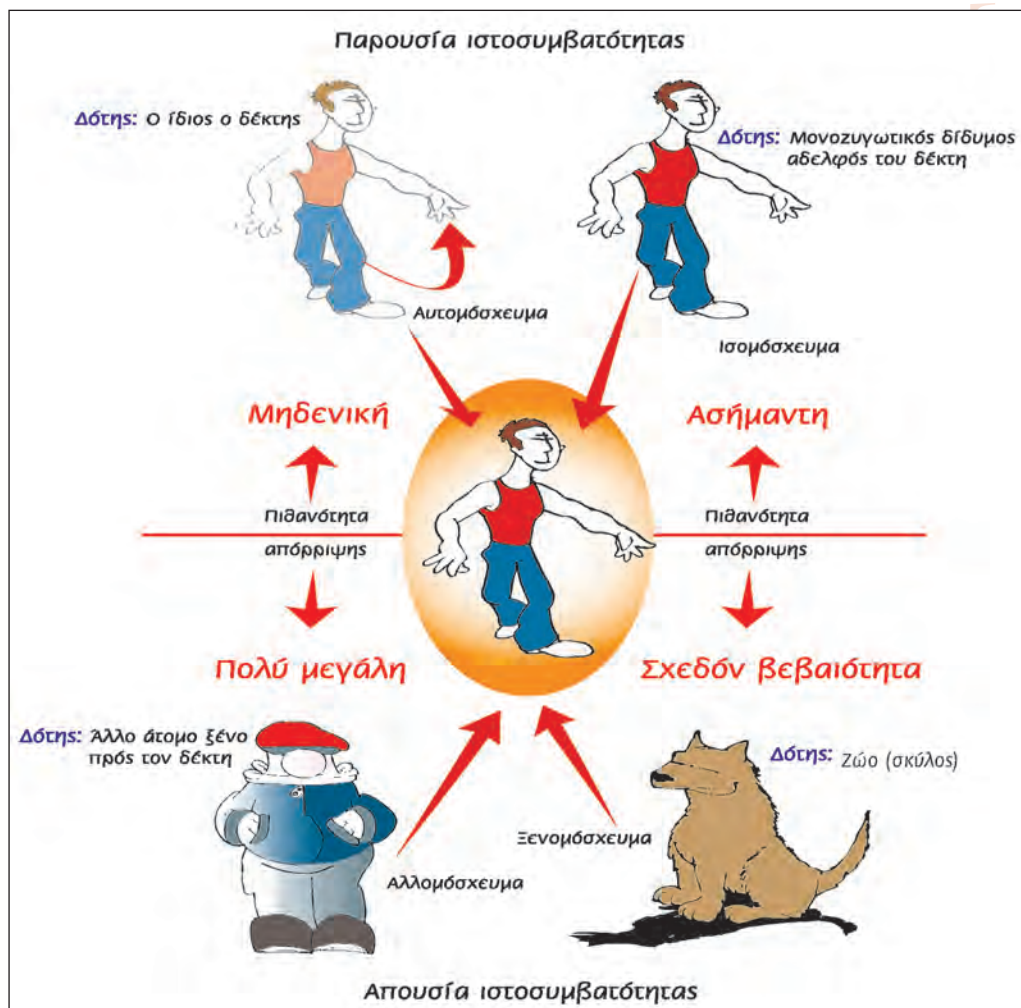
Ας δούμε λοιπόν αρχικά, πώς πιθανολογούμε ότι θα αντιδράσει το ανοσολογικό μας σύστημα σε διάφορες περιπτώσεις όπου ένα μόσχευμα κάποιου ιστού τοποθετείται στο σώμα μας:

- Αν πάρουμε ένα κομμάτι ιστού από ένα μέρος του σώματός μας (π.χ. δέρμα) και το τοποθετήσουμε (μεταμοσχεύσουμε) σε άλλο μέρος του σώματος (*αυτομόσχευμα*), το ανοσολογικό μας σύστημα δεν θα "επιτεθεί" στο μόσχευμα γιατί δεν θα το θεωρήσει ξένο (αφού διαθέτει τα ίδια αντιγόνα με τους υπόλοιπους ιστούς του σώματός μας).
- Παρόμοια αποδοχή θα έχει ως επί το πλείστον, και ένα μόσχευμα που θα δεχθούμε από τον μονοζυγωτικό δίδυμο αδελφό μας (ισομόσχευμα), διότι, σαν πανομοιότυποι δίδυμοι, έχουμε το ίδιο γενετικό υλικό πάνω στο οποίο υπάρχει η κωδικοποίηση για τη δομή των αντιγόνων μας.
- Αν όμως δεχθούμε μόσχευμα που προέρχεται από ένα άλλο άτομο με το οποίο κατά τεκμήριο δεν έχουμε κάποια σαφή γενετική ομοιότητα (δεν είναι εξ αίματος συγγενής), υπάρχει μεγάλη πιθανότητα το ανοσολογικό σύστημα να εξαπολύσει επίθεση στο μόσχευμα αφού θα αναγνωρίσει τα αντιγόνα των ιστών που είναι διαφορετικά από τα δικά μας. Το αποτέλεσμα αυτού, είναι να συμβεί αυτό που ονομάζουμε απόρριψη του μοσχεύματος, θέμα στο οποίο θα επανέλθουμε πιο κάτω, στο κεφάλαιο αυτό.
- Αν τέλος το μόσχευμα που θα δεχθούμε δεν προέρχεται από συνάνθρωπό μας αλλά από ένα άλλο θηλαστικό ζώο (π.χ. σκύλο), είναι βέβαιο ότι το ανοσολογικό μας σύστημα, αναγνωρίζοντας "το ξένο" στον ιστό του σκύλου (ξеноμόσχευμα), θα επιτεθεί με όλη τη σφοδρότητα και θα προκαλέσει την καταστροφή του (απόρριψη)- (βλ. εικ.7.1).

Θα μπορούσαμε λοιπόν, με απλά λόγια να πούμε ότι, η ιστοσυμβατότητα είναι ο βαθμός στον οποίο συνταυτίζονται τα αντιγόνα των ιστών ενός ατόμου με τα αντιγόνα των ιστών ενός άλλου ατόμου. Διατυπώνοντάς το διαφορετικά και έχοντας υπ' όψιν τη λογική της μεταμόσχευσης, θα λέγαμε ότι ιστοσυμβατότητα είναι ο βαθμός αντιγονικής ομοιότητας μεταξύ των ιστών ενός ατόμου-δέκτη και των ιστών ενός ατόμου-δότη, έτσι ώστε να έχουμε τη μικρότερη δυνατή αντίδραση του ανοσολογικού συστήματος του δέκτη εναντίον των ιστών του δότη. Αυτά λοιπόν τα αντιγόνα που σχετίζονται με το "ταίριασμα" των ιστών ενός ατόμου, με εκείνους ενός άλλου ατόμου, (όσον αφορά τον βαθμό αποδοχής τους από το ανοσολογικό σύστημα) τα ονομάζουμε αντιγόνα ιστοσυμβατότητας.

Πού βρίσκονται τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας

Από όσα αναφέραμε μέχρι τώρα, καταλαβαίνουμε ότι αυτά τα αντιγόνα της ιστοσυμβατότητας δεν είναι απλά οποιεσδήποτε πρωτεΐνες που αποτελούν τα διάφορα συστατικά των κυττάρων (μια και υπάρχουν πολυάριθμα τέτοια μόρια), αλλά κάποια πολύ συγκεκριμένα μόρια που βρίσκονται σε τέτοια θέση ώστε να τα "βλέπει" το ανοσολογικό σύστημα και να τα αναγνωρίζει. Αν τα μόρια αυτά ήταν μέσα στο κυτταρόπλασμα δεν θα έδιναν αντιγονικό στόχο παρά μόνο αν το κύτταρο πάθαινε λύση και απελευθερώνονταν.



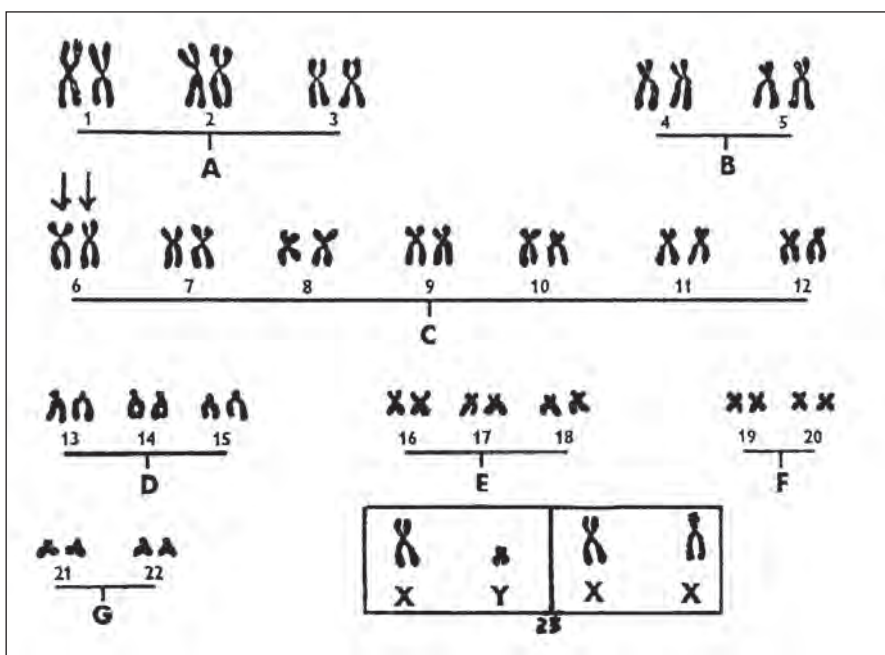
Εικόνα 7.1: Οι διαφορές στη γενετική δομή μεταξύ δότη και δέκτη ενός μοσχεύματος καθορίζουν το βαθμό της ανοσολογικής αντίδρασης του δέκτη προς το μόσχευμα και κατά συνέπεια την πιθανότητα καταστροφής (απόρριψης) του μοσχεύματος.

Έτσι, λογικά -και αυτό είναι που συμβαίνει και στην πραγματικότητα- τα αντιγόνα ισοσυμβατότητας βρίσκονται στην επιφάνεια των κυττάρων, πάνω στην κυτταρική μεμβράνη.

Όταν λοιπόν, (όπως στο παράδειγμα της εικόνας 7.1), μεταμοσχεύσουμε σε ένα άτομο ένα όργανο ή ιστό που προέρχεται από τυχαίο δότη (και όχι το δίδυμο αδελφό του), τότε το ανοσολογικό σύστημα θα "βλέπει" τα κύτταρα του μοσχεύματος και μάλιστα τις πρωτεϊνικές ουσίες της μεμβράνης. Τις πιο πολλές από αυτές τις γνωρίζει, διότι και οι μεμβράνες των κυττάρων του δέκτη αποτελούνται από τα ίδια συστατικά και επομένως του είναι οικείες (όχι ξένες). Άρα, δεν πρόκειται να υπάρξει ειδική ανοσολογική αντίδραση εναντίον τους. Εκείνο όμως που θα αναγνωρίσει σαν "ξένο" είναι τα πρωτεϊνικά μόρια της μεμβράνης που συνιστούν τα αντιγόνα ισοσυμβατότητας, μια και τα δικά του κύτταρα δεν έχουν τα ίδια αντίστοιχα αντιγόνα. Έτσι, θα κινητοποιηθούν οι ειδικοί μηχανισμοί ανοσολογικής αντίδρασης, μόνο και

μόνο για αυτά τα συγκεκριμένα αντιγόνα. Το συμπέρασμα από τα προηγούμενα, είναι ότι τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας, αφού διαφέρουν από το ένα άτομο στο άλλο (εκτός αν τα άτομα είναι γενετικά ταυτόσημα), αποτελούν στοιχεία της ταυτότητας του ατόμου, κάτι δηλαδή ανάλογο με τα δακτυλικά αποτυπώματα.

Τα γονίδια στα οποία υπάρχει κωδικοποιημένη η πληροφορία για το είδος των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας βρίσκονται σε ορισμένη περιοχή πάνω στα χρωματοσώματά μας και συγκεκριμένα στο βραχύ σκέλος του χρωματοσώματος 6 – βλ. εικόνα 7.2). Αυτή η περιοχή ονομάστηκε αρχικά **HLA περιοχή**, από τα αρχικά του όρου Human Leucocyte Antigens = Αντιγόνα Λευκοκυττάρων του Ανθρώπου) και ο λόγος ήταν ότι, η πρώτη περιγραφή τέτοιου είδους αντιγόνου αφορούσε το λευκοκύτταρο. Η περιοχή αυτή ονομάζεται σήμερα **Μείζον Σύστημα Ιστοσυμβατότητας ή Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας** και συμβολίζεται με τα γράμματα **MHC** (=Major Histocompatibility Complex). Ο όρος **HLA** εξακολουθεί να χρησιμοποιείται για να περιγράψουμε τα διάφορα είδη αντιγόνων ιστοσυμβατότητας αλλά και εναλλακτικά ο όρος MHC που κυρίως δηλώνει την γονιδιακή αντιπροσώπευση των αντιγόνων αυτών.



Εικόνα 7.2: Ο χάρτης των χρωματοσωμάτων του ανθρώπου. Τα γονίδια του MHC βρίσκονται στο βραχύ σκέλος του χρωματοσώματος 6 (βέλος).

Πάνω στην γονιδιακή περιοχή που κωδικοποιεί τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας (περιοχή MHC) του χρωματοσώματος 6 υπάρχουν τρεις τάξεις γονιδίων στην σειρά (βλ. εικόνα 7.3):

- ◆ Η τάξη I των γονιδίων κωδικοποιεί τις πρωτεΐνες που αποτελούν τα αντιγόνα HLA-A, HLA-B και HLA-C.
- ◆ Η τάξη II των γονιδίων κωδικοποιεί τις πρωτεΐνες που αποτελούν τα αντιγόνα HLA-DR, HLA-DP και HLA-DQ, και λέγεται περιοχή D.
- ◆ Η τάξη III των γονιδίων, που βρίσκεται ανάμεσα στις δύο περιοχές των τάξεων I και II, δεν κωδικοποιεί αντιγόνα ιστοσυμβατότητας αλλά διάφορες άλλες πρωτεΐνες, όπως κάποια συστατικά του συμπληρώματος (C2, C4, παράγοντας B κ.λπ.).



Εικόνα 7.3: Απλουστευμένο διάγραμμα της γονιδιακής περιοχής του χρωματώματος 6 όπου βρίσκεται το Μείζον Σύστημα Ιστοσυμβατότητας (MHC). Τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας κωδικοποιούνται στις γονιδιακές τάξεις I και II. Η τάξη III κωδικοποιεί άλλες πρωτεΐνες άσχετες με την ιστοσυμβατότητα αλλά σχετικές με τη λειτουργία του ανοσολογικού μας συστήματος.

7.2 HLA αντιγόνα

Πού βρίσκονται τα HLA αντιγόνα

Τα HLA αντιγόνα τάξης I βρίσκονται σε όλα τα εμπύρνηνα κύτταρα του σώματος αλλά και στα αιμοπετάλια. Τα ώριμα ερυθροκύτταρα δεν διαθέτουν αντιγόνα HLA. Η αναλογία των αντιγόνων αυτών στα διάφορα κύτταρα και ιστούς δεν είναι ομοιόμορφη. Τα κύτταρα του Ανοσολογικού μας Συστήματος είναι πλούσια σε HLA αντιγόνα τάξης I, καθώς και τα αιμοπετάλια. Από τα όργανά μας, πλούσια σε αντιγόνα τάξης I είναι κατά κύριο λόγο ο σπλήνας και επίσης οι πνεύμονες, το ήπαρ, το έντερο, η καρδιά και οι νεφροί. Ελάχιστα τέτοια αντιγόνα έχουν ο κερατοειδής χιτώνας του ματιού, ο εγκέφαλος και το πάγκρεας (εξωκρινής μοίρα).

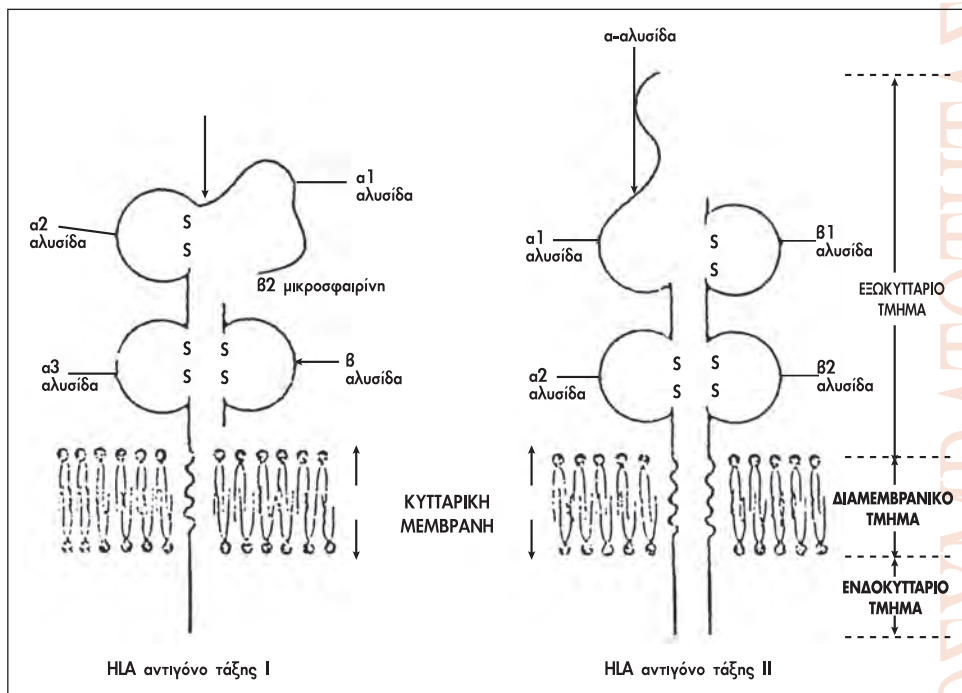
Τα HLA αντιγόνα τάξης II βρίσκονται κυρίως σε όλα τα ανοσοδραστικά κύτταρα όπως τα μακροφάγα, ενεργοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα αλλά κυρίως στα Β-λεμφοκύτταρα.

Δομή των HLA αντιγόνων

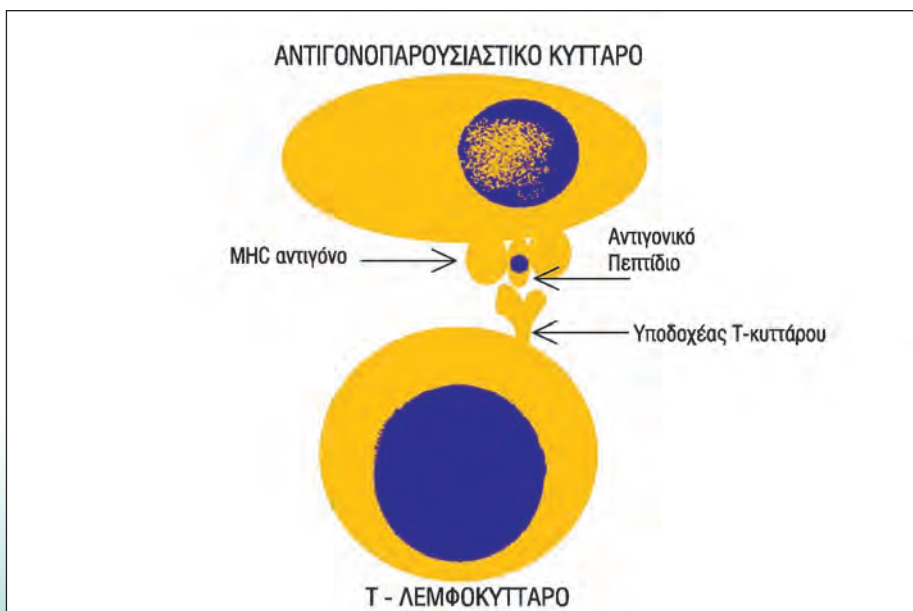
Τόσο τα τάξης I όσο και τα τάξης II HLA αντιγόνα είναι πρωτεϊνικά μόρια που αποτελούνται από δυο πολυπεπτιδικές αλυσίδες, την α και την β οι οποίες συγκρατούνται μεταξύ τους με μη ομοιοπολικούς δεσμούς. Όπως αναφέραμε προηγούμενα, αυτά τα μόρια είναι επιφανειακά και μοιάζουν σαν φουρκέτες που το μεγαλύτερο μήκος τους εξέχει από τη μεμβράνη του κυττάρου, ενώ εισχωρούν σε μικρό βάθος μέσα στο κυτταρόπλασμα. Έτσι έχουν ένα μεγάλο εξωκυττάριο τμήμα, ένα μικρότερο διαμεμβρανικό (που διαπερνά τη μεμβράνη) και ένα πολύ μικρό κυτταροπλασματικό τμήμα (βλ. εικόνα 7.4). Οι αλυσίδες α και β των αντιγόνων τάξης I και II σχηματίζουν αγκύλες, κατά ανάλογο τρόπο που γνωρίσαμε και στα μόρια των ανοσοσφαιρινών (βλ. κεφ. 1ο). Η σχηματική δομή των HLA αντιγόνων, τάξης I και II φαίνεται στην εικόνα 7.4.

Ο ρόλος των HLA αντιγόνων

Α) Τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ανοσολογικής αντίδρασης (απόκρισης) του οργανισμού όταν αυτός εκτεθεί σε κάποιο αντιγόνο, μέσω ενός φαινομένου που ονομάζεται **MHC περιορισμός**. Αυτό σημαίνει ότι για να διεγερθεί ένα Τ-λεμφοκύτταρο από μια αντιγονική ουσία που μπήκε στον οργανισμό δεν αρκεί απλά η παρουσίασή της από το αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο. Η αναγνώριση της αντιγονικής ουσίας πρέπει να γίνει πάντα σε συνδυασμό με κάποιο αντιγόνο του Μείζονος Συστήματος Ιστοσυμβατότητας (MHC). Αυτό συμβαίνει γιατί το Τ-λεμφοκύτταρο δεν αναγνωρίζει ένα ελεύθερο πρωτεϊνικό μόριο αντιγόνου αλλά πάντα σε συνδυασμό με κάποιο από τα μόρια του HLA. Μάλιστα το σημείο του μορίου HLA που αναγνωρίζεται μαζί με το αντιγόνο ονομάζεται **περιοριστικό στοιχείο του HLA μορίου ή ιστότοπος**. Βλέπουμε λοιπόν ότι τα HLA αντιγόνα αποτελούν ένα σύστημα που απαιτείται για να εκθέσει τα αντιγονικά μόρια στα Τ-λεμφοκύτταρα, διότι κάθε τέτοιο μόριο αναγνωρίζεται από το Τ-λεμφοκύτταρο πάντα σε συνδυασμό με HLA μόρια τάξης I ή II (βλ. εικόνα 7.5). Συγκεκριμένα, τα βοηθητικά Τ-λεμφοκύτταρα (CD4), αναγνωρίζουν τα αντιγόνα μέσω των HLA μορίων τάξης II, ενώ τα κατασταλτικά Τ-λεμφοκύτταρα (CD8) μέσω των HLA μορίων τάξης I.



Εικόνα 7.4: Σχηματική δομή του μορίου των HLA αντιγόνων τάξης I και τάξης II. Διακρίνονται οι δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες α και β καθώς και τα τρία τμήματα του μορίου (εξωκυτταρίο, διαμεμβρανικό και κυτταροπλασματικό).



Εικόνα 7.5: Το φαινόμενο του MHC περιορισμού: Για να αναγνωρισθεί από το Τ-λεμφοκύτταρο ένα τυχαίο αντιγόνο που μπαίνει στον οργανισμό, θα πρέπει υποχρεωτικά να συνδεθεί με HLA αντιγόνο πάνω στη μεμβράνη του αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου. Το φαινόμενο αυτό δείχνει το ρυθμιστικό ρόλο των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας πάνω στην ανοσολογική αντίδραση του οργανισμού.

Β) Τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας μπορεί να αποτελέσουν στόχο ανοσολογικής αντίδρασης. Αυτό συμβαίνει από οργανισμό που εκτίθεται σε τέτοια μόρια ενώ ο ίδιος διαθέτει διαφορετικά μόρια HLA. Η ανοσολογική αντίδραση στα HLA αντιγόνα είναι η κύρια αιτία **απόρριψης** ενός μεταμοσχευμένου ιστού ή οργάνου. Τα αντιγόνα HLA-A και HLA-B της τάξης I καθώς και τα αντιγόνα HLA-DR της τάξης II είναι τα κύρια αντιγόνα που αναγνωρίζονται από τον οργανισμό του δέκτη ενός μοσχεύματος για να γίνει η διαδικασία της απόρριψης του μοσχεύματος. (Τα αντιγόνα αυτά λέγονται και *μείζονα αντιγόνα μεταμόσχευσης*).

7.3 Πρακτικές εφαρμογές των HLA

Οι πρακτικές εφαρμογές των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας είναι οι ακόλουθες:

- ❖ Οι μεταμοσχεύσεις ιστών και οργάνων
- ❖ Η σχέση τους με ορισμένα νοσήματα
- ❖ Ο έλεγχος για αποκλεισμό της πατρότητας
- ❖ Οι μελέτες ομοιογένειας λαών και εθνοτήτων και οι ανθρωπολογικές έρευνες.

Οι μεταμοσχεύσεις ιστών και οργάνων

Οι μεταμοσχεύσεις οργάνων και ιστών αποτελούν μια νέα πραγματικότητα στη σύγχρονη ιατρική. Πολλές μεταμοσχεύσεις έχουν καταφέρει να επιλύσουν σοβαρά προβλήματα, να συμβάλουν στη βελτίωση της επιβίωσης αλλά και της ποιότητας ζωής πολλών ασθενών που βρίσκονται σε τελικά στάδια ανεπανόρθωτης βλάβης (ανεπάρκειας) ενός οργάνου. Ο κατάλογος των οργάνων και ιστών που μεταμοσχεύονται μεγαλώνει σταδιακά και μαζί του αρχίζει να αυξάνεται και ο χρόνος ικανοποιητικής λειτουργίας των μεταμοσχευμένων οργάνων (βλ. πίνακα 7.1).

Πίνακας 7.1: Κατάλογος των συχνότερα μεταμοσχευόμενων σήμερα οργάνων και ιστών

Όργανα κατά σειρά συχνότητας (βάσει στατιστικών στοιχείων)	Όργανα για τα οποία δεν υπάρχουν διαθέσιμα στατιστικά στοιχεία
1. Νεφρός * (συχνά)	Μυελός των οστών * (πολύ συχνά)
2. Ήπαρ	Κερατοειδής * (πολύ συχνά)
3. Καρδιά	Δέρμα
4. Πάγκρεας	
5. Καρδιά & Πνεύμονες (μαζί)	
6. Πνεύμονας (ένας ή και οι δυο)	

* Στα όργανα αυτά η πενταετής επιβίωση του μοσχεύματος φτάνει ή και υπερβαίνει το 80% των περιπτώσεων

Η βελτίωση τόσο των χειρουργικών τεχνικών, των μεθόδων προσδιορισμού της συμβατότητας μεταξύ των ιστών δότη και δέκτη καθώς και η χρήση ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων έχουν βελτιώσει γενικά την επιτυχία των μεταμοσχεύσεων.

Έχουμε ήδη αναφέρει τη σημασία της συμβατότητας των HLA αντιγόνων μεταξύ του δέκτη και του δότη ενός μοσχεύματος. Το επιθυμητό αποτέλεσμα στην περίπτωση των μεταμοσχεύσεων είναι η «αποδοχή» του μοσχεύματος από το ανοσολογικό σύστημα του δέκτη. Σε περίπτωση που το μόσχευμα προέρχεται από δότη με τελείως διαφορετικά αντιγόνα ιστοσυμβατότητας (HLA), η ανοσολογική αντίδραση του δέκτη θα στραφεί εναντίον του μοσχεύματος για να το καταστρέψει και το φαινόμενο αυτό ονομάζεται απόρριψη του μοσχεύματος. Τα HLA αντιγόνα ενός μοσχεύματος που τοποθετείται στο σώμα μας αναγνωρίζονται, όπως και κάθε άλλη αντιγονική ουσία με την οποία ερχόμαστε σε επαφή. Δηλαδή, δεν χρειάζεται τα HLA αντιγόνα του μοσχεύματος να παρουσιασθούν στο ανοσολογικό μας σύστημα σε συνδυασμό με τα δικά μας HLA αντιγόνα.

Το ανεπιθύμητο συμβάν μετά από μια μεταμόσχευση οργάνου είναι η απόρριψη του μοσχεύματος. Με τον όρο αυτό εννοούμε την καταστροφή του μοσχεύματος από την ανοσολογική αντίδραση σ' αυτό. Υπάρχουν τρεις τύποι απόρριψης ενός μοσχεύματος:

1. Η άμεση απόρριψη που παρατηρείται λίγα λεπτά μετά την δίοδο αίματος στο μόσχευμα κατά τη διάρκεια της επέμβασης και οφείλεται σε προϋπάρχοντα αντισώματα στον ορό του δέκτη που στρέφονται εναντίον μη HLA αντιγόνων, όπως τα αντιγόνα της ομάδας αίματος ή αντιγόνα του ενδοθελίου των αγγείων του δότη.
2. Η επιταχυνόμενη απόρριψη παρατηρείται μέσα σε ένα μήνα από τη μεταμόσχευση και οφείλεται στην δημιουργία ευαισθητοποιημένων T-λεμφοκυττάρων που «επιτίθενται» στο μόσχευμα και σταδιακά το καταστρέφουν. Η διαδικασία αυτή είναι μια τυπική αντίδραση της κυτταρικής ανοσίας.
3. Η χρόνια απόρριψη γίνεται αργά και σταδιακά μέσα σε μήνες ή χρόνια από τη μεταμόσχευση και εκδηλώνεται σαν προοδευτική επιδείνωση της λειτουργίας του μεταμοσχευμένου οργάνου. Η χρόνια απόρριψη είναι μια διαδικασία στην οποία συμμετέχουν είτε η χυμική είτε η κυτταρική ανοσία ή συνά και οι δύο.

Για να μειωθεί η πιθανότητα απόρριψης του μοσχεύματος απαιτείται συγκεκριμένος έλεγχος δότη και δέκτη πριν από τη μεταμόσχευση. Ο έλεγχος αυτός πρέπει να περιλαμβάνει:

- A) Έλεγχο συμβατότητας των ομάδων αίματος μεταξύ δότη και δέκτη.
- B) Ταυτοποίηση των HLA αντιγόνων για τον έλεγχο της συμβατότητας μεταξύ δότη και δέκτη (κυρίως για τις περιοχές B και DR- βλ. Εργαστηριακό μέρος –κεφ. 8°).
- Γ) Δοκιμασία διασταύρωσης για τυχόν προσχηματισμένα αντισώματα στον ορό του δέκτη εναντίον των αντιγόνων HLA του δότη.
- Δ) Ανοσολογικός έλεγχος του δέκτη.

Σχέση HLA αντιγόνων και διαφόρων νοσημάτων

Γνωρίζοντας ότι η ευπάθεια σε ορισμένες ασθένειες έχει γενετική βάση, η έρευνα τα τελευταία χρόνια στράφηκε στην πιθανότητα να υπάρχει σχέση μεταξύ της παρουσίας ορισμένων HLA αντιγόνων και ορισμένων νοσημάτων. Πράγματι, ορισμένα αντιγόνα σχετίζονται με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης ορισμένων νοσημάτων. Κλασικό τέτοιο παράδειγμα μεγάλης συσχέτισης, είναι η παρουσία του αντιγόνου

HLA B27 και της ασθένειας που λέγεται αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα. Επίσης σε ορισμένα άλλα νοσήματα η παρουσία ή μη ενός αντιγόνου σχετίζεται με την πρόγνωση μιας ασθένειας ή και την ανάγκη για να δοθεί ένα συγκεκριμένο είδος θεραπείας. Έτσι η ταυτοποίηση των HLA αντιγόνων έχει πρακτική σημασία στη διάγνωση, πρόγνωση και θεραπεία ορισμένων ασθενειών. Στον πίνακα 7.2 φαίνονται μερικές από τις ασθένειες που εμφανίζουν κάποια σχέση με τα HLA αντιγόνα που σχετίζονται. Στην τελευταία στήλη με την ένδειξη Σ.Κ. φαίνεται ο σχετικός κίνδυνος, δηλαδή πόσες φορές πιθανότερο είναι, ο φορέας ενός αντιγόνου να πάθει την ασθένεια σε σχέση με έναν που δεν έχει το συγκεκριμένο αντιγόνο.

Πίνακας 7.2: Σχέση νοσημάτων και HLA αντιγόνων

Νόσημα	Αντιγόνο HLA	Σ.Κ.*
Αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα	B27	87
Συγγενής υπερπλασία επινεφριδίων	B47	16
Νόσος Αδαμαντιάδη-Behçet	B5	6
Κοιλιοκάκη	DR3	15
Νόσος του Addison	DR3	6
Σύνδρομο Goodpasture	DR2	16
Πέμφιγα	DR4	14
Ναρκοληψία	DR2	135

* Σ.Κ. (σχετικός κίνδυνος) = πόσες φορές είναι μεγαλύτερη η πιθανότητα νόσου, αν υπάρχει το αντιγόνο, σε σύγκριση με αυτόν που δεν έχει το αντιγόνο.

Ο έλεγχος για τον αποκλεισμό της πατρότητας

Μια άλλη πρακτική εφαρμογή των HLA αντιγόνων είναι η χρήση τους για αποκλεισμό της πατρότητας ενός ατόμου, αν αυτό δεν μπορεί αποδειχθεί με την ταυτοποίηση των αντιγονικών συστημάτων των ερυθροκυττάρων.

Οι μελέτες ομοιογένειας λαών και εθνοτήτων και οι ανθρωπολογικές μελέτες

Η μελέτη των HLA αντιγόνων είναι χρήσιμη για την ανάλυση του βαθμού ομοιογένειας κάποιων πληθυσμών. Γνωρίζουμε ότι τα αντιγόνα αυτά έχουν διαφορετική συχνότητα εμφάνισης ανάμεσα σε φυλές και λαούς, πράγμα που οφείλεται στις διαφορές των γενετικών καταβολών τους. Τα στοιχεία αυτά είναι χρήσιμα στους ανθρωπολόγους που μελετούν την καταγωγή και τις φυλετικές επιμειξίες ορισμένων ομάδων και πληθυσμών.

Εκτός από τα κοινά αντιγόνα όπως είναι τα βακτήρια, οι τοξίνες, οι ξένες πρωτεΐνες κ.λ.π., *αντιγονι-κότητα* για τον οργανισμό μας, *παρουσιάζουν και τα κύτταρα ή ιστοί που προέρχονται από άλλο άτομο*. Αν λοιπόν δεχτούμε ένα μόσχευμα από άτομο με το οποίο δεν έχουμε γενετική ομοιότητα, το ανοσολογικό μας σύστημα θα αναγνωρίσει πάνω στη μεμβράνη των κυττάρων του μοσχεύματος κάποιες πρωτεΐνες που διαφέρουν από τις δικές μας και επομένως θα κινητοποιήσει τους μηχανισμούς της ειδικής ανοσίας για να τις εξουδετερώσει. Αυτά τα αντιγόνα που βρίσκονται πάνω στην επιφάνεια των κυττάρων και αποτελούν ένα είδος ταυτότητας του ατόμου ονομάζονται *αντιγόνα ιστοσυμβατότητας*. Με τον όρο *ιστοσυμβατότητα* εννοούμε το βαθμό στον οποίο ταιριάζουν οι ιστοί ενός ατόμου ως προς τα αντιγόνα αυτά. Η περιοχή των γονιδίων μας που κωδικοποιεί την σύσταση αυτών των αντιγόνων βρίσκεται πάνω στο *βραχύ σκέλος του χρωματοσώματος 6* και ονομάζεται *Μείζον Σύστημα (ή Σύμπλεγμα) Ιστοσυμβατότητας*, τα δε αντιγόνα ονομάζονται *MHC ή HLA*. Πάνω στη γονιδιακή περιοχή του MHC υπάρχουν 3 τάξεις γονιδίων, η τάξη I (που κωδικοποιεί τα αντιγόνα HLA A, B, και C), η τάξη II (που κωδικοποιεί τα αντιγόνα HLA DP, DQ και DR) και η τάξη III (που δεν κωδικοποιεί αντιγόνα HLA αλλά άλλες πρωτεΐνες που πάντως σχετίζονται με το ανοσολογικό σύστημα). Τα *HLA αντιγόνα τάξης I*, βρίσκονται σε όλα τα εμπύρνηνα κύτταρα του σώματος. Τα *HLA αντιγόνα τάξης II* βρίσκονται σε όλα τα δραστικά κύτταρα του ανοσολογικού μας συστήματος και κατά κύριο λόγο στα Β-λεμφοκύτταρα. Τόσο τα τάξης I όσο και τα τάξης II HLA αντιγόνα είναι *πρωτεΐνες* και μοιάζουν σαν φουρκέτες που εξέρχουν από το κύτταρο και στερεώνονται κάθετα πάνω στη κυτταρική μεμβράνη. Τα μόρια και των δύο τάξεων, *αποτελούνται από 2 πολυπεπτιδικές αλυσίδες*, την α και την β, οι οποίες και παρατάσσονται η μια δίπλα στην άλλη. Τα HLA αντιγόνα παίζουν σημαντικό ρόλο: α) *στη ρύθμιση της ανοσολογικής αντίδρασης του οργανισμού σε διάφορα αντιγόνα*, μέσω ενός φαινομένου που ονομάζεται *MHC περιορισμός*. Αυτό σημαίνει ότι για να αναγνωρίσει το Τ-λεμφοκύτταρο ένα οποιοδήποτε αντιγόνο που μπαίνει στον οργανισμό πρέπει απαραίτητα να παρουσιασθεί από το αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο σε συνδυασμό με κάποιο HLA αντιγόνο. Έτσι τα HLA αντιγόνα είναι ένα σύστημα που εκθέτει τις άλλες αντιγονικές ουσίες στο Τ-λεμφοκύτταρο. β) *στην «αποδοχή» ή μη ενός ιστού ή οργάνου που μεταμοσχεύεται από ένα άτομο σε άλλο*. Οι πρακτικές εφαρμογές των αντιγόνων HLA είναι η σημασία της ταυτοποίησής τους στις μεταμοσχεύσεις, *η σχέση τους με ορισμένα νοσήματα, η χρήση τους για αποκλεισμό της πατρότητας και η συμβολή τους σε ανθρωπολογικές μελέτες για την προέλευση πληθυσμών*.

Στη μεταμόσχευση είναι απαραίτητη η *συμβατότητα στα HLA μεταξύ δέκτη και δότη* για να αποφευχθεί η απόρριψη του μοσχεύματος που είναι στην πραγματικότητα η καταστροφή του από το ανοσολογικό σύστημα του δέκτη. Ο προσδιορισμός των HLA αντιγόνων για έλεγχο της συμβατότητας των ιστών μεταξύ δέκτη και δότη είναι απαραίτητος για την επιτυχία μιας μεταμόσχευσης. Η παρουσία ορισμένων HLA αντιγόνων σχετίζεται με μεγαλύτερη πιθανότητα παρουσίας ορισμένων νοσημάτων και έτσι η ταυτοποίησή τους μπορεί να βοηθήσει τη διάγνωση αλλά και την επιλογή της θεραπείας σε ορισμένα από αυτά. Χαρακτηριστική περίπτωση είναι μεγάλη συσχέτιση της *αγκυλοποιητικής σπονδυλίτιδας* με το αντιγόνο *HLA B27*.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

A) Απαντήστε με συντομία.

1. Τι σημαίνει ο όρος ιστοσυμβατότητα;
2. Τι είναι η ανοσολογική ανοχή;
3. Τι θα συμβεί αν δεχθούμε ένα μόσχευμα από τυχαίο άτομο που δεν έχουμε καμιά γενετική ομοιότητα;
4. Σε ποια περιοχή κωδικοποιούνται τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας και πώς ονομάζεται αυτή;
5. Σε ποια κύτταρα υπάρχουν τα HLA αντιγόνα τάξης I και σε ποια τα τάξης II;
6. Ποιος είναι ο ρόλος των HLA αντιγόνων στη ρύθμιση της ανοσολογικής αντίδρασης;
7. Ποια είναι η σημασία των HLA αντιγόνων για τις μεταμοσχεύσεις οργάνων και ιστών;
8. Τι είναι η απόρριψη ενός μοσχεύματος;
10. Ποιες συγκεκριμένες πρακτικές εφαρμογές έχει η ταυτοποίηση των HLA αντιγόνων;

B) Επιλέξατε τη σωστή απάντηση.

Τα HLA αντιγόνα:

- α) Βρίσκονται στον πυρήνα των περισσότερων κυττάρων του οργανισμού.
- β) Κωδικοποιούνται σε γονιδιακές περιοχές του χρωματοσώματος 21.
- γ) Μπορεί να χρησιμεύσουν για τον αποκλεισμό της πατρότητας.
- δ) Είναι υπεύθυνα για την άμεση απόρριψη ενός μοσχεύματος.
- ε) Ο κερατοειδής χιτώνας του ματιού είναι πολύ πλούσιος σε HLA αντιγόνα.

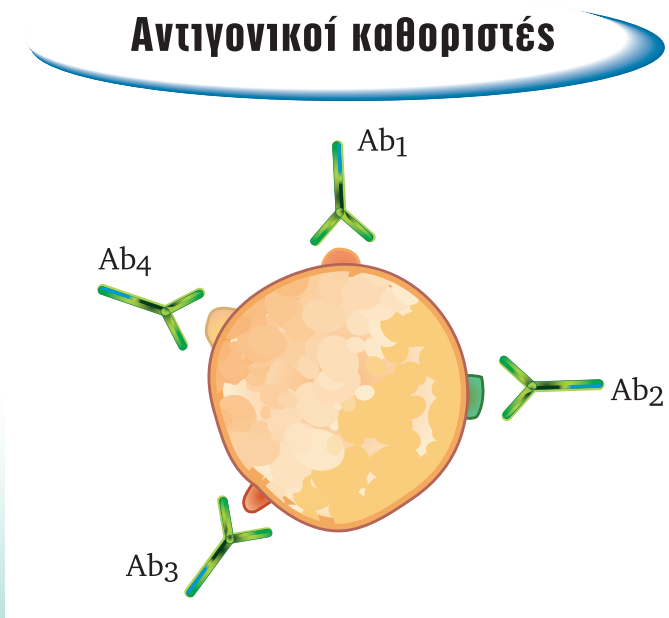
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8°

ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

8.1 Τι είναι και πώς παράγονται

Τα **αντισώματα** ή **ανοσοσφαιρίνες** είναι πρωτεΐνες μεγάλου μοριακού βάρους που παράγονται από τα Β λεμφοκύτταρα στο πλαίσιο της ειδικής χυμικής ανοσολογικής απόκρισης. Δεσμεύονται ισχυρά με τα αντιγόνα και τα αδρανοποιούν ή τα προετοιμάζουν για πρόσληψη και καταστροφή από τα φαγοκύτταρα.

Ο οργανισμός μας όταν έρχεται σε επαφή με κάποιο αντιγόνο ενεργοποιεί έναν πληθυσμό Β λεμφοκυττάρων ο οποίος πολλαπλασιάζεται δημιουργώντας ακριβή αντίγραφα του (κλώνους) και διαφοροποιείται σε πλασματοκύτταρα και σε Β λεμφοκύτταρα μνήμης. Τα πλασματοκύτταρα εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες αντισωμάτων, με ρυθμό 2000 αντισώματα ανά δευτερόλεπτο. Επειδή όμως δεχόμαστε μεγάλη ποικιλία αντιγόνων σε καθημερινή βάση κάθε άτομο διαθέτει ένα πολυκλωνικό μείγμα αντισωμάτων. Πολύ σημαντικό επίσης είναι να γνωρίζουμε ότι ένα αντίσωμα αναγνωρίζει μια συγκεκριμένη περιοχή του αντιγόνου η οποία ονομάζεται **αντιγονικός καθοριστής** ή **επίτοπος**. Μεγάλα αντιγόνα όπως είναι



Εικόνα 8.1. Κάθε αντίσωμα αναγνωρίζει μια συγκεκριμένη περιοχή του "εισβολέα", τον αντιγονικό καθοριστή ή επίτοπο.

οι μικροοργανισμοί διαθέτουν περισσότερους από έναν επιτόπους. Αποτέλεσμα είναι να παράγονται περισσότερα από ένα είδη αντισωμάτων εναντίον τους. Τα αντισώματα που αναγνωρίζουν μόνο έναν επίτοπο προέρχονται από μια ομάδα όμοιων μεταξύ τους Β λεμφοκυττάρων, κλώνων δηλαδή, και γι' αυτό ονομάζονται **μονοκλωνικά αντισώματα**.

Το 1975 οι G. Kohler και C. Milstein (Βραβείο Nobel 1984) παρουσίασαν μια τεχνική που επέτρεψε την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων σε απεριόριστες ποσότητες. Τα Β λεμφοκύτταρα τα οποία παράγουν τα αντισώματα δε επιβιώνουν *in vitro* σε κυτταροκαλλιέργειες για μεγάλο διάστημα. Με την σύντηξή τους όμως με καρκινικά κύτταρα αποκτούν την ικανότητα πολλαπλασιασμού τους σε κυτταροκαλλιέργειες επ' αόριστο. Τα κύτταρα αυτά ονομάζονται **υβριδώματα**, έχουν την ικανότητα να καλλιεργούνται *in vitro* και παράγουν αντισώματα και μάλιστα μονοκλωνικά.

Η τεχνική της παραγωγής των μονοκλωνικών αντισωμάτων ακολουθεί την κάτωθι διαδικασία:

Το επιλεγμένο αντιγόνο έναντι του οποίου θα παρουσιάζουν ειδικότητα τα αντισώματα χορηγείται σε ποντικό με ένεση. Τα Β λεμφοκύτταρα στο πλαίσιο της χυμικής ανοσίας αρχίζουν να παράγουν αντισώματα έναντι του αντιγόνου. Ο σπλήνας αφαιρείται από τον ποντικό μετά από σύντομο χρονικό διάστημα και απομονώνονται τα Β λεμφοκύτταρα.

Στη συνέχεια τα Β λεμφοκύτταρα συντήκονται με καρκινικά κύτταρα. Μετά από κατάλληλη επεξεργασία καταλήγουμε στην παραγωγή υβριδωμάτων. Τα υβριδώματα είναι δυνατόν να καλλιεργηθούν σε κατάλληλο θρεπτικό υλικό ενώ παράγουν και το συγκεκριμένο μονοκλωνικό αντίσωμα σε μεγάλες ποσότητες στο υπερκείμενο διάλυμα.

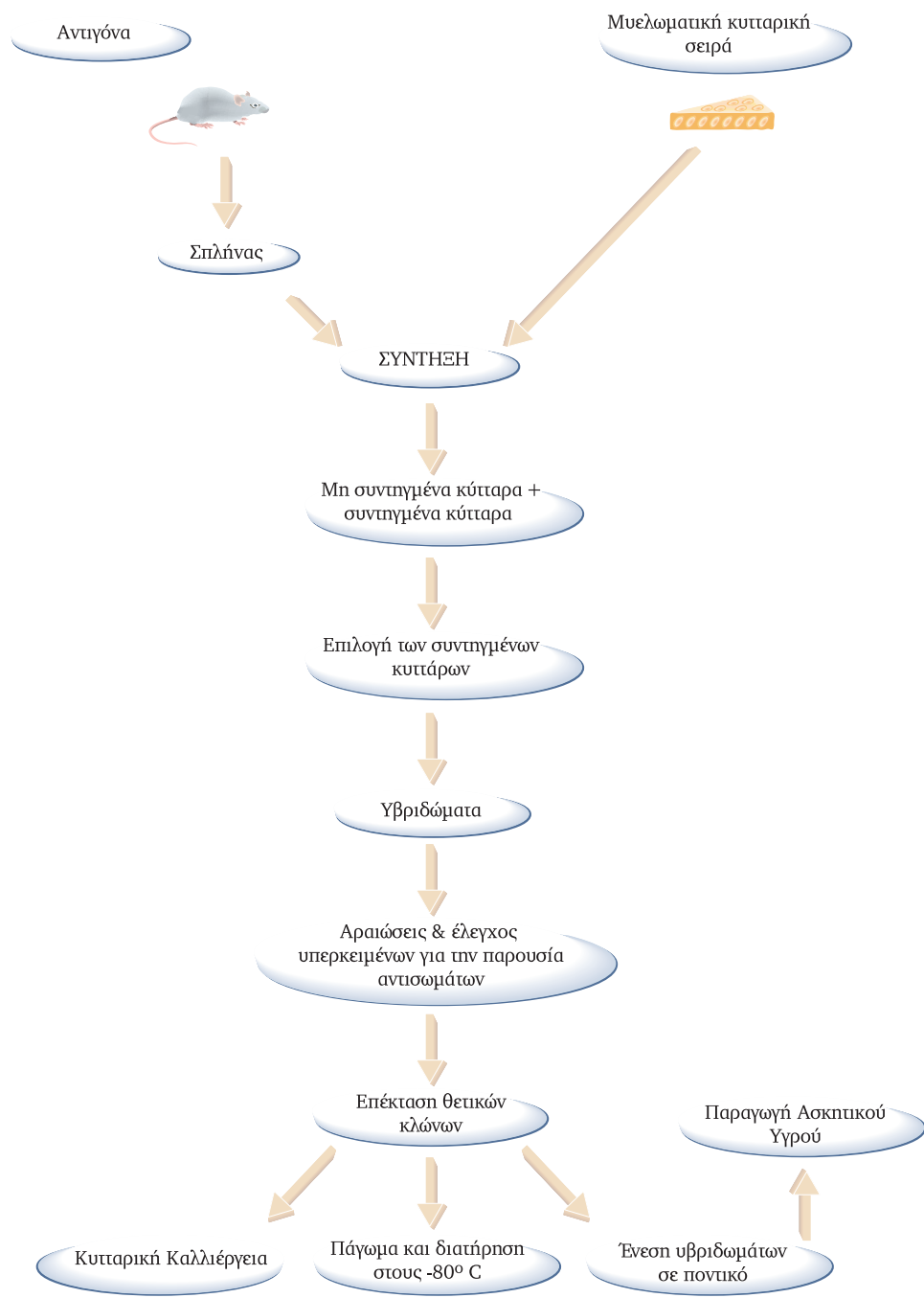
Τα υβριδώματα μπορούν να διατηρούνται στην κατάψυξη, στους $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Στη συνέχεια μπορούν να αποψυχθούν και να χρησιμοποιηθούν για την εκ νέου παραγωγή του συγκεκριμένου μονοκλωνικού αντισώματος.

8.2 Εφαρμογές

Η παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων προκάλεσε επανάσταση στην Ανοσολογία. Τα μονοκλωνικά αντισώματα έχουν πολυάριθμες εφαρμογές τόσο στην Κλινική Ιατρική όσο και σε άλλους τομείς.

1. **Ανοσοδιαγνωστικά.** Η διάγνωση μεγάλου αριθμού μολύνσεων όσο και ασθενειών. Αυτό γίνεται με τον εντοπισμό συγκεκριμένων αντιγόνων ή/και αντισωμάτων στο αίμα ή σε διάφορους ιστούς με τη χρήση ειδικών διαγνωστικών ανοσολογικών τεχνικών. Πρόκειται για γρήγορες, ακριβείς, απλές και ευαίσθητες μεθόδους οι οποίες επιτρέπουν τη διάγνωση των ασθενειών σε πολύ αρχικά στάδια.
2. Χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό φαινοτυπικών δεικτών, επιφανειακές πρωτεΐνες, οι οποίοι είναι χαρακτηριστικοί για συγκεκριμένους κυτταρικούς πληθυσμούς. Επιτυγχάνεται η μέτρηση αλλά και ο διαχωρισμός υποπληθυσμών κυττάρων με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων συνδεδεμένων με φθορίζουσες χρωστικές.
3. Θεραπεία και διάγνωση του καρκίνου. Τα καρκινικά κύτταρα φέρουν στην επιφάνειά τους χαρακτηριστικά αντιγόνα, τα οποία δεν υπάρχουν σε φυσιολογικά κύτταρα, **τα καρκινικά αντιγόνα**. Τα καρκινικά αντιγόνα χρησιμοποιούνται ως δείκτες καρκίνου. Ο εντοπισμός τους γίνεται με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων. Επίσης, μονοκλωνικά αντισώματα συνδέονται είτε με αντικαρκινικές ουσίες είτε με ραδιενεργά ισότοπα και χρησιμοποιούνται στην *in vivo* ανοσοθεραπεία.

Παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων



Εικόνα 8.2 Σχηματική αναπαράσταση της τεχνικής δημιουργίας υβριδωμάτων για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων.

4. Σε ανοσολογικές τεχνικές. Τα μονοκλωνικά αντισώματα διακρίνονται σε **ανασταλτικά** και σε **ενεργοποιητικά** αντισώματα. Διακρίνονται στις δύο παραπάνω κατηγορίες ανάλογα με το αποτέλεσμα που έχει η προσθήκη του αντίστοιχου αντισώματος στο αντιγόνο και στις αντίστοιχες κυτταρικές λειτουργίες. Εάν η προσθήκη του μονοκλωνικού αντισώματος έχει ως αποτέλεσμα το μπλοκάρισμα του αντιγόνου και την αναστολή της λειτουργίας του, τότε κατατάσσεται στα ανασταλτικά αντισώματα. Σε αντίθετη περίπτωση, όταν δηλαδή η προσθήκη του αντισώματος καταλήγει στην ενεργοποίηση του αντιγόνου η οποία έχει ως αποτέλεσμα την επαγωγή διάφορων κυτταρικών λειτουργιών που σχετίζονται με το συγκεκριμένο μόριο, τότε κατατάσσονται στα ενεργοποιητικά αντισώματα.

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Τα μονοκλωνικά αντισώματα παρουσιάζουν ειδικότητα ως προς συγκεκριμένους αντιγονικούς καθοριστές ή επίτοπους. Η παραγωγή τους περιλαμβάνει την σύντηξη Β λεμφοκυττάρων και καρκινικών κυτταρικών σειρών για την παραγωγή υβριδωμάτων. Τα υβριδώματα έχουν την ικανότητα παραγωγής του αντίστοιχου μονοκλωνικού αντισώματος σε απεριόριστες ποσότητες. Οι εφαρμογές τους τόσο στον ερευνητικό όσο στον κλινικό τομέα είναι πάρα πολλές. Έχουν αρχίσει πλέον να χρησιμοποιούνται τεχνικές Μοριακής Βιολογίας για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων νέας γενιάς.

ΑΣΚΗΣΕΙΣ - ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Τι ονομάζουμε ανοσοσφαιρίνες ή αντισώματα;
2. Τι ονομάζουμε αντιγονικούς καθοριστές ή επίτοπους;
3. Δώσατε τον ορισμό του μονοκλωνικού αντισώματος.
4. Τι είναι τα υβριδώματα;
5. Τα υβριδώματα αποτελούνται από
 - α. Β λεμφοκύτταρα και καρκινικά κύτταρα.
 - β. Τ λεμφοκύτταρα και καρκινικά κύτταρα.
 - γ. μυελωματικά κύτταρα και καρκινικά κύτταρα.
 - δ. Β λεμφοκύτταρα και σπληνοκύτταρα.
6. Αναφέρατε τα κύρια στάδια παραγωγής των μονοκλωνικών αντισωμάτων.
7. Ποιες είναι οι κυριότερες εφαρμογές των μονοκλωνικών αντισωμάτων;
8. Τι ονομάζουμε καρκινικά αντιγόνα και ποια η χρήση τους;
9. Σε ποιες κατηγορίες διακρίνονται τα μονοκλωνικά αντισώματα;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9^ο

ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

9.1 Γενικά

Μία από τις σπουδαιότερες ιδιότητες του ανοσιακού μας συστήματος είναι η ικανότητά του να διακρίνει τα "ίδια" (τα δικά του) από τα "ξένα" αντιγόνα και να μην αντιδρά εναντίον του εαυτού του. Αυτή η ικανότητα να μην αντιδρά εναντίον των δικών του συστατικών ονομάζεται **"αυτοανοχή"**. Σε περίπτωση κατά την οποία διασπαστεί η αυτοανοχή ο οργανισμός οδηγείται σε **"αυτοανοσία"**. Αυτοανοσία λοιπόν είναι η ανοσιακή απάντηση του οργανισμού απέναντι σε δικά του αντιγόνα, που οφείλεται σε διακοπή της φυσιολογικής ανοσιακής ανοχής.

Ενός μικρού βαθμού αυτοανοσία είναι μέρος της γενικής ανοσιακής απάντησης και δε βλάπτει τον οργανισμό μας. Οι αντιδράσεις αυτοανοσίας δεν είναι πολύ σπάνιες στο πλαίσιο της φυσιολογικής ρυθμιστικής δραστηριότητας του ανοσιακού μας συστήματος και ούτε είναι υποχρεωτικά βλαβερές. Βλάβη προκαλείται μόνον όταν αναπτυχθεί υπερβολική αυτοάνοση αντίδραση η οποία δεν είναι πλέον μέρος της φυσιολογικής ανοσιακής αντίδρασης αλλά αποτελεί παθολογικό γεγονός (αυτοάνοση νόσος). Η αυτοάνοση νόσος ή αυτοάνοσο νόσημα χαρακτηρίζεται από την παρουσία αυτοαντισωμάτων ή/και αυτοαντιδραστικών λεμφοκυττάρων, δηλαδή αντισωμάτων και λεμφοκυττάρων που αντιδρούν με αντιγόνα του ίδιου του οργανισμού μας.

Τα αυτοάνοσα νοσήματα είναι μια μεγάλη κατηγορία νοσημάτων, η ακριβής αιτιολογία των οποίων παραμένει ακόμη και σήμερα αδιευκρίνιστη, παρ' όλες τις προόδους στην ανοσολογία. Πολλοί παράγοντες θεωρείται ότι συμβάλλουν στη γένεση των νοσημάτων αυτών και πληθώρα μελετών έχει δείξει ότι η αυτοανοσία δεν προκαλείται από ένα μόνο αίτιο.

Από ανοσολογικής πλευράς έχουν ενοχοποιηθεί πολλοί μηχανισμοί, η περιγραφή των οποίων ξεφεύγει από τους σκοπούς αυτού του βιβλίου (π.χ. διαταραχή της ανοσιακής αντίδρασης -μη αναγνώριση του ίδιου, ελάττωση της κατασταλτικής λειτουργίας των Τ λεμφοκυττάρων, ελαττωματικά αρχέγονα κύτταρα, ανωμαλίες μακροφάγων-, ενεργοποίηση Τ αυτοαντιδρώντων κλώνων κ.α.). Εκτός όμως από τους ανοσολογικούς μηχανισμούς, η ανάπτυξη αυτοανοσίας διαπιστώθηκε ότι εξαρτάται και από γενετικούς προδιαθεσικούς παράγοντες (συσχέτιση ορισμένων αυτοάνοσων νοσημάτων με συγκεκριμένα αντιγόνα του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας), σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες, όπως λοιμογόνους (π.χ. λοιμώξεις από ιούς), ορμονικούς (μεγαλύτερη συχνότητα σε γυναίκες), περιβαλλοντικούς (π.χ. έκθεση σε ακτινοβολία, σε φάρμακα, σε διάφορες ουσίες όπως υποδόριες ενέσεις κολλαγόνου, προθέσεις μαστού με σιλικόνη), ή ακόμη και φυσιολογικούς (γήρας).

9.2 Διάκριση αυτοανόσων νοσημάτων

Τα αυτοάνοσα νοσήματα αποτελούν ένα ευρύ φάσμα νοσημάτων που χαρακτηρίζονται από την παρουσία **αυτοαντισωμάτων** (αντισωμάτων που δρουν εναντίον των ίδιων των αντιγόνων του οργανισμού μας). Τα νοσήματα αυτά διακρίνονται σε:

1. Αυτοάνοσα νοσήματα **οργανοειδικά** (ειδικά για ένα όργανο). Σ' αυτά οι βλάβες εντοπίζονται μόνο σε ένα όργανο και τα αυτοαντισώματα είναι "ειδικά για το όργανο" δηλαδή αντιδρούν μόνο με τα συστατικά του οργάνου αυτού (παραδείγματα νοσημάτων: αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα, αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία) και
2. Αυτοάνοσα νοσήματα **συστηματικά (μη οργανοειδικά)**. Οι βλάβες εντοπίζονται σε περισσότερα από ένα όργανα και υπάρχουν πολλά αυτοαντισώματα που αντιδρούν με διάφορα όργανα (παραδείγματα νοσημάτων: συστηματικός ερυθματώδης λύκος, ρευματοειδής αρθρίτιδα, συστηματική σκληροδερμία κ.λ.π.)

Υπάρχουν και οι ενδιάμεσες περιπτώσεις στις οποίες οι βλάβες εντοπίζονται σε ένα μόνο όργανο αλλά τα αυτοαντισώματα δεν είναι ειδικά για το όργανο. Επίσης συχνά υπάρχει αλληλοεπικάλυψη μεταξύ αυτοανόσων νοσημάτων, δηλαδή εμφάνιση περισσότερων του ενός αυτοανόσων νοσημάτων.

Στον πίνακα 9.1 αναγράφονται τα κυριότερα οργανοειδικά αυτοάνοσα νοσήματα και στον 9.2 τα κυριότερα συστηματικά (μη οργανοειδικά) αυτοάνοσα νοσήματα. Στα πιο σημαντικά από αυτά θα γίνει μια σύντομη αναφορά στο τελευταίο μέρος του κεφαλαίου.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.1. ΟΡΓΑΝΟΕΙΔΙΚΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα (θυρεοειδίτιδα Hashimoto)
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου I (Ινσουλινοεξαρτώμενος, νεανικός)
Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία
Αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα
Αυτοάνοση ουδετεροπενία
Κακοήθης αναιμία
Αυτοάνοση ανδρική στέρωση
Βαριά μυασθένεια

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.2 ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΑ (ΜΗ ΟΡΓΑΝΟΕΙΔΙΚΑ) ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Συστηματικός Ερυθματώδης Λύκος (ΣΕΛ)
Ρευματοειδής αρθρίτιδα
Συστηματική Σκληροδερμία
Σύνδρομο Sjögren
Μικτή Νόσος του Συνδετικού Ιστού
Πολυμυοσίτιδα / Δερματομυοσίτιδα

9.3 Αυτοαντισώματα

Είναι αντισώματα που δρουν εναντίον των ίδιων των αντιγόνων του οργανισμού και διακρίνονται σε:

- α) αυτοαντισώματα εναντίον "ειδικών αντιγόνων" των οργάνων :** αντιδρούν με αντιγόνα που βρίσκονται μόνον σε ένα συγκεκριμένο όργανο, για αυτό και ονομάζονται "ειδικά αντιγόνα" για το όργανο (π.χ. αντιθυρεοειδικά αντισώματα: αντιδρούν με αντιγόνα του θυρεοειδούς, αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα: αντιδρούν με αντιγόνα των αιμοπεταλίων) και
- β) αυτοαντισώματα εναντίον "μη ειδικών αντιγόνων" των οργάνων:** αντιδρούν με αντιγόνα που δεν είναι ειδικά για κάποιο συγκεκριμένο όργανο αλλά βρίσκονται σε όλα τα όργανα και τους ιστούς του οργανισμού (π.χ. αντιπυρηνικά αντισώματα: αντιδρούν με αντιγόνα του πυρήνα όλων των κυττάρων του σώματος).

Στην προσπάθειά μας να κατανοήσουμε τον ρόλο του αυτοαντισώματος στην αιτιολογία των αυτοάνοσων νοσημάτων, έχουμε διαπιστώσει ότι, ενώ σε μερικές περιπτώσεις ο ρόλος των αυτοαντισωμάτων στην παθογένεση της νόσου είναι αναμφισβήτητος, σε άλλες περιπτώσεις τα αυτοαντισώματα δεν παίζουν κανένα ρόλο στην παθογένεση της νόσου και χρησιμεύουν απλώς σαν δείκτες που μας βοηθούν στη διάγνωση του νοσήματος. Με ποιο τρόπο τα αυτοαντισώματα μπορούν να προκαλέσουν βλάβη των ιστών;

- α) με την ενεργοποίηση του συμπληρώματος ή κυτταροτοξικών κυττάρων.
- β) με τον σχηματισμό ανοσοσυμπλεγμάτων τα οποία ανάλογα με το μέγεθός τους κυκλοφορούν και εναποτίθενται στους ιστούς (νεφρά, αρθρώσεις) όπου ενεργοποιούν το συμπλήρωμα και προκαλούν βλάβη του ιστού.
- γ) με τη σύνδεσή τους σε αντιγόνα των ιστών και την τροποποίηση της φυσιολογικής λειτουργίας των κυττάρων (π.χ. τα αντισώματα κατά του υποδοχέα της ινσουλίνης στο σακχαρώδη διαβήτη).

9.3.1 Αυτοαντισώματα εναντίον ειδικών αντιγόνων των οργάνων

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα αυτοαντισώματα που βρίσκονται στην αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (αυτοαντισώματα εναντίον αντιγόνων των ερυθρών αιμοσφαιρίων), στην αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα (αυτοαντισώματα εναντίον αντιγόνων των αιμοπεταλίων), στην αυτοάνοση ουδετεροπενία (αυτοαντισώματα εναντίον αντιγόνων των λευκών αιμοσφαιρίων), στην αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα (αυτοαντισώματα εναντίον αντιγόνων του θυρεοειδούς αδένος) και σε άλλα οργανοειδικά αυτοάνοσα νοσήματα.

9.3.2 Αυτοαντισώματα εναντίον μη ειδικών αντιγόνων των οργάνων

ΑΝΤΙΠΥΡΗΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ (ΑΝΑ)

Τα Αντιπυρηνικά Αντισώματα (ΑΝΑ) είναι αντισώματα εναντίον αντιγόνων του πυρήνα (συστατικών του πυρήνα) και ανιχνεύονται συχνά στον ορό ασθενών με συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα, γι' αυτό και η ανίχνευσή τους έχει μεγάλη σημασία στη διάγνωση των νοσημάτων αυτών.

Η μέθοδος που χρησιμοποιείται σήμερα ευρύτατα για την ανίχνευση των ANA είναι η μέθοδος του έμμεσου ανοσοφθορισμού (IIF). Η μέθοδος αυτή έχει αντικαταστήσει πλήρως τα κύτταρα λύκου, που ήταν η πρώτη μέθοδος που είχε χρησιμοποιηθεί ήδη από το 1948 για ανίχνευση αντισωμάτων έναντι συστατικών του πυρήνα. Τα κύτταρα λύκου (LE cells) ανίχνευαν πολύ λιγότερα αντισώματα σε σχέση με τη νέα μέθοδο των ANA. Σήμερα η μέθοδος των κυττάρων λύκου δεν χρησιμοποιείται πλέον και έχει μόνον ιστορική σημασία.

Η μέθοδος του έμμεσου ανοσοφθορισμού για την ανίχνευση των ANA έχει τα πλεονεκτήματα της ευαισθησίας, επαναληψιμότητας και σχετικά εύκολης εφαρμογής. Είναι απλή στην εκτέλεσή της, απαιτεί μόνο: α) την ύπαρξη κατάλληλου υποστρώματος σαν πηγή των πυρηνικών αντιγόνων, β) τον εξεταστέο ορό (καθώς και θετικό και αρνητικό μάρτυρα), γ) αντι-ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη σεσημασμένη με φθοριόχρωμα και δ) μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού. Η μέθοδος του έμμεσου ανοσοφθορισμού παρέχει τη δυνατότητα ανίχνευσης μεγάλου εύρους αντιπυρηνικών αντισωμάτων.

Τα υποστρώματα που χρησιμοποιούμε στον έμμεσο ανοσοφθορισμό (δηλαδή το υλικό που είναι τοποθετημένο πάνω στο πλακάκι και περιέχει τους πυρήνες των κυττάρων) είναι συνήθως καλλιεργήματα κυττάρων, όπως επιθηλιακά κύτταρα από καρκίνο λάρυγγος ανθρώπου (Her-2 κύτταρα), επιθηλιακά κύτταρα από καρκίνο στοματοφάρυγγος ανθρώπου (KB κύτταρα), αμνιακά κύτταρα ανθρώπου κ.α. Χρησιμοποιούνται όμως και ιστικές τομές ήπατος και νεφρού ποντικού (ή επίμυος).

Σε περίπτωση που τα ANA είναι θετικά, εξετάζοντας το πλακάκι στο μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού θα δούμε διάφορους τύπους φθορισμού (εικόνες φθορισμού) του πυρήνα. Οι κυριότεροι τύποι φθορισμού που παρατηρούνται είναι: ο διάχυτος ή ομοιογενής, ο περιφερικός, ο σιτικός, ο φθορισμός πυρηνιδίου, ο αντικεντρομεριδιακός, ο κυτταροπλασματικός (φθορισμός του κυτταροπλάσματος) και ο μικτός. Οι τύποι αυτοί φθορισμού του πυρήνα φαίνονται στις φωτογραφίες 9.1 (α – στ).

Θετικά ANA ανιχνεύονται εκτός από τα αυτοάνοσα νοσήματα και σε διάφορα λοιμώδη, φλεγμονώδη και νεοπλασματικά νοσήματα, ακόμη και σε μικρό ποσοστό υγιών ατόμων, κυρίως μεγάλης ηλικίας. Οι τίτλοι όμως των ANA σε αυτά τα περιστατικά είναι κατά κανόνα χαμηλότεροι σε σχέση με αυτούς που παρατηρούνται στα αυτοάνοσα νοσήματα. Υψηλοί τίτλοι ANA παρατηρούνται κυρίως σε Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ) και η απουσία θετικών ANA σε έναν ασθενή αποτελεί σοβαρό στοιχείο κατά της διάγνωσης του ΣΕΛ.

Στους πίνακες 9.3 και 9.4 αναγράφονται τα νοσήματα όπου παρατηρούνται θετικά ANA καθώς και η συχνότητα ανίχνευσης θετικών ANA στα κυριότερα αυτοάνοσα νοσήματα.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.3

ΘΕΤΙΚΑ ΑΝΤΙΠΥΡΗΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ (ΑΝΑ)

A. Συστηματικά (μη οργανοειδικά) Αυτοάνοσα Νοσήματα

- Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ)
- Μικτή Νόσος Συνδετικού Ιστού
- Συστηματική Σκληροδερμία
- Ρευματοειδής Αρθρίτιδα
- Σύνδρομο Sjögren
- Πολυμυοσίτιδα/Δερματομυοσίτιδα

B. Λοιμώδη Νοσήματα

- Λέπρα
- Φυματίωση
- Ηπατίτιδα
- Λοιμώδης Μονοπυρήνωση
- Ελονοσία
- Χρόνια Αποστήματα, κ.ά.

Γ. Νεοπλασίες

- Λευχαιμία
- Λέμφωμα
- Μελάνωμα

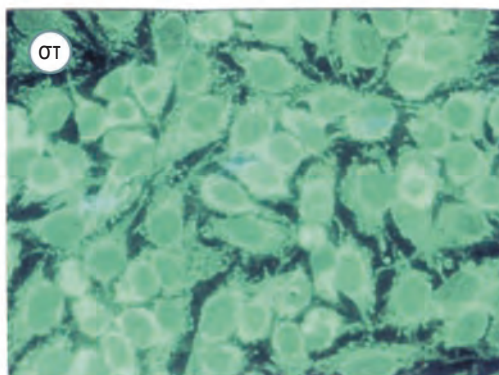
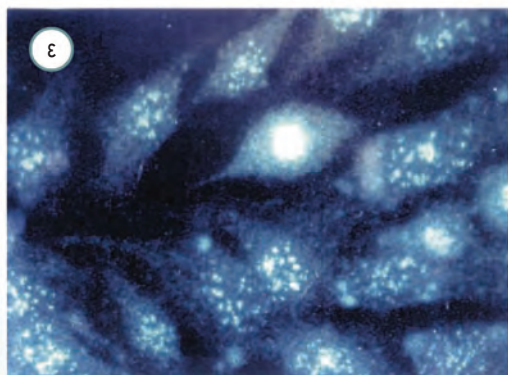
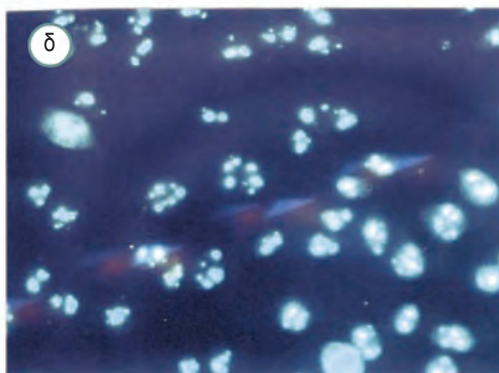
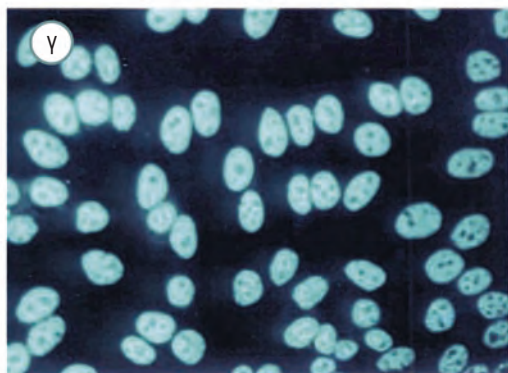
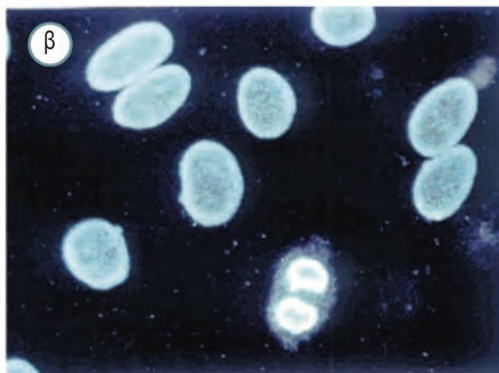
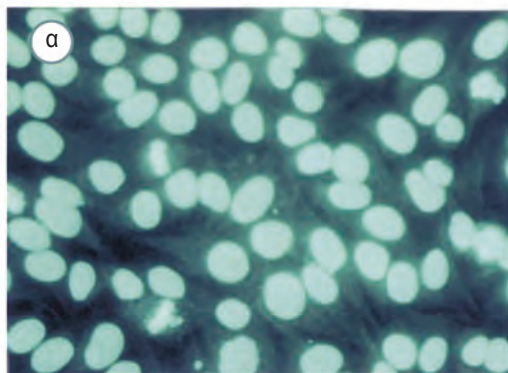
Δ. Άλλες παθήσεις

- Χρόνια ενεργός ηπατίτιδα
- Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα
- Φαρμακευτικός Λύκος (αυτοάνοσο νόσημα που εμφανίζεται μετά τη λήψη ορισμένων φαρμάκων)

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.4

ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΘΕΤΙΚΩΝ ΑΝΑ ΣΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

- Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ)	96-99%
- Συστηματική Σκληροδερμία	40-88%
- Σύνδρομο Sjögren	72-85%
- Ρευματοειδής Αρθρίτιδα	24-55%
- Μικτή Νόσος του Συνδετικού Ιστού	95-100%



Φωτογραφίες 9.1 (α-στ): Αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA)

Τύποι φθορισμού του πυρήνα:

α: διάχυτος ή ομοιογενής

β: περιφερικός

γ: σπικτός

δ: φθορισμός πυρηνιδίου

ε: αντικεντρομεριδιακός

στ: κυτταροπλασματικός

(Φωτογραφίες από μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού. Αρχείο Άννας Καρακάση-Γαρδούνη)

Ταξινόμηση των ANA

Τα Αντιπυρηνικά Αντισώματα (ANA) ταξινομούνται σε:

1. Αντισώματα έναντι νουκλεϊνικών οξέων (αντι-DNA) Από αυτά σημαντικότερα είναι τα αντισώματα έναντι του **DNA διπλής έλικας** που έχουν μεγάλη διαγνωστική σημασία γιατί είναι χαρακτηριστικά για το **Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ)**. Τα αντισώματα αυτά απαντώνται στους ασθενείς με ΣΕΛ και θεωρούνται σημαντικός ορολογικός δείκτης της νόσου. Αν δηλαδή βγουν θετικά τα αντισώματα αυτά, ιδιαίτερα σε υψηλούς τίτλους, τίθεται η διάγνωση του ΣΕΛ.
2. Αντισώματα έναντι ιστονών. Βγαίνουν θετικά σε διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα.
3. Αντισώματα έναντι μικρών πυρηνικών και κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών (αντι-ENA). Τα κυριότερα από αυτά, που σήμερα ανιχνεύονται ευρύτατα στα ανοσολογικά εργαστήρια, είναι τα αντισώματα έναντι των: nRNP, Sm, Ro, La, Scl-70. Βγαίνουν θετικά σε διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα. Από αυτά ιδιαίτερο ενδιαφέρον εμφανίζουν τα αντι-**Sm** που παρατηρούνται στον **ΣΕΛ** (η ανεύρεσή τους στον ορό ενός ασθενούς έχει μεγάλη διαγνωστική σημασία και προσφέρει πολύτιμη βοήθεια στον καθορισμό της διάγνωσης του ΣΕΛ) και τα αντι- **Scl-70** που παρατηρούνται στη **διάχυτη σκληροδερμία** (παρατηρείται στο 70-75% των ασθενών και θεωρείται ορολογικός δείκτης της νόσου).

ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ (RF)

(Βλέπε και στο κεφάλαιο: ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ στο εργαστηριακό μέρος του βιβλίου).

Ο ρευματοειδής παράγοντας (RF) είναι αντίσωμα έναντι του Fc κλάσματος της IgG. Ανήκει κυρίως στις IgM ανοσοσφαιρίνες, μπορεί όμως να είναι και IgG ή IgA, σπανιότερα δε IgE ή IgD.

Θετικός ρευματοειδής παράγοντας παρατηρείται σε υψηλά ποσοστά στη ρευματοειδή αρθρίτιδα και το σύνδρομο Sjögren και σε χαμηλότερα ποσοστά σε άλλα αυτοάνοσα νοσήματα (συστηματικό ερυθηματώδη λύκο, συστηματική σκληροδερμία, μικτή νόσο του συνδετικού ιστού). Μπορεί να βγει θετικός και σε οξείες και χρόνιες λοιμώξεις (ιογενείς λοιμώξεις, λέπρα, φυματίωση, σύφιλη, υποξεία ενδοκαρδίτιδα κ.α.), σε νεοπλάσματα, αλλά και σε μικρό ποσοστό φυσιολογικών ατόμων κυρίως μεγαλύτερης ηλικίας.

Κύρια μέθοδος προσδιορισμού του είναι η νεφελομετρία. Στα μικρά εργαστήρια χρησιμοποιείται και η συγκολλητινοαντίδραση latex που όμως υστερεί σε ευαισθησία και δίνει μόνο ημιποσοτικά αποτελέσματα.

9.4 Αυτοάνοσα νοσήματα

Όπως αναφέραμε στην αρχή του κεφαλαίου, διακρίνονται σε οργανοειδικά και συστηματικά (μη οργανοειδικά).

9.4.1 Οργανοειδικά Αυτοάνοσα Νοσήματα

Είναι τα αυτοάνοσα νοσήματα στα οποία οι βλάβες εντοπίζονται σε **ένα** μόνο όργανο. Τα κυριότερα απ' τα νοσήματα αυτά είναι:

Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα (θυρεοειδίτιδα Hashimoto)

Είναι χρόνιο φλεγμονώδες νόσημα του θυρεοειδούς στο οποίο παρατηρείται ποικίλου βαθμού καταστροφή του θυρεοειδούς αδένος. Χαρακτηρίζεται από παρουσία αντιθυρεοειδικών αντισωμάτων (αυτοαντισώματα έναντι της θυρεοσφαιρίνης και έναντι της υπεροξειδάσης του θυρεοειδούς).

Σακχαρώδης διαβήτης τύπου I (Ινσουλινοεξαρτώμενος, νεανικός)

Είναι αυτοάνοση νόσος που καταστρέφει τα β κύτταρα των νησιδίων του παγκρέατος. Κατά την πορεία της νόσου ανευρίσκονται αυτοαντισώματα έναντι των κυττάρων των νησιδίων, καθώς και έναντι της ινσουλίνης.

Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία

Είναι ομάδα αναιμιών οι οποίες χαρακτηρίζονται από αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων λόγω αυτοαντισωμάτων προς τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Τα αυτοαντισώματα αυτά ανιχνεύονται με τη δοκιμασία Coombs.

Αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα

Οφείλεται σε αντιαιμοπεταλιακά αυτοαντισώματα που προκαλούν καταστροφή των αιμοπεταλίων.

Αυτοάνοση ουδετεροπενία

Οφείλεται σε αυτοαντισώματα απέναντι στα ουδετερόφιλα.

Κακοήθης αναιμία

Στην κακοήθη αναιμία παρατηρούνται κατά την πορεία της νόσου αυτοαντισώματα προς τον ενδογενή παράγοντα, τα οποία εμποδίζουν την σύνδεσή του με τη βιταμίνη B₁₂. Επίσης έχουν ανιχνευθεί και αντισώματα έναντι των τοιχωματικών κυττάρων του στομάχου.

Αυτοάνοση ανδρική στέρωση

Οφείλεται σε αυτοαντισώματα έναντι των αντιγόνων των σπερματοζωαρίων. Τα αυτοαντισώματα αυτά προκαλούν υπογονιμότητα μέχρι και στέρωση και ανιχνεύονται με συγκολλητινοαντίδραση και ELISA.

Βαριά Μυασθένεια

Στη βαριά μυασθένεια ανιχνεύονται αντισώματα έναντι του υποδοχέα της ακετυλοχολίνης. Τα αυτοαντισώματα αυτά συνδέονται με τον υποδοχέα της ακετυλοχολίνης με αποτέλεσμα τη διακοπή της μεταβίβασης των νευρικών ερεθισμάτων και την αδυναμία λειτουργίας των μυών.

9.4.2 Συστηματικά (μη οργανοειδικά) Αυτοάνοσα Νοσήματα

Στα συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα, οι βλάβες είναι διάχυτες και μπορεί να αφορούν όλα τα όργανα και τα συστήματα του ανθρώπινου σώματος. Τα συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα ονομάζονται αλλιώς και ρευματικά νοσήματα, ή νοσήματα του συνδετικού ιστού, ή νόσοι του κολλαγόνου, ή κολλαγονώσεις. Τα κυριότερα από αυτά είναι:

Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ)

Είναι μια χρόνια συστηματική φλεγμονώδης νόσος, που ακολουθεί μια πορεία με εξάρσεις και υφέσεις και με συμμετοχή πολλών οργάνων και συστημάτων. Προσβάλλει κυρίως τις γυναίκες. Οι κύριες κλινικές εκδηλώσεις της νόσου είναι δερματικό εξάνθημα, αρθρίτιδα ή πολυαρθραλγία, πυρετός, κακουχία. Μπορεί να υπάρχουν συμπτώματα από οποιοδήποτε σύστημα. Η προσβολή των νεφρών (σπειραματονεφρίτιδα) είναι ένα συχνό και σοβαρό χαρακτηριστικό της νόσου.

Ο ΣΕΛ παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ποικιλία αυτοαντισωμάτων απ' όλα τα αυτοάνοσα νοσήματα. Στον ορό μπορεί να ανιχνευθούν: αντιπυρηνικά αντισώματα, αντισώματα έναντι διπλής έλικας του DNA, αντι-ENA (αντι-Sm, αντι-nRNP, αντι-Ro, αντι-La), ρευματοειδής παράγοντας, ανοσοσυμπλέγματα κ.α. Τα αντισώματα έναντι διπλής έλικας DNA και τα αντι-Sm θεωρούνται χαρακτηριστικά για τον ΣΕΛ (εμφανίζονται αποκλειστικά στη νόσο αυτή και η ανίχνευσή τους βάζει τη σφραγίδα του ΣΕΛ). Στην έξαρση της νόσου παρατηρείται αύξηση των αντι-DNA αντισωμάτων και ελάττωση του συμπληρώματος του ορού.

Η νεφρική βλάβη (σπειραματονεφρίτιδα) οφείλεται στην εναπόθεση των ανοσοσυμπλεγμάτων στο νεφρό. Εκτός από τα ανοσολογικά ευρήματα, κοινό αιματολογικό εύρημα στο ΣΕΛ είναι η αναιμία. Συνήθη ευρήματα επίσης είναι η λευκοπενία και θρομβοπενία. Η ΤΚΕ είναι υψηλή σε έξαρση της νόσου.

Ρευματοειδής Αρθρίτιδα

Είναι χρόνια υποτροπιάζουσα φλεγμονώδης νόσος που εντοπίζεται κυρίως στις αρθρώσεις. Το κύριο ανοσολογικό εύρημα είναι οι ρευματοειδείς παράγοντες στον ορό και το αρθρικό υγρό και τα ελαττωμένα επίπεδα του συμπληρώματος στο αρθρικό υγρό.

Συστηματική Σκληροδερμία

Ονομάζεται αλλιώς και Σκληρόδερμα ή Προοδευτική συστηματική σκλήρυνση. Είναι χρόνια συστηματικό νόσημα που χαρακτηρίζεται από ίνωση και εκφυλιστικές αλλοιώσεις του δέρματος, των μικρών και μεγάλων αγγείων και διαταραχές πολλών εσωτερικών οργάνων (κυρίως γαστρεντερικού συστήματος, πνευμόνων, καρδιάς, νεφρών).

Σύνδρομο Sjögren

Είναι χρόνια φλεγμονώδης νόσος που χαρακτηρίζεται από ξηροστομία και κερατοεπιπεφυκίτιδα που οφείλεται σε ελαττωμένες εκκρίσεις των σιελογόνων και των δακρυϊκών αδένων.

Πολυμυοσίτιδα /Δερματομυοσίτιδα

Είναι οξεία ή χρόνια φλεγμονώδης νόσος του μυϊκού ιστού και του δέρματος. Κύριο χαρακτηριστικό της είναι η μυϊκή αδυναμία.

Μικτή Νόσος του Συνδετικού Ιστού

Είναι ένα σύνδρομο με χαρακτηριστικά σκληροδερμίας, ρευματοειδούς αρθρίτιδας, ΣΕΛ και πολυμυοσίτιδας/δερματομυοσίτιδας.

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Το ανοσιακό μας σύστημα έχει την ικανότητα να μην αντιδρά εναντίον των δικών του αντιγόνων. Αυτή η ικανότητα ονομάζεται αυτοανοχή. Εάν διασπαστεί η αυτοανοχή, ο οργανισμός οδηγείται σε αυτοανοσία. Όταν η αυτοάνοση αντίδραση ξεφύγει από τα πλαίσια της φυσιολογικής ανοσορρύθμισης, δημιουργούνται τα αυτοάνοσα νοσήματα.

Στα αυτοάνοσα νοσήματα παρατηρούνται αυτοαντισώματα και αυτοαντιδραστικά λεμφοκύτταρα. Τα αυτοάνοσα νοσήματα διακρίνονται σε οργανοειδικά (βλάβη σε ένα μόνο όργανο) και μη οργανοειδικά ή συστηματικά (βλάβη σε διάφορα όργανα του σώματος).

Τα κυριότερα αυτοαντισώματα που ανιχνεύονται στα συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα είναι τα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA) που ανιχνεύονται με τη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού και διακρίνονται σε:

1. Αντισώματα έναντι DNA με σημαντικότερα τα έναντι διπλής έλικας που είναι διαγνωστικά για τον ΣΕΛ.
2. Αντισώματα έναντι ιστονών.
3. Αντισώματα έναντι μικρών πυρηνικών και κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών (αντι- ENA). Τα κυριότερα από αυτά είναι έναντι των αντιγόνων: nRNP, Sm, Ro, La, Scl-70.

Άλλο αυτοαντίσωμα είναι ο Ρευματοειδής Παράγοντας (αντίσωμα έναντι του Fc κλάσματος της IgG ανοσοσφαιρίνης) που ανιχνεύεται κυρίως στην ρευματοειδή αρθρίτιδα και το σύνδρομο Sjögren, αλλά και σε άλλα αυτοάνοσα σε μικρότερα ποσοστά. Κύρια μέθοδος προσδιορισμού του είναι η νεφελομετρία.

Τα κυριότερα οργανοειδικά αυτοάνοσα νοσήματα είναι: η αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα (θυρεοειδίτιδα Hashimoto), ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου I (ινσουλινοεξαρτώμενος, νεανικός), η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, η αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα, η αυτοάνοση ουδετεροπενία, η κακοήθης αναιμία, η αυτοάνοση ανδρική στέρηση, η βαριά μυασθένεια, κ.α.

Τα κυριότερα συστηματικά (μη οργανοειδικά) αυτοάνοσα νοσήματα, που λέγονται αλλιώς και "ρευματικά νοσήματα" ή "νοσήματα του συνδετικού ιστού" ή "νόσοι του κολλαγόνου" ή "κολλαγονώσεις", είναι: ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ), η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η συστηματική σκληροδερμία, το σύνδρομο Sjögren, η πολυμυοσίτιδα / δερματομυοσίτιδα και η μικτή νόσος του συνδετικού ιστού.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Τι ονομάζουμε αυτοανοσία;
2. Ποιες είναι οι δυο κατηγορίες στις οποίες διακρίνονται τα αυτοάνοσα νοσήματα;
3. Ποιες είναι οι δυο κατηγορίες στις οποίες διακρίνονται τα αυτοαντισώματα;
4. Τι είναι τα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA); Με ποια μέθοδο ανιχνεύονται;
5. Σε ποια νοσήματα παρατηρούνται θετικά ANA;
6. Πώς ταξινομούνται τα ANA;
7. Ποια είναι τα σημαντικότερα αντι-DNA αντισώματα και ποια η σημασία τους;
8. Σε ποια νόσο ανιχνεύονται τα αντι-Sm αντισώματα;

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10^ο

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ - ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ IN VITRO

10.1 Γενικά

Η τεράστια εξέλιξη της επιστήμης της Ανοσολογίας κατά τις τελευταίες δεκαετίες στον τομέα της έρευνας, είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη σύγχρονων εργαστηριακών μεθόδων και την άμεση εφαρμογή τους στο κλινικό ανοσολογικό εργαστήριο.

Οι σύγχρονες αυτές μέθοδοι εφαρμογής της αντίδρασης αντιγόνου-αντισώματος, συμβάλλουν ουσιαστικά στη διερεύνηση και τη διάγνωση ενός ευρέος φάσματος νοσημάτων, όπως λοιμωδών (μικροβιακών, ιογενών, παρασιτικών, κ.λπ.), αιματολογικών, αυτοανόσων, νεοπλασματικών, ανοσοανεπαρκειών, στη διαπίστωση ιστοσυμβατότητας στις μεταμοσχεύσεις κ.α.

Από τις αντιδράσεις αντιγόνου – αντισώματος που πραγματοποιούνται στο εργαστήριο (in vitro), άλλες γίνονται ορατές διότι ακολουθούνται από δευτερεύοντα φαινόμενα (όπως σχηματισμός ιζήματος, ορατής συγκόλλησης, αιμόλυσης κ.λ.π.), άλλες όμως δεν ακολουθούνται από δευτερεύοντα φαινόμενα και για να γίνουν ορατές χρησιμοποιούμε σήμανση του αντιγόνου ή του αντισώματος με διάφορους δείκτες (όπως ένζυμα, ραδιοϊσότοπα, φθοριοχρώματα, κ.λπ.).

Το σύνολο όλων αυτών των αντιδράσεων που χρησιμοποιούνται σήμερα ευρύτατα στο κλινικό εργαστήριο περιγράφεται παρακάτω αναλυτικά, γίνεται δε και μια σύντομη αναφορά σε μεθόδους νεότερες που εφαρμόζονται και στην κλινική πράξη αλλά κυρίως σε ερευνητικά εργαστήρια, για να μπορέσει να γίνει κατανοητή η αρχή λειτουργίας τους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11^ο

ΙΖΗΜΑΤΙΝΟΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

11.1 Γενικά

Ιζηματοαντίδραση ονομάζουμε την ένωση ενός *διαλυτού* αντιγόνου με το ομόλογο αντίσωμα και το σχηματισμό ιζήματος (ορατού συμπλέγματος). Η ιζηματοαντίδραση είναι βασική ανοσολογική αντίδραση που χρησιμοποιείται ευρύτατα στο κλινικό εργαστήριο.

Η ιζηματοαντίδραση γίνεται σε δυο φάσεις:

1. Στην πρώτη φάση γίνεται η ταχεία ένωση του αντιγόνου με το αντίσωμα και ο σχηματισμός μικρών διαλυτών συμπλεγμάτων αντιγόνου-αντισώματος.

2. Στη δεύτερη φάση τα διαλυτά αυτά συμπλέγματα αντιγόνου-αντισώματος συνδέονται μεταξύ τους και σχηματίζουν μεγάλα αδιάλυτα συμπλέγματα τα οποία με την παρουσία ηλεκτρολύτη που είναι απαραίτητος στη φάση αυτή καθιζάνουν και σχηματίζουν ορατό *ίζημα*.

Τα αντισώματα που μετέχουν στις ιζηματοαντιδράσεις ονομάζονται "ιζηματίνες". Για να πραγματοποιηθεί μια ιζηματοαντίδραση πρέπει να υπάρχουν οι κατάλληλες συνθήκες PH και θερμοκρασίας, καθώς και η παρουσία ηλεκτρολύτη. Τον σημαντικότερο όμως ρόλο στο σχηματισμό του ιζήματος παίζουν οι σχετικές συγκεντρώσεις (η *αναλογία*) αντιγόνου - αντισώματος.

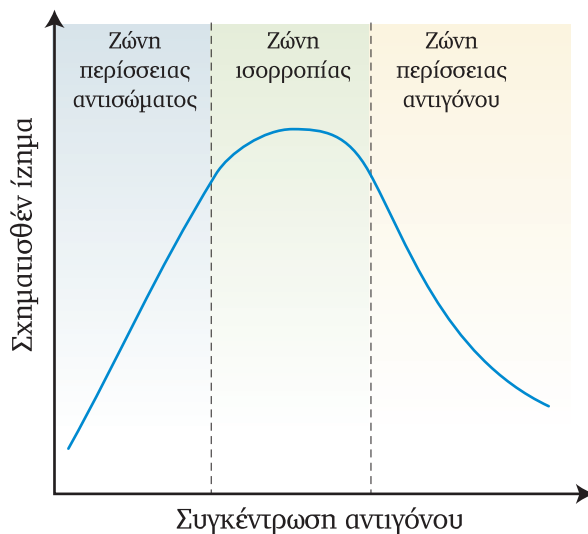
Οι ιζηματοαντιδράσεις χρησιμοποιούνται στο εργαστήριο είτε ως ποιοτικές είτε ως ποσοτικές μέθοδοι. Στις ποιοτικές, απλώς ανιχνεύουμε την ύπαρξη ενός αντισώματος ή αντιγόνου π.χ. στον ορό ενός ασθενούς, αρκεί να χρησιμοποιήσουμε το αντίστοιχο αντιγόνο ή αντίσωμα. Στις ποσοτικές, προσδιορίζουμε με ακρίβεια την ποσότητα του αντισώματος ή του αντιγόνου.

Οι ιζηματοαντιδράσεις διακρίνονται σε αυτές που γίνονται σε υγρό μέσο (υγρό περιβάλλον) και αυτές που γίνονται σε πηκτή (γέλη).

11.2 Ιζηματοαντιδράσεις σε υγρό μέσο

Η σύνδεση αντιγόνου - αντισώματος σ' ένα διάλυμα δεν είναι στατική, αλλά εξελίσσεται ανάλογα με την ποσότητα του αντιγόνου και του αντισώματος. Για να έχουμε σχηματισμό ορατού ιζήματος πρέπει να υπάρχει άριστη αναλογία αντιγόνου-αντισώματος. Σε περίπτωση περίσσειας αντισώματος ή αντιγόνου **δεν** παρατηρείται ίζημα. Ενώ στην περίπτωση ισορροπίας αντιγόνου-αντισώματος, σχηματίζεται το μεγαλύτερο δίκτυο αδιάλυτων συμπλεγμάτων και έχουμε την εμφάνιση άφθονου ιζήματος.

Η διαδικασία αυτή μελετάται και περιγράφεται στην καμπύλη Heidelberger-Kendall (καμπύλη ποσοτικής ιζηματοαντίδρασης), η οποία δείχνει την ποσότητα του ιζήματος που σχηματίζεται σε υγρό μέσο, ανάλογα με τις ποσότητες αντιγόνου αντισώματος. (Σχήμα 11.1)



Σχήμα 11.1 Καμπύλη ποσοτικής ιζηματινοαντίδρασης (Heidelberger-Kendall).

Στην καμπύλη αυτή διακρίνονται τρεις ζώνες:

- α) η ζώνη περίσσειας του αντισώματος (απουσία ιζήματος)
- β) η ζώνη ισορροπίας αντιγόνου-αντισώματος (άριστες συνθήκες για σχηματισμό άφθονου ιζήματος)
- και
- γ) η ζώνη περίσσειας του αντιγόνου (απουσία ιζήματος).

Δοκιμή του δακτύλιου (ring test)

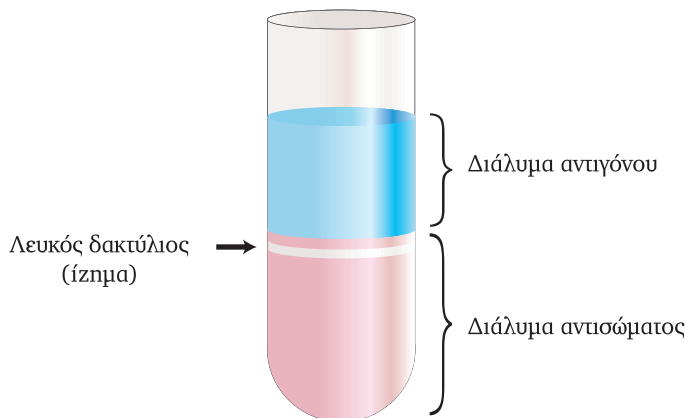
Είναι η πιο απλή μορφή της ιζηματινοαντίδρασης. (Σχήμα 11.2) Είναι ποιοτική μέθοδος και γίνεται σε λεπτό σωλήνα ως εξής:

1. Στον πυθμένα λεπτού σωλήνα τοποθετείται το διάλυμα του αντισώματος.
2. Στη συνέχεια, πάνω σε αυτό, επιστιβάζεται με προσοχή το διάλυμα του αντιγόνου.

Εάν το αντίσωμα είναι ειδικό για το αντιγόνο, στο σημείο επαφής αντιγόνου - αντισώματος σχηματίζεται λευκός δακτύλιος (ορατό ίζημα) που οφείλεται στο σχηματισμό αδιάλυτων συμπλεγμάτων αντιγόνου - αντισώματος.

Η μέθοδος είναι ταχεία και έχει χρησιμοποιηθεί για γρήγορη ανίχνευση αντιγόνου ή αντισώματος σε βιολογικά υγρά, όπως για αναζήτηση αντιγόνων πνευμονιοκόκκου στο ΕΝΥ με τη χρήση ειδικών αντιορών σε μηνιγγίτιδα από πνευμονιόκοκκο. Έχει χρησιμοποιηθεί επίσης στη μικροβιολογία για ταξινόμηση β-αιμολυτικών στρεπτόκοκκων.

Από τις μεθόδους ιζηματινοαντίδρασης σε υγρό μέσο, αυτή που χρησιμοποιείται ευρύτατα σήμερα στο ανοσολογικό εργαστήριο είναι η **Νεφελομετρία** η οποία έχει αντικαταστήσει πολλές άλλες μεθόδους στη σύγχρονη διαγνωστική πράξη. (Η μέθοδος περιγράφεται στο 15° κεφάλαιο: ΝΕΟΤΕΡΟΙ ΜΕΘΟΔΟΙ).



Σχήμα 11.2 Δοκιμή του δακτυλίου (ring test).

11.3 Ιζηματοαντιδράσεις σε πηκτή (γέλη)

Κατά τις ιζηματοαντιδράσεις σε πηκτή (γέλη-gel) όπως άγαρ, αгарόζη, το αντιγόνο και το αντίσωμα τοποθετούνται μέσα σε ημίρευστο υλικό και καθώς το ένα διαχέεται προς το άλλο, στο σημείο όπου θα συναντηθούν σε *άριστη αναλογία*, σχηματίζεται θολερή γραμμή (γραμμή καθίζησης) που οφείλεται στο σχηματισμό αδιάλυτων συμπλεγμάτων αντιγόνου-αντισώματος.

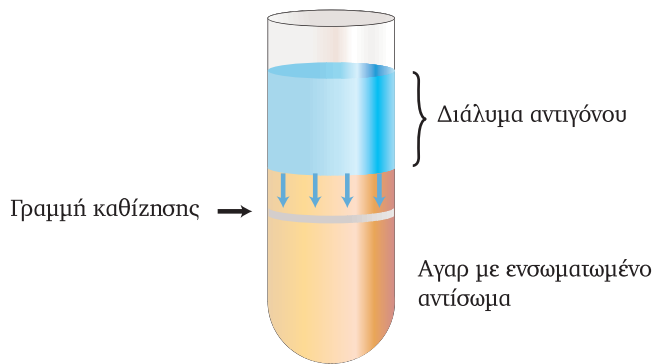
Σε ορισμένες περιπτώσεις, μετά την αντίδραση μπορεί να χρησιμοποιηθεί ειδική χρωστική για πρωτεΐνες ώστε να είναι πιο εμφανής η γραμμή καθίζησης. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται (πηκτή- άγαρ, διαλύματα αντιγόνου κ.λ.π.) υπάρχουν στο εμπόριο και είτε είναι έτοιμα προς χρήση, είτε παρασκευάζονται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Διακρίνουμε τις εξής εφαρμογές της ιζηματοαντίδρασης σε πηκτή (γέλη):

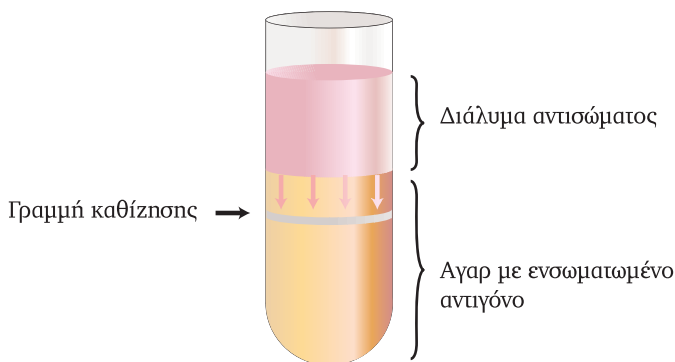
α) Απλή διάχυση προς μία κατεύθυνση

1. Μέσα σε ένα σωληνάριο τοποθετείται άγαρ, στο οποίο προηγουμένως έχει *ενσωματωθεί* το διάλυμα του αντισώματος. (Σχήμα 11.3)
2. Στη συνέχεια, πάνω στη στιβάδα του άγαρ επιστιβάζεται το διάλυμα του αντιγόνου. Το αντιγόνο διαχέεται στη στιβάδα του άγαρ που βρίσκεται από κάτω του και αντιδρά με το ενσωματωμένο αντίσωμα. Η διάχυση αυτή του αντιγόνου έχει ως αποτέλεσμα τη βαθμιαία ελάττωση της πυκνότητάς του και στο σημείο που το αντιγόνο και το αντίσωμα θα βρεθούν υπό *άριστη αναλογία* σχηματίζεται ίζημα που φαίνεται σαν θολερή γραμμή (γραμμή καθίζησης).

Η μέθοδος μπορεί να πραγματοποιηθεί και αντίστροφα (Σχήμα 11.4), δηλαδή να ενσωματωθεί το διάλυμα του αντιγόνου μέσα στο άγαρ και στη συνέχεια να επιστιβάσουμε το διάλυμα του αντισώματος. Τότε το αντίσωμα θα διαχυθεί στο άγαρ και θα αντιδράσει με το ενσωματωμένο αντιγόνο ώστε να σχηματίσει τη γραμμή καθίζησης στο σημείο της *άριστης αναλογίας*.



**Σχήμα 11.3: Απλή διάχυση προς μια κατεύθυνση
(Άγαρ με ενσωματωμένο αντίσωμα).**

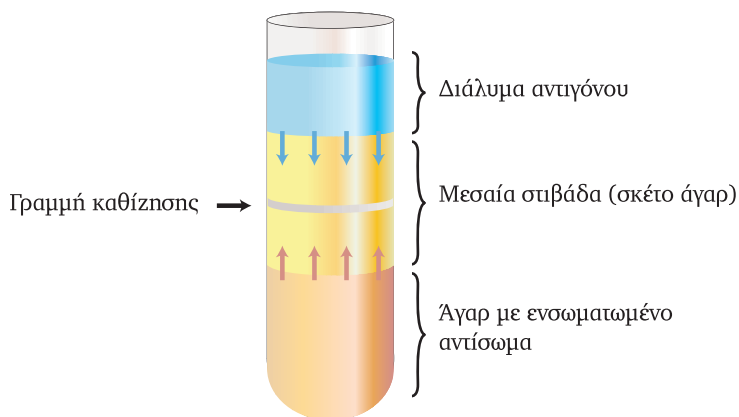


**Σχήμα 11.4: Απλή διάχυση προς μια κατεύθυνση
(Άγαρ με ενσωματωμένο αντιγόνο)**

β) Διπλή διάχυση προς μία κατεύθυνση

1. Μέσα σε ένα σωληνάριο τοποθετείται άγαρ στο οποίο προηγουμένως έχει ενσωματωθεί το διάλυμα του αντισώματος. (Σχήμα 11.5)
2. Από πάνω τοποθετείται μια δεύτερη στιβάδα με σκέτο άγαρ.
3. Τέλος επιστιβάζεται το διάλυμα του αντιγόνου πάνω στην επιφάνεια του σκέτου άγαρ.

Το αντίσωμα και το αντιγόνο διαχέονται ταυτόχρονα, το ένα προς τα πάνω, το άλλο προς τα κάτω και συναντώνται στη μεσαία στιβάδα άγαρ. Στο σημείο που θα συναντηθούν σε άριστη αναλογία θα σχηματίσουν τη γραμμή καθίζησης.

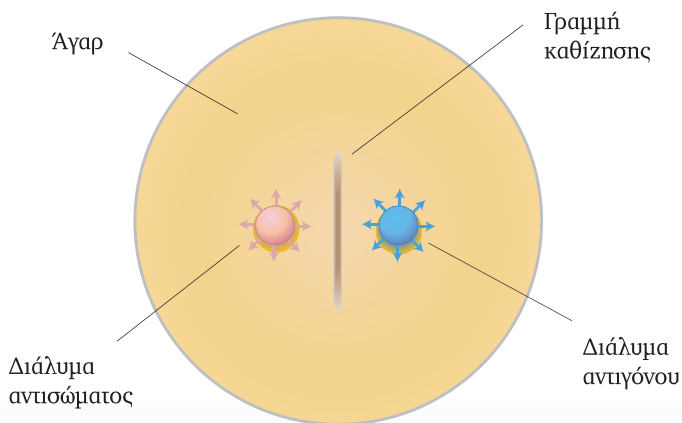


Σχήμα 11.5 Διπλή διάχυση προς μια κατεύθυνση.

γ) Διπλή διάχυση προς δυο κατευθύνσεις (Ouchterlony)

Η μέθοδος γίνεται σε τρυβλίο ή σε γυάλινη πλάκα.

1. Το τρυβλίο ή η πλάκα καλύπτεται με άγαρ.
2. Πάνω στο άγαρ ανοίγονται δυο οπές. Στη μια τοποθετείται το διάλυμα του αντισώματος και στην άλλη το διάλυμα του αντιγόνου. (Σχήμα 11.6) Το αντίσωμα και το αντιγόνο διαχέονται από τις οπές στις οποίες βρίσκονται. Στο σημείο που θα συναντηθούν σε άριστη αναλογία ανάμεσα στις δυο οπές, θα σχηματιστεί η γραμμή καθίζησης.



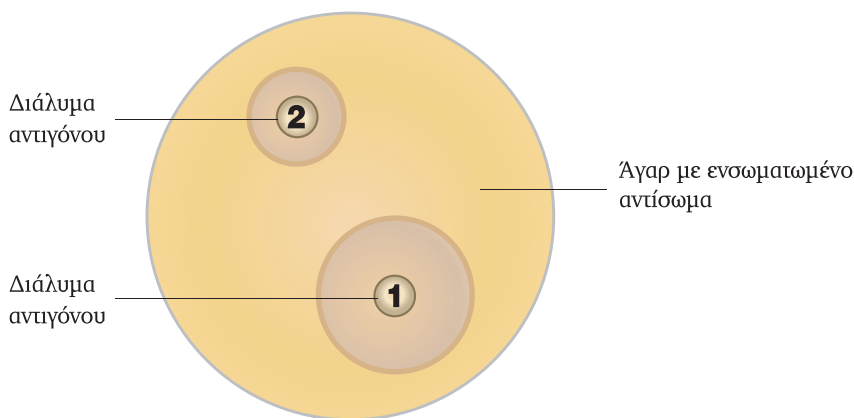
Σχήμα 11.6 Διπλή διάχυση προς δυο κατευθύνσεις (Ouchterlony).

Η μέθοδος εφαρμόζεται συχνά για την ανίχνευση ειδικών αντι-ENA αντισωμάτων σε ασθενείς με νοσήματα του κολλαγόνου (αυτοάνοσα νοσήματα), καθώς και στη μικροβιολογία για ανίχνευση αντισωμάτων έναντι μικροβίων. Τα αντιδραστήρια υπάρχουν στο εμπόριο και η εξέταση γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες.

δ) Κυκλοτερής ανοσοδιάχυση (Mancini)

1. Πάνω σε τρυβλίο ή πλάκα επιστρώνεται άγαρ μέσα στο οποίο έχει προηγουμένως ενσωματωθεί διάλυμα αντισώματος. Έτσι σε ολόκληρη την επιφάνεια του άγαρ υπάρχει ενσωματωμένη η ίδια ποσότητα αντισώματος. (Σχήμα 11.7)
2. Στη συνέχεια, πάνω στο άγαρ ανοίγεται οπή, μέσα στην οποία τοποθετούμε το διάλυμα του αντιγόνου. Το αντιγόνο διαχέεται γύρω-γύρω από την οπή και ενώνεται με το αντίσωμα που είναι ενσωματωμένο στο άγαρ.

Κοντά στην οπή το αντιγόνο είναι σε μεγάλη συγκέντρωση (περίσσεια) επομένως δεν σχηματίζεται ίζημα. Όσο απομακρύνεται από την οπή, η πυκνότητά του ελαττώνεται και στο σημείο που θα βρεθεί σε άριστη αναλογία με το αντίσωμα σχηματίζεται ίζημα το οποίο εμφανίζεται με τη μορφή δακτύλιου (δακτύλιος καθίζησης). Ο δακτύλιος αυτός έχει κέντρο την οπή και η διάμέτρός του είναι ανάλογη με την ποσότητα του αντιγόνου που τοποθετήθηκε μέσα στην οπή. Όσο μεγαλύτερη είναι η ποσότητα του αντιγόνου, τόσο μεγαλύτερος είναι ο δακτύλιος.



Σχήμα 11.7 Κυκλοτερής ανοσοδιάχυση (Mancini)

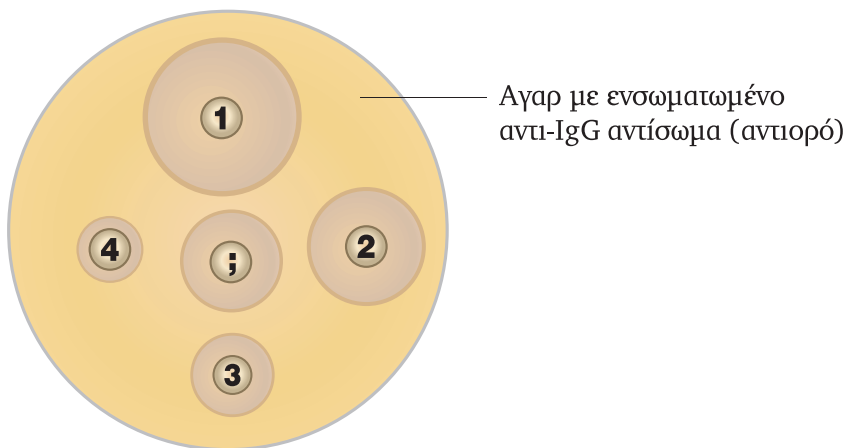
Στις οπές 1 και 2 τοποθετήθηκαν διαλύματα διαφορετικής πυκνότητας (διαφορετικής ποσότητας) του ίδιου αντιγόνου. Από τη διάμετρο των σχηματισθέντων δακτυλίων συμπεραίνουμε ότι η πυκνότητα του αντιγόνου στην οπή 1 είναι μεγαλύτερη από την πυκνότητα του αντιγόνου στην οπή 2.

Η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ανοσοσφαιρινών **IgG**, **IgA**, **IgM**. Η τεχνική της μεθόδου είναι απλή: Για κάθε μια από τις τρεις ανοσοσφαιρίνες χρησιμοποιείται πλάκα (ή τρυβλίο) στην επιφάνεια της οποίας υπάρχει άγαρ με ενσωματωμένο τον αντίστοιχο αντιορό (δηλαδή ενσωματωμένο αντι-IgG, αντι-IgA ή αντι-IgM αντίσωμα αντίστοιχα).

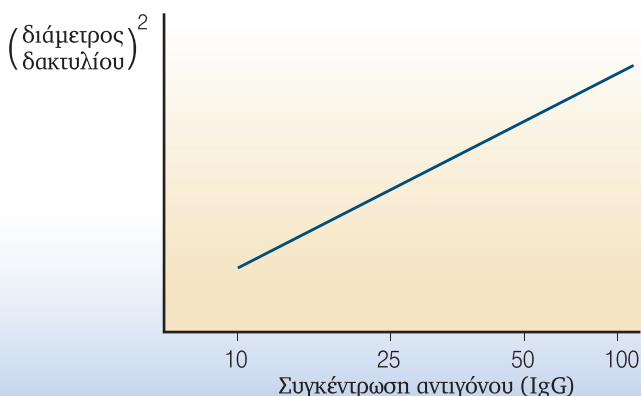
Περιγραφή μεθόδου μέτρησης της IgG: (Σχήμα 11.8)

1. Σ' ένα τρυβλίο επιστρώνουμε άγαρ μέσα στο οποίο έχει ενσωματωθεί αντίσωμα έναντι της IgG (IgG-αντιορός).
2. Στη συνέχεια, ανοίγουμε οπές πάνω στο άγαρ. Στην μια οπή τοποθετούμε τον ορό αίματος του εξεταζόμενου ατόμου και στις άλλες οπές τοποθετούμε διαδοχικές αραιώσεις μιας γνωστής (standard) ποσότητας IgG που θα χρησιμοποιηθεί για τις συγκρίσεις με το σχηματισμό καμπύλης αναφοράς (καμπύλης standard).

Αφήνουμε τους ορούς που περιέχονται στις οπές να διαχυθούν μέσα στο άγαρ. Η ανοσοσφαιρίνη IgG που περιέχεται στον εξεταζόμενο ορό δρα σαν αντιγόνο, και καθώς διαχέεται γύρω από την οπή, αντιδρά με το ενσωματωμένο στο άγαρ αντι-IgG αντίσωμα, σχηματίζοντας δακτύλιο καθίζησης γύρω από την οπή. Δακτύλιους καθίζησης θα σχηματίσουν και οι αραιώσεις (standards) με τις γνωστές περιεκτικότητες σε IgG που τοποθετήσαμε στις άλλες οπές. Συγκρίνοντας τώρα τη διάμετρο του δακτυλίου του εξεταζόμενου δείγματος με τις αντίστοιχες των standards μπορούμε να υπολογίσουμε την περιεκτικότητα σε IgG του ορού τον οποίο εξετάζουμε. Κάνουμε δηλαδή μια καμπύλη αναφοράς (καμπύλη standard) βάσει της οποίας υπολογίζουμε την ποσότητα IgG του άγνωστου δείγματος. (Σχήμα 11.9)



Σχήμα 11.8: Μέτρηση της IgG με τη μέθοδο Mancini:
Στις οπές 1,2,3,4, τοποθετήθηκαν διαδοχικές αραιώσεις γνωστής ποσότητας IgG (standards). Στη μεσαία οπή τοποθετήθηκε ο εξεταζόμενος ορός του οποίου την IgG θέλουμε να μετρήσουμε.



Σχήμα 11.9: Καμπύλη αναφοράς για τη μέτρηση της IgG του εξεταζόμενου δείγματος βάσει των διαμέτρων των δακτυλίων των standards (διαδοχικών αραιώσεων γνωστής ποσότητας IgG).

Με τον ίδιο τρόπο προσδιορίζουμε τις ανοσοσφαιρίνες IgA και IgM, χρησιμοποιώντας δυο ξεχωριστά τρυβλία με ενσωματωμένο αντι-IgA ή αντι-IgM αντίσωμα (αντιορό) αντίστοιχα. Τα τρυβλία με τους ενσωματωμένους αντιορούς τα αγοράζουμε έτοιμα από το εμπόριο ή τα παρασκευάζουμε εμείς στο εργαστήριο ως εξής: Αναμειγνύουμε το λυωμένο άγαρ με το διάλυμα του αντισώματος (αντιορού), το επιστρώνουμε στο τρυβλίο και όταν πήξει ανοίγουμε τις οπές όπου θα τοποθετήσουμε τους εξεταστέους ορούς και τα standards.

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ανοσοσφαιρινών, των παραγόντων του συμπληρώματος κ.α, αλλά σήμερα έχει αντικατασταθεί από τη νεφελομετρία, η οποία είναι πιο ακριβής, πιο ευαίσθητη και πιο γρήγορη.

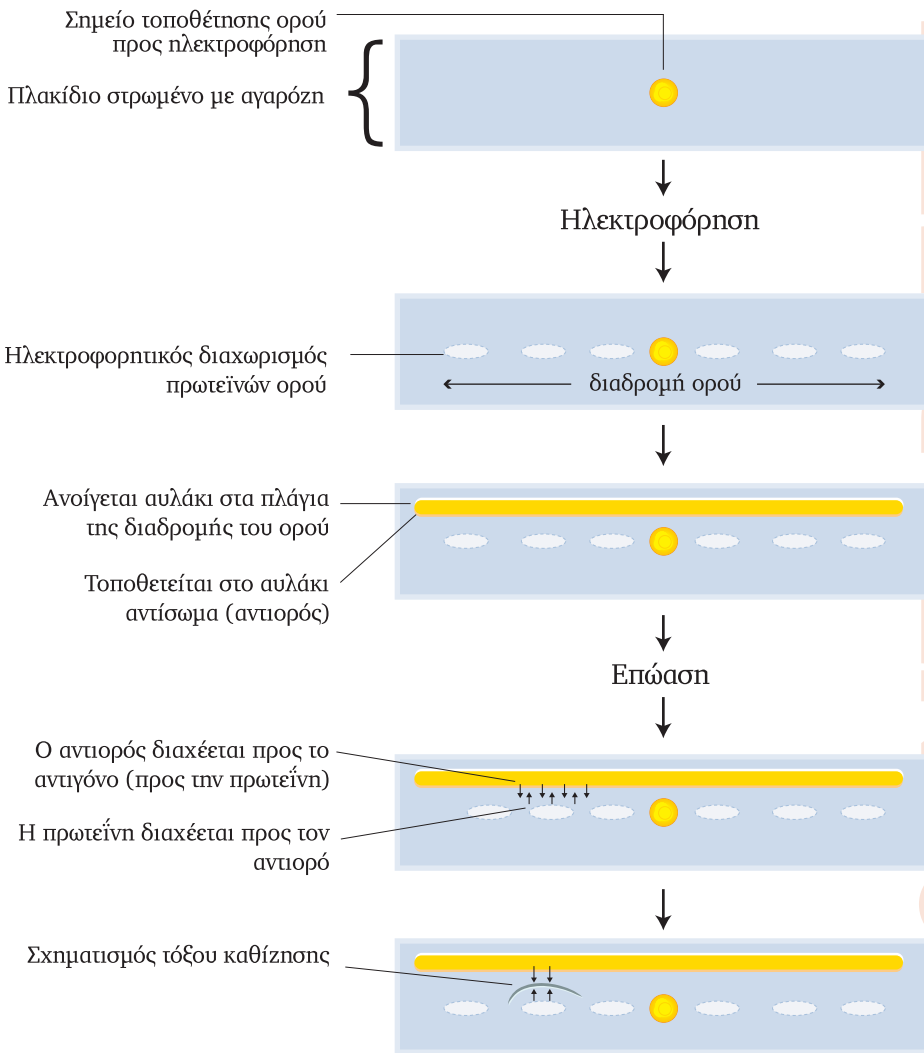
ε) Ανοσοηλεκτροφόρηση

Η μέθοδος συνδυάζει τον ηλεκτροφορητικό διαχωρισμό των πρωτεϊνών με την ανοσολογική τους αναγνώριση από αντιορούς ώστε να γίνει ταυτοποίηση και έλεγχός τους. Με αυτήν μπορούμε να ανιχνεύσουμε την ύπαρξη *μονοκλωνικής πρωτεΐνης* στον ορό ή σε άλλα βιολογικά υγρά (π.χ. ούρα) του ασθενούς.

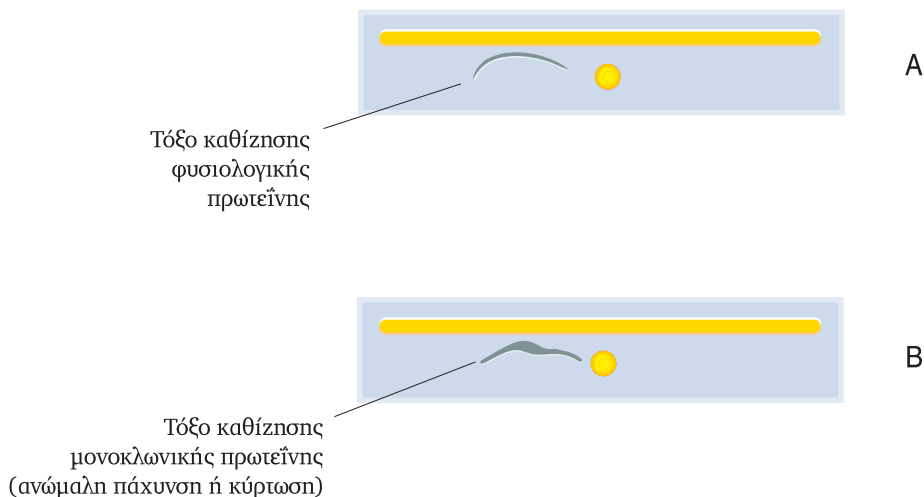
1. Πρώτα γίνεται η ηλεκτροφόρηση του ορού (ή άλλων βιολογικών υγρών) πάνω σε αгарόζη κατά την οποία οι πρωτεΐνες χωρίζονται ανάλογα με την ηλεκτροφορητική τους κινητικότητα.
2. Στη συνέχεια, μετά τον ηλεκτροφορητικό διαχωρισμό του ορού, ανοίγεται αυλάκι στο ένα ή στα δυο πλάγια της διαδρομής του ορού, παράλληλα προς την διαδρομή αυτή. Στο αυλάκι αυτό τοποθετείται αντίσωμα (αντιορός) έναντι της πρωτεΐνης την οποία θέλουμε να ελέγξουμε π.χ. αντι-IgG ή αντι-IgA ή αντι-IgM κ.λπ. (Σχήμα 11.10α)

Κατά την επώαση που ακολουθεί, το αντίσωμα (αντιορός) και το αντιγόνο (πρωτεΐνη) διαχέονται το ένα προς το άλλο και στο σημείο συνάντησής τους σε άριστη αναλογία σχηματίζουν τόξο καθίζησης το οποίο γίνεται εμφανές με τη χρήση κατάλληλης χρωστικής.

Με αυτό τον τρόπο ελέγχουμε το τόξο καθίζησης που θα σχηματίσει κάθε μια ανοσοσφαιρίνη με το αντίστοιχο αντίσωμά της. Το σχήμα και η θέση των τόξων αυτών συγκρίνονται με τόξα φυσιολογικών μαρτύρων και μας δίνουν πληροφορίες για ύπαρξη τυχόν παθολογικών πρωτεϊνών (Σχήμα 11.10β). Π.χ. ύπαρξη ανώμαλου τόξου IgG (τόξου με ανώμαλη κύρτωση ή πάχυνση) υποδεικνύει την ύπαρξη μη φυσιολογικής IgG ανοσοσφαιρίνης (δηλαδή μιας *μονοκλωνικής* IgG ανοσοσφαιρίνης). Ελέγχοντας και τις τρεις τάξεις των ανοσοσφαιρινών IgG, IgA, IgM, καθώς και τις ελαφρές τους αλυσίδες κ και λ, με τους αντίστοιχους αντιορούς, μπορούμε να εντοπίσουμε μια μονοκλωνική πρωτεΐνη και να καθορίσουμε τον *τύπο* στον οποίο ανήκει (π.χ. ανεύρεση *μονοκλωνικής* πρωτεΐνης *τύπου* IgA κ). Υπάρχουν περιπτώσεις κατά τις οποίες θα χρειαστεί να ελέγξουμε και τις IgD και IgE ανοσοσφαιρίνες, για τη σπάνια περίπτωση ύπαρξης μονοκλωνικής σε μια από αυτές τις τάξεις. Επίσης μπορεί να ανευρεθεί μονοκλωνική πρωτεΐνη τύπου μόνο κ ή λ (ελαφρών αλυσίδων), όπως συμβαίνει στα ούρα σε λεύκωμα Bence Jones.



Σχήμα 11.10α Ανοσοηλεκτροφόρηση – Στάδια.



Σχήμα 11.10β Ανοσοηλεκτροφόρηση

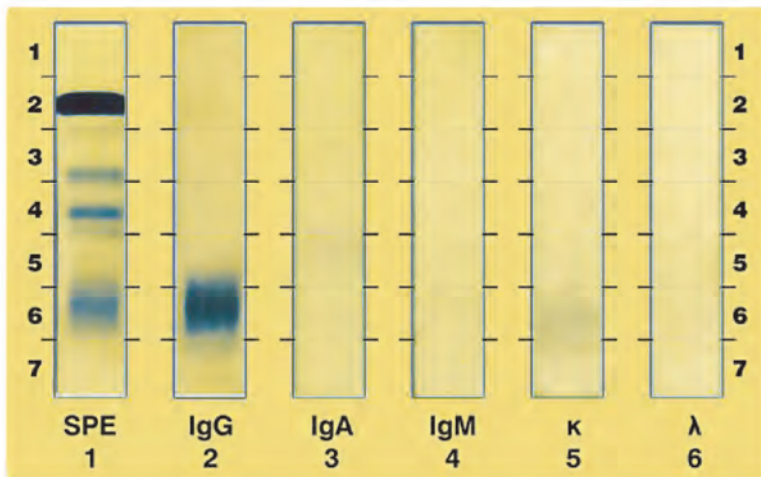
A) παράδειγμα τόξου καθίζησης φυσιολογικής πρωτεΐνης

B) παράδειγμα τόξου καθίζησης μονοκλωνικής πρωτεΐνης

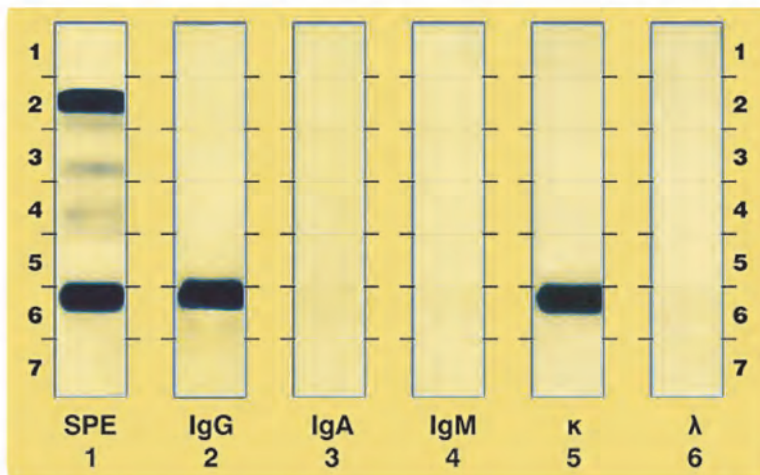
Σήμερα, στην καθημερινή εργαστηριακή πράξη, η ανοσοηλεκτροφόρηση έχει σχεδόν αντικατασταθεί από την **Ανοσοκαθήλωση** η οποία είναι μια τροποποίηση της ανοσοηλεκτροφόρησης. Σ' αυτήν γίνεται ηλεκτροφόρηση του ορού και στη συνέχεια απλώνεται αντιορός π.χ. αντι-IgG ή αντι-IgA ή αντι-IgM, κ.λπ., πάνω σε όλη την επιφάνεια της ηλεκτροφόρησης. Κατά την επώαση που ακολουθεί, ο αντιορός (αντίσωμα) ενώνεται με την αντίστοιχη πρωτεΐνη (αντιγόνο) που υπάρχει από κάτω και μας δίνει γραμμή καθίζησης (ζώνη) που γίνεται εμφανής με τη χρήση χρωστικής. Από τη μορφή της γραμμής καθίζησης μπορούμε να βγάλουμε συμπεράσματα για την ανοσοσφαιρίνη, αν είναι δηλαδή φυσιολογική ή μονοκλωνική. (Φωτογραφίες 11.1α και 11.1β) Ύπαρξη στενής και έντονης ζώνης είναι ένδειξη μονοκλωνικής πρωτεΐνης.

Η ανοσοκαθήλωση πλεονεκτεί έναντι της ανοσοηλεκτροφόρησης γιατί μας δίνει πιο σαφή εικόνα, είναι περισσότερο ευαίσθητη, μπορεί να βρει περισσότερες από μια μονοκλωνικές, εντοπίζει μονοκλωνικές πρωτεΐνες ακόμα και όταν καλύπτονται από άλλες πρωτεΐνες πράγμα που δεν μπορεί η ανοσοηλεκτροφόρηση, είναι πιο αποτελεσματική στην ανίχνευση και τον χαρακτηρισμό ελαφρών αλυσίδων στον ορό και έχει σχεδόν αντικαταστήσει την ανοσοηλεκτροφόρηση στην καθημερινή εργαστηριακή πράξη.

Τα αντιδραστήρια της ανοσοηλεκτροφόρησης και ανοσοκαθήλωσης προσφέρονται έτοιμα στο εμπόριο και οι εξετάσεις γίνονται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.



Φωτογραφία 11.1.α Ανοσοκαθήλωση φυσιολογικού ορού
 Στην πρώτη στήλη (SPE) φαίνεται η εικόνα ηλεκτροφόρησης του ορού (SPE: serum protein electrophoresis). Στις στήλες 2-6 φαίνεται η εικόνα με τους αντίστοιχους αντιορούς (αντι-IgG, αντι-IgA, αντι-IgM, αντι-κ, αντι-λ). Δεν παρατηρείται μονοκλωνική ζώνη.



Φωτογραφία 11.1.β Ανοσοκαθήλωση ορού ασθενούς με πολλαπλό μυέλωμα.
 Παρατηρείται μονοκλωνική πρωτεΐνη τύπου IgGκ (ζώνη έντονη και στενή με τον αντι-IgG και αντι-κ αντιορό).
 Αυτή η ζώνη της μονοκλωνικής πρωτεΐνης φαίνεται και στη στήλη 1 (SPE) δηλαδή στην ηλεκτροφόρηση του ορού.

Αξιολόγηση του αποτελέσματος:

Η ανίχνευση μονοκλωνικής πρωτεΐνης (ή παραπρωτεΐνης όπως ονομάζεται), παρατηρείται στις λεγόμενες παραπρωτεΐναιμίες (μονοκλωνικές γαμμαπάθειες). Οι παραπρωτεΐναιμίες μπορεί να είναι είτε α) κακοήθεις (όπως το πολλαπλό μυέλωμα, η μακροσφαιριναιμία Waldenström, κ.α.), είτε β) ακαθόριστης σημασίας (ανίχνευση μονοκλωνικής πρωτεΐνης σε άτομα συνήθως μεγάλης ηλικίας χωρίς όμως άλλα ευρήματα ή κλινικές εκδηλώσεις που χρειάζονται παρακολούθηση επί μακρό χρονικό διάστημα μήπως εξελιχθούν σε πολλαπλό μυέλωμα ή άλλη κακοήγη παραπρωτεΐναιμία) είτε γ) δευτεροπαθείς (ανίχνευση μονοκλωνικής πρωτεΐνης σε διάφορα άλλα νοσήματα, όπως σε χρόνια λοιμώδη νοσήματα, αυτοάνοσα νοσήματα, διάφορα νεοπλασμάτα κ.α.).

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Ιζηματοαντίδραση ονομάζεται η ένωση ενός διαλυτού αντιγόνου με το ομόλογο αντίσωμα και ο σχηματισμός ιζήματος (ορατού συμπλέγματος).

Για την πραγματοποίηση μιας ιζηματοαντίδρασης πρέπει να υπάρχουν οι κατάλληλες συνθήκες ΡΗ και θερμοκρασίας καθώς και η παρουσία ηλεκτρολύτη. Ο σχηματισμός όμως του ιζήματος εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις σχετικές συγκεντρώσεις (την αναλογία) αντιγόνου και αντισώματος: για να υπάρξει ορατό ίζημα πρέπει να υπάρχει άριστη αναλογία αντιγόνου-αντισώματος.

Οι ιζηματοαντιδράσεις μπορεί να είναι ποιοτικές ή ποσοτικές. Διακρίνονται σε αυτές που γίνονται σε υγρό μέσο και σε αυτές που γίνονται σε πηκτή (γέλη). Στις ιζηματοαντιδράσεις που γίνονται σε υγρό μέσο ανήκουν η δοκιμή του δακτυλίου και η νεφελομετρία. Στις ιζηματοαντιδράσεις που γίνονται σε πηκτή ανήκουν: η απλή διάχυση προς μια κατεύθυνση, η διπλή διάχυση προς μια κατεύθυνση, η διπλή διάχυση προς δυο κατευθύνσεις (Ouchterlony), η κυκλοτερής ανοσοδιάχυση (Mancini), η ανοσοηλεκτροφόρηση και η ανοσοκαθήλωση.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Τι είναι ιζηματοαντίδραση;
2. Ποιες είναι οι φάσεις μιας ιζηματοαντίδρασης;
3. Ποια είναι η απαραίτητη προϋπόθεση για το σχηματισμό ορατού ιζήματος σε μια ιζηματοαντίδραση;
4. Ποιες ιζηματοαντιδράσεις γίνονται σε υγρό μέσο;
5. Ποιες ιζηματοαντιδράσεις γίνονται σε πηκτή (γέλη);
6. Πώς γίνεται η απλή διάχυση προς μια κατεύθυνση;
7. Πώς γίνεται η διπλή διάχυση προς μια κατεύθυνση;
8. Πώς γίνεται η διπλή διάχυση προς δυο κατευθύνσεις (Ouchterlony);
9. Ποιες εφαρμογές της Ouchterlony γνωρίζετε;
10. Πώς γίνεται η κυκλοτερής ανοσοδιάχυση (Mancini);
11. Περιγράψτε τη μέτρηση της IgG με τη μέθοδο Mancini.
12. Πώς γίνεται η ανοσοηλεκτροφόρηση;
13. Τι ανιχνεύουμε με την ανοσοηλεκτροφόρηση;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12°

ΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΝΟΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

12.1 Γενικά

Συγκολλητινοαντίδραση ονομάζουμε την ένωση ενός *σωματιδιακού* αντιγόνου με το ομόλογο αντίσωμα και το σχηματισμό κροκίδων (συγκόλλησης). Η συγκόλληση αυτή γίνεται ορατή είτε με γυμνό μάτι, είτε με μεγεθυντικό φακό είτε στο μικροσκόπιο.

Η συγκόλληση διακρίνεται σε: α) άμεση και β) έμμεση (ή παθητική).

Στην άμεση συγκόλληση το αντιγόνο *βρίσκεται πάνω στην επιφάνεια* των κυττάρων (είναι δηλαδή *φυσικό επιφανειακό* αντιγόνο) όπως είναι τα αντιγόνα των ομάδων αίματος που βρίσκονται πάνω στα ερυθρά αιμοσφαίρια, καθώς και τα διάφορα αντιγόνα των μικροβίων που βρίσκονται πάνω στο μικροβιακό κύτταρο. Κλασικά παραδείγματα εφαρμογών της άμεσης συγκόλλησης είναι ο προσδιορισμός των ομάδων και υποομάδων του αίματος (δοκιμασίες αιμοσυγκόλλησης) και οι δοκιμασίες Widal και Wright (δοκιμασίες μικροβιακής συγκόλλησης για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι μικροβίων).

Στην έμμεση (ή παθητική) συγκόλληση το αντιγόνο *έχει προσροφηθεί* πάνω στην επιφάνεια σωματιδίων κατόπιν ειδικής επεξεργασίας. Δηλαδή το αντιγόνο δεν υπήρχε εξ αρχής πάνω στο σωματίδιο (δεν ήταν *φυσικό* αντιγόνο όπως στην άμεση συγκόλληση), αλλά *προσροφήθηκε* (προσκολλήθηκε) πάνω στην επιφάνεια του σωματιδίου με ειδική επεξεργασία. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται αδρανή σωματίδια όπως είναι τα σωματίδια latex, τα σωματίδια bentonite, καθώς και τα ερυθρά αιμοσφαίρια, στην επιφάνεια των οποίων έχουν προσροφηθεί διάφορα αντιγόνα. Παρουσία των αντίστοιχων αντισωμάτων τα σωματίδια αυτά συγκολλώνται όπως και στην άμεση συγκόλληση. Όταν χρησιμοποιούνται σωματίδια latex, η δοκιμασία έμμεσης συγκόλλησης ονομάζεται "συγκόλληση latex". Όταν χρησιμοποιούνται ερυθρά αιμοσφαίρια, η δοκιμασία έμμεσης συγκόλλησης ονομάζεται "παθητική αιμοσυγκόλληση".

Ερμηνεία - Φάσεις συγκολλητινοαντίδρασης:

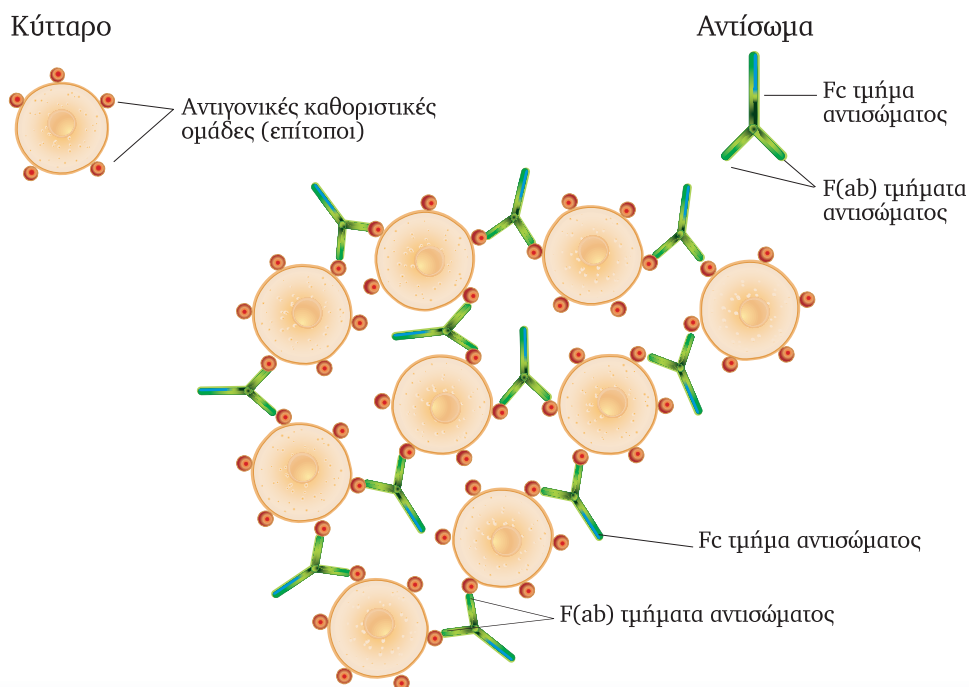
Τα σωματίδια σε ένα εναιώρημα απωθούνται μεταξύ τους λόγω του αρνητικού φορτίου που φέρουν στην επιφάνειά τους (ηλεκτροστατικές απωθητικές δυνάμεις). Εάν προστεθούν τα ομόλογα αντισώματα, μειώνονται τα αρνητικά φορτία και τα σωματίδια συμπλησιάζουν μεταξύ τους, γεγονός που εμφανίζεται ως συγκόλληση. Στην συγκολλητινοαντίδραση λοιπόν, σωματίδια (ή κύτταρα) που στην επιφάνειά τους φέρουν αντιγόνα, παρουσία των ομόλογων αντισωμάτων συμπλησιάζουν και συγκολλώνται σε ομάδες. Τα αντισώματα αυτά που προκαλούν συγκόλληση ονομάζονται "συγκολλητίνες".

Η συγκολλητινοαντίδραση γίνεται σε δυο φάσεις: Στην πρώτη φάση γίνεται η αναγνώριση του αντιγόνου από το αντίσωμα και το αντίσωμα ενώνεται με τις καθοριστικές αντιγονικές ομάδες (επιτόπους) που βρίσκονται πάνω στην επιφάνεια του κυττάρου (σωματιδίου). Στη δεύτερη φάση τα κύτταρα που έχουν

ενωθεί με τα αντισώματα συμπλησιάζουν και συγκολλώνται μεταξύ τους σχηματίζοντας κροκίδες (ορατή συγκόλληση). Οι κροκίδες οφείλονται στο σχηματισμό δικτυωτού πλέγματος μεταξύ των κυττάρων και των αντισωμάτων. (Σχήμα 12.1) Τα μόρια δηλαδή των αντισωμάτων χρησιμεύουν σαν γέφυρες που ενώνουν τα κύτταρα μεταξύ τους και έτσι σχηματίζονται μεγάλα αθροίσματα κυττάρων που γίνονται ορατά με τη μορφή κροκίδων.

Προϋποθέσεις για τη δημιουργία συγκόλλησης:

Για να γίνει συγκόλληση των σωματιδίων (ή κυττάρων) με ένα αντίσωμα, πρέπει το αντίσωμα αυτό να έχει πιο μεγάλη ισχύ για σύνδεση από τις απωθητικές δυνάμεις μεταξύ των σωματιδίων, έτσι ώστε να μπορεί να τις εξουδετερώσει και να συνδέσει τα σωματίδια μεταξύ τους. Έτσι εξηγείται γιατί η IgM εξαιτίας της πενταμερούς δομής της και της μεγαλύτερης ισχύος για σύνδεση σε σχέση με την IgG είναι πιο αποτελεσματικός παράγοντας συγκόλλησης. Η IgM είναι περίπου 750 φορές ισχυρότερη συγκολλητίνη σε σχέση με την IgG.



Σχήμα 12.1: Σχηματισμός δικτυωτού πλέγματος στην συγκολλητινοαντίδραση.

Απαραίτητες προϋποθέσεις για τη δημιουργία συγκόλλησης είναι η κατάλληλη αναλογία αντιγόνου-αντισώματος καθώς και η παρουσία ηλεκτρολύτη. Αν δεν τηρούνται αυτές οι προϋποθέσεις, η πρώτη φάση δεν ακολουθείται από τη δεύτερη και η αντίδραση δεν ολοκληρώνεται (δεν γίνεται ορατή συγκόλληση). Η συγκόλληση μπορεί να παρεμποδιστεί και έτσι να μη ολοκληρωθεί η αντίδραση, στις εξής περιπτώσεις: όταν τα αντισώματα έχουν μικρή ισχύ για σύνδεση, όταν η θερμοκρασία είναι ακατάλληλη, όταν υπάρχει

μικρός αριθμός επιτόπων πάνω στην επιφάνεια του σωματιδίου (όπως το αντιγόνο D στο Rhesus), όταν υπάρχει μεγάλη περίσσεια αντισώματος (δημιουργία φαινομένου προζώνης) και όταν υπάρχουν πολύ έντονες απωθητικές δυνάμεις μεταξύ των σωματιδίων.

Τα αντισώματα που δεν έχουν την ικανότητα να προκαλέσουν την πλήρη συγκόλληση συνηθίζεται να ονομάζονται "ατελή" αντισώματα. Γνωρίζουμε όμως ότι η αποτυχία της συγκόλλησης δεν οφείλεται σε ειδικές μορφές αντισωμάτων, αλλά εξηγείται από τις ιδιότητες του αντιγόνου και του αντισώματος και από τις συνθήκες που παρακωλύουν τη συγκόλληση οι οποίες αναφέρθηκαν παραπάνω.

Πλεονεκτήματα - Μειονεκτήματα - Εφαρμογές συγκολλητινοαντιδράσεων:

Τα βασικά πλεονεκτήματα των συγκολλητινοαντιδράσεων είναι η απλότητα, η ευκολία και η ταχύτητα στην εκτέλεσή τους χωρίς τη χρησιμοποίηση ακριβών μηχανημάτων, η μεγάλη ευαισθησία τους, καθώς επίσης και η μεγάλη ποικιλία αντισωμάτων που μπορούν να ανιχνεύσουν. Μειονεκτήματα είναι οι μη ειδικές συγκολλήσεις που μπορούν να παρατηρηθούν, οι δυσκολίες στην ανεύρεση και συντήρηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων, καθώς και το φαινόμενο προζώνης το οποίο περιγράφεται αναλυτικά παρακάτω.

Παρά τα μειονεκτήματα τους, οι συγκολλητινοαντιδράσεις έχουν τόσα πλεονεκτήματα, ώστε γίνονται συνεχώς προσπάθειες παρασκευής νέων αντιδραστηρίων με μεγάλη ειδικότητα και ευαισθησία, για την εφαρμογή τους σε όλα τα επίπεδα της εργαστηριακής πρακτικής, κυρίως όμως στις προκαταρκτικές δοκιμασίες. Η απλότητα στην εκτέλεση των δοκιμασιών αυτών επιβάλλει την απόλυτη ακρίβεια στην εκτέλεσή τους, την καλή συντήρηση των αντιδραστηρίων και την εμπειρία του εργαστηρίου για την αποφυγή ψευδώς θετικών και αρνητικών αποτελεσμάτων. Πολύ σημαντικό στοιχείο είναι η χρησιμοποίηση των καταλλήλων θετικών και αρνητικών μαρτύρων (controls), ώστε οι δοκιμασίες να είναι όσο το δυνατόν περισσότερο αξιόπιστες.

Οι συγκολλητινοαντιδράσεις γίνονται είτε σε πλάκα είτε σε δοκιμαστικά σωληνάρια. Για ημιποσοτική εκτίμηση των αντισωμάτων χρησιμοποιούνται διαδοχικές αραιώσεις του υπό εξέταση ορού, οπότε το αποτέλεσμα εκφράζεται ως "τίτλος" αντισωμάτων. **"Τίτλος" αντισωμάτων είναι η μεγαλύτερη αραιώση του υπό εξέταση ορού στην οποία εμφανίζεται συγκόλληση.**

Οι συγκολλητινοαντιδράσεις σήμερα χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην καθημερινή εργαστηριακή πράξη για τον προσδιορισμό των ομάδων και υποομάδων αίματος και του Rhesus, για την τυποποίηση μικροοργανισμών με τη βοήθεια γνωστών αντιορών (όπως τυποποίηση E.coli, σαλμονελλών κ.α), για την αναζήτηση στον ορό του αίματος αντισωμάτων έναντι μικροβίων με χρησιμοποίηση γνωστών αντιγόνων (όπως στις αντιδράσεις Widal, Wright κ.α.), για ανίχνευση ρευματοειδούς παράγοντα (RF) και C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP), για ανίχνευση αντισωμάτων στη λοιμώδη μονοκυρήνωση (mono test), στη σύφιλη (VDRL) και σε πολλές άλλες εφαρμογές.

12.2 Φαινόμενο προζώνης

Είναι ένα φαινόμενο που παρατηρείται σε μερικές συγκολλητινοαντιδράσεις, όπως κατά την ανίχνευση στον ορό του αίματος αντισωμάτων εναντίον ορισμένων μικροβίων. Στο φαινόμενο προζώνης παρατηρείται το εξής παράδοξο: Στις μικρές αραιώσεις του ορού, όπου υπάρχει μεγάλο ποσό αντισωμάτων, η

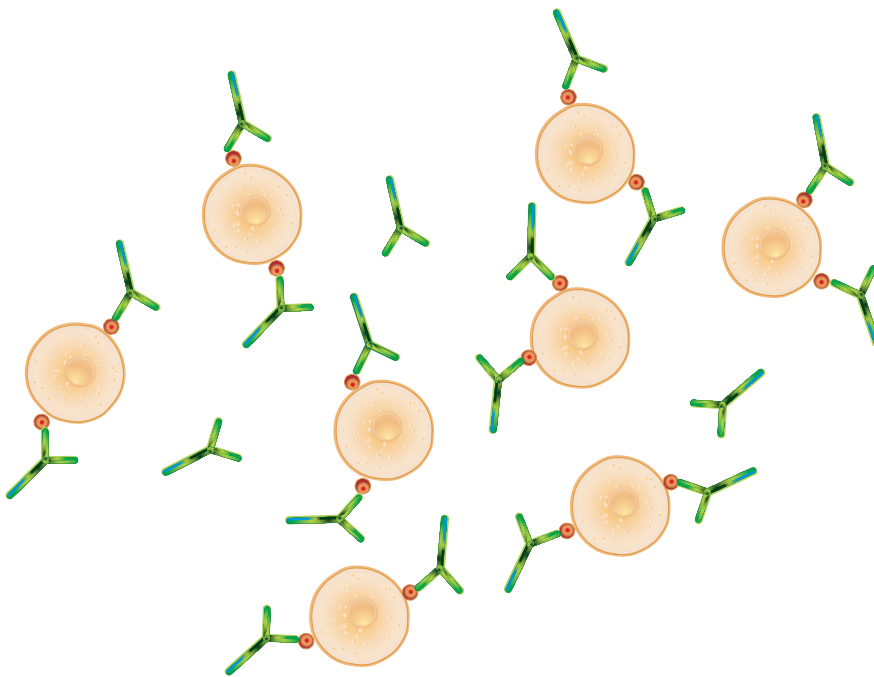
αντίδραση είναι αρνητική (δεν παρατηρείται δηλαδή συγκόλληση), ενώ όταν προχωρούμε σε μεγαλύτερες αραιώσεις του ορού, όπου ελαττώνεται το ποσό των αντισωμάτων, η αντίδραση θετικοποιείται (γίνεται δηλαδή ορατή συγκόλληση). Αυτό βεβαίως ενέχει τον κίνδυνο, εάν κάνουμε μόνο τις πρώτες αραιώσεις του ορού και δεν προχωρήσουμε σε μεγαλύτερες αραιώσεις, να χαρακτηρίσουμε την συγκολλητινοαντίδραση ως ψευδώς "αρνητική" και τον ασθενή "αρνητικό" για αντισώματα.

Το φαινόμενο προζώνης είχε παρατηρηθεί από παλιά και ερμηνεύτηκε με τη θεωρία των "ατελών" αντισωμάτων. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, στον ορό των ασθενών υπάρχουν "ατελή" αντισώματα, τα οποία μπορούν μεν να ενωθούν με τις καθοριστικές αντιγονικές ομάδες πάνω στην επιφάνεια των κυττάρων, αλλά δεν έχουν την ικανότητα να προκαλέσουν συγκόλληση των κυττάρων παρουσία φυσιολογικού ορού. Τα "ατελή" αυτά αντισώματα θεωρήθηκε ότι εμποδίζουν τα "πλήρη" αντισώματα (τις συγκολλητίνες) που επίσης υπάρχουν στον ορό να ενωθούν με τις καθοριστικές ομάδες και να προκαλέσουν συγκόλληση. Στις μεγαλύτερες αραιώσεις του ορού, τα "ατελή" αντισώματα ελαττώνονται και έτσι μπορούν να δράσουν πλέον τα "πλήρη" αντισώματα, τα οποία βρίσκουν τώρα ελεύθερες καθοριστικές ομάδες πάνω στα κύτταρα, ενώνονται με αυτές και προκαλούν την συγκόλληση. Τα "ατελή" αντισώματα μπορούν να προκαλέσουν συγκόλληση μόνο παρουσία μεγαλομοριακών ενώσεων όπως λευκωματίνης αντί φυσιολογικού ορού.

Σήμερα γνωρίζουμε ότι δεν υπάρχουν ειδικές μορφές αντισωμάτων που εμποδίζουν τη συγκόλληση. Η αποτυχία της συγκόλλησης που παρατηρείται στις μικρές αραιώσεις του ορού οφείλεται στην **μεγάλη περίσσεια αντισωμάτων** που υπάρχει στην μικρή αραιώση. Η εξήγηση του φαινομένου είναι η εξής: Στις μικρές αραιώσεις του ορού, υπάρχει μεγάλη περίσσεια αντισωμάτων σε σχέση με τις καθοριστικές αντιγονικές ομάδες που βρίσκονται πάνω στην επιφάνεια των κυττάρων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το κάθε αντίσωμα να ενώνεται με το ένα σημείο σύνδεσής του (το ένα Fab κλάσμα του) πάνω σε ένα κύτταρο και το άλλο σημείο σύνδεσής του (το άλλο Fab κλάσμα του) να μη βρίσκει κενή θέση σε άλλο κύτταρο. (Σχήμα 12.2) Έτσι όμως, αφού το κάθε αντίσωμα δεν μπορεί να συνδεθεί και με τα δυο γειτονικά κύτταρα, δεν μπορεί να λειτουργήσει σαν γέφυρα συμπλησιάζοντας και ενώνοντας τα κύτταρα μεταξύ τους ώστε να σχηματιστεί δικτυωτό πλέγμα και να γίνει ορατή συγκόλληση (σχηματισμός κροκιδών).

Στις μεγαλύτερες αραιώσεις του ορού ελαττώνονται τα αντισώματα και αποκαθίσταται η αναλογία αντιγόνου-αντισώματος. Τώρα, το κάθε αντίσωμα ενώνεται με το ένα του σημείο σύνδεσης σε αντιγονική ομάδα ενός κυττάρου και με το άλλο σε αντιγονική ομάδα γειτονικού κυττάρου η οποία πλέον είναι ελεύθερη λόγω της ελάττωσης των αντισωμάτων. Έτσι το αντίσωμα λειτουργεί σαν γέφυρα και συμπλησιάζει τα γειτονικά κύτταρα κάνοντας ορατή συγκόλληση.

Αυτή λοιπόν **η αναστολή της συγκόλλησης από περίσσεια αντισωμάτων αποτελεί το "φαινόμενο προζώνης"**. Το φαινόμενο προζώνης παρατηρείται κατά την συγκολλητινοαντίδραση Wright, που είναι μέθοδος ανίχνευσης αντισωμάτων έναντι της βρουκέλλας σε άτομα που πάσχουν από μελιταίο πυρετό (βρουκέλλωση). Η συγκολλητινοαντίδραση Wright περιγράφεται αναλυτικά στο κεφάλαιο ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ. Εκεί αναφέρεται και ο τρόπος αντιμετώπισης του φαινομένου προζώνης για την αποφυγή των ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.



Σχήμα 12.2: Περίσσεια αντισωμάτων σε σχέση με τις αντιγονικές καθοριστικές ομάδες.
Δεν σχηματίζεται δικτυωτό πλέγμα.

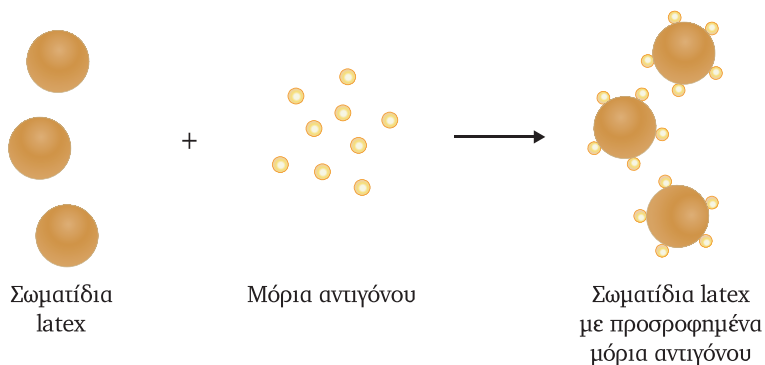
12.3 Μικροβιακή συγκόλληση

Η μικροβιακή συγκόλληση είναι μέθοδος άμεσης συγκόλλησης και χρησιμοποιείται για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι μικροβίων στον ορό του αίματος ασθενών που πάσχουν από διάφορες μικροβιακές λοιμώξεις.

Κατά τη μικροβιακή συγκόλληση χρησιμοποιείται γνωστό μικροβιακό αντιγόνο και αναζητούνται στον ορό των ασθενών αντισώματα έναντι αυτού. Οι πλέον ευρέως χρησιμοποιούμενες αντιδράσεις μικροβιακής συγκόλλησης είναι η αντίδραση Widal για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι των σαλμονελλών και η αντίδραση Wright για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι των βρουκελλών. Και οι δυο μέθοδοι περιγράφονται αναλυτικά στο επόμενο κεφάλαιο: ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ.

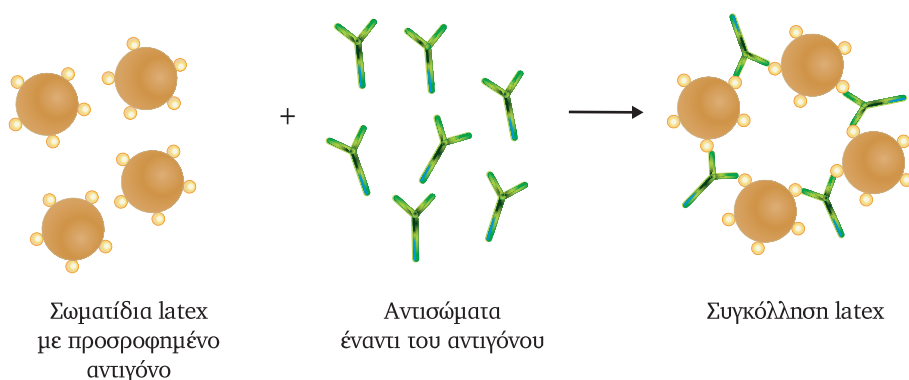
12.4 Συγκόλληση Latex

Είναι μέθοδος έμμεσης (παθητικής) συγκόλλησης. Σ' αυτήν χρησιμοποιούνται σωματίδια latex, δηλαδή σωματίδια από πολυστυρένιο. Τα σωματίδια αυτά, με ειδική επεξεργασία, έχουν προσροφήσει πάνω στην επιφάνειά τους μόρια αντιγόνου. (Σχήμα 12.3)



Σχήμα 12.3: Προσρόφηση μορίων αντιγόνου πάνω σε σωματίδια latex

Τα σωματίδια latex που έχουν προσροφημένα πάνω στην επιφάνειά τους μόρια αντιγόνου, μπορούν τώρα να συγκολληθούν παρουσία των αντίστοιχων αντισωμάτων και να δώσουν ορατή συγκόλληση. (Σχήμα 12.4)



Σχήμα 12.4: Συγκόλληση latex

Τα αντιγόνα που προσροφώνται πάνω στα σωματίδια latex μπορεί να είναι πρωτεϊνικά ή πολυσακχαριδικά. Έτσι, πολλά αντιγόνα μικροβίων, ιών, μυκήτων, παρασίτων, καθώς επίσης και διάφορες ορμόνες, ανοσοσφαιρίνες, κυτταρικά και πυρηνικά αντιγόνα και πολλά άλλα, μπορούν να προσροφηθούν και με τον τρόπο αυτό να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση των αντίστοιχων αντισωμάτων. Οι εφαρμογές της συγκόλλησης latex είναι πάρα πολλές. Παραδείγματα αντιδράσεων latex που έχουν χρησιμοποιηθεί ευρύτατα στο εργαστήριο είναι η ανίχνευση του ρευματοειδούς παράγοντα (RF) και της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) που περιγράφονται στο κεφάλαιο ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ.

Οι εταιρείες σήμερα διαθέτουν μια ευρεία ποικιλία αντιδραστηρίων latex σε πλήρη kit με control για ανίχνευση αντισωμάτων έναντι πολλών μικροοργανισμών όπως βρουκέλλας, σαλμονέλλας, λιστέριας, τοξοπλάσμωσης κ.α., τα οποία μπορεί να προμηθευτεί κανείς και να εκτελέσει την συγκολλητινοαντίδραση latex σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

12.5 Παθητική αιμοσυγκόλληση

Είναι μέθοδος έμμεσης (παθητικής) συγκόλλησης, όπως και η αντίδραση latex, αντί όμως για σωματίδια latex χρησιμοποιούνται ερυθρά αιμοσφαίρια, γι' αυτό και ονομάζεται "παθητική αιμοσυγκόλληση". Πάνω στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων έχουν προσροφηθεί με ειδική διεργασία διάφορα αντιγόνα. Η προσρόφηση αυτή των αντιγόνων πάνω στα ερυθρά αιμοσφαίρια γίνεται ή παθητικά ή μετά από επεξεργασία των ερυθρών με διάφορες χημικές ουσίες π.χ. μετά από επεξεργασία με ταννίνη. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια που έχουν προσροφημένα πάνω στην επιφάνειά τους αντιγόνα, μπορούν τώρα να συγκολληθούν παρουσία των αντίστοιχων αντισωμάτων και να δώσουν συγκόλληση που γίνεται ορατή ως αιμοσυγκόλληση.

Ερυθρά αιμοσφαίρια με προσροφημένα αντιγόνα έχουν χρησιμοποιηθεί για ανίχνευση αντισωμάτων έναντι *E.coli*, τοξοπλάσματος, εχινόκοκκου, διαφόρων ιών καθώς και άλλων μικροοργανισμών. Στο εμπόριο διατίθενται από τις εταιρείες πλήρη kit για γρήγορη ανίχνευση των αντισωμάτων αυτών, τα οποία μπορεί κανείς να πραγματοποιήσει σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Στην παθητική αιμοσυγκόλληση ανήκει και η αντίδραση Waaler-Rose που εφαρμόστηκε για την ανίχνευση ρευματοειδούς παράγοντα και χρησιμοποιεί ερυθρά αιμοσφαίρια προβάτου.

12.6 Αντίδραση Coombs

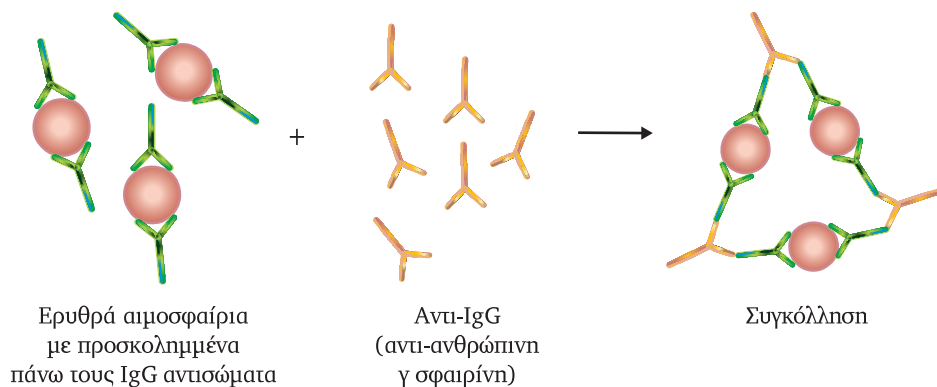
Η αντίδραση Coombs χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των λεγόμενων "ατελών" αντισωμάτων, δηλαδή αντισωμάτων IgG τα οποία μπορούν να συνδεθούν με αντιγονικές ομάδες των ερυθρών αιμοσφαιρίων και να **προσκολληθούν πάνω στα ερυθρά αιμοσφαίρια χωρίς να τα συγκολλούν**.

Τέτοια αντισώματα είναι τα IgG αντισώματα έναντι του D αντιγόνου του Rhesus (αντι-D αντισώματα) και παρατηρούνται σε διάφορες καταστάσεις, όπως π.χ. στα ερυθρά νεογνών με αιμολυτική νόσο. Η εξέταση με την οποία ανιχνεύουμε την ύπαρξη αυτών των αντισωμάτων που είναι προσκολλημένα πάνω στα ερυθρά αιμοσφαίρια ονομάζεται άμεση Coombs.

Όμως IgG αντισώματα έναντι του D αντιγόνου του Rhesus μπορεί να υπάρχουν και στον ορό του αίματος ασθενών. Τέτοια αντισώματα βρίσκονται στον ορό του αίματος μητέρων Rhesus αρνητικών μετά από γέννηση Rhesus θετικού παιδιού, ή σε άτομα Rhesus αρνητικά μετά από μετάγγιση Rhesus θετικού αίματος. Η εξέταση με την οποία ανιχνεύουμε την ύπαρξη αυτών των αντισωμάτων στον ορό του αίματος ονομάζεται έμμεση Coombs.

12.6.1 Άμεση Coombs

Η άμεση Coombs ανιχνεύει IgG αντισώματα έναντι του D αντιγόνου του Rhesus τα οποία είναι προσκολλημένα πάνω στα ερυθρά αιμοσφαίρια χωρίς να προκαλούν συγκόλλησή τους. Η έλλειψη συγκόλλησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων οφείλεται στις ισχυρές απωθητικές δυνάμεις μεταξύ των ερυθρών (ισχυρό αρνητικό φορτίο της επιφάνειάς τους) και στο μικρό αριθμό αντιγονικών ομάδων D πάνω σε κάθε ερυθρό (δηλαδή, υπάρχει ουσιαστικά περίσσεια αντισωμάτων σε σχέση με τις λίγες αντιγονικές ομάδες D). Έτσι, δεν σχηματίζεται αρκετό δίκτυο για να προκληθεί συγκόλληση.



Σχήμα 12.5: Άμεση Coombs.

Στην άμεση Coombs, για να προκαλέσουμε την συγκόλληση των ερυθρών αυτών αιμοσφαιρίων που έχουν πάνω τους προσκολλημένα IgG αντισώματα προσθέτουμε αντι-IgG αντίσωμα. Το αντίσωμα αυτό ονομάζεται και αντι-ανθρώπινη γ σφαιρίνη (anti-human) διότι είναι αντίσωμα έναντι της IgG ανοσοσφαιρίνης του ανθρώπου. Το προστιθέμενο αντι-IgG αντίσωμα θα δράσει σαν γέφυρα μεταξύ των IgG αντισωμάτων της επιφάνειας των ερυθρών αιμοσφαιρίων και θα τα συνδέσει μεταξύ τους, οπότε τα ερυθρά θα συμπλησιάζουν και θα γίνει ορατή συγκόλληση (Σχήμα 12.5).

Η εξέταση αυτή πραγματοποιείται για ανίχνευση αντισωμάτων που βρίσκονται πάνω στα ερυθρά αιμοσφαίρια, όπως είναι τα ερυθρά των νεογνών με αιμολυτική νόσο, των ασθενών με αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία καθώς και των ασθενών με αιμολυτική αναιμία από φάρμακα.

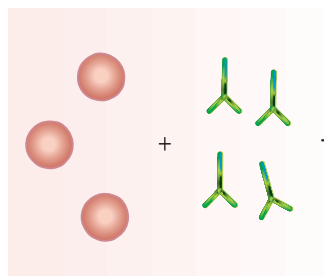
12.6.2 Έμμεση Coombs

Η αντίδραση αυτή χρησιμοποιείται όταν θέλουμε να ανιχνεύσουμε αντι-D αντισώματα τα οποία βρίσκονται στον ορό του αίματος. Τέτοια αντισώματα (που είναι όπως είπαμε IgG) βρίσκονται στον ορό του αίματος μητέρων Rhesus αρνητικών μετά από γέννηση Rhesus θετικού παιδιού, ή σε άτομα Rhesus αρνητικά μετά από μετάγγιση Rhesus θετικού αίματος. Αυτή η κατάσταση ονομάζεται Rhesus ευαισθητοποίηση ή ισοανοσοποίηση και περιγράφεται αναλυτικά στα αντίστοιχα κεφάλαια της αιματολογίας. Τα αντισώματα αυτά δεν προκαλούν πρόβλημα στα άτομα που τα έχουν στον ορό τους γιατί είναι αντισώματα εναντίον των Rhesus **θετικών** ερυθρών αιμοσφαιρίων ενώ τα άτομα αυτά είναι Rhesus **αρνητικά**. Όμως, σε επόμενη εγκυμοσύνη Rhesus θετικού παιδιού από μητέρα που έχει ευαισθητοποιηθεί, τα IgG αντισώματα αυτά, περνούν μέσω του πλακούντα στο έμβρυο και προκαλούν συγκόλληση και αιμόλυση των ερυθρών του αιμοσφαιρίων. Έχει λοιπόν μεγάλη σημασία η ανίχνευση των αντισωμάτων αυτών στον ορό του αίματος των ευαισθητοποιημένων ατόμων με την έμμεση Coombs.

Η έμμεση Coombs γίνεται σε δυο στάδια. (Σχήμα 12.6)

1. Στο πρώτο στάδιο παίρνουμε τον εξεταζόμενο ορό στον οποίο θέλουμε να ερευνήσουμε αν υπάρχουν τα IgG αντισώματα έναντι του αντιγόνου D του Rhesus (αντι-D αντισώματα). Επιάζουμε τον ορό

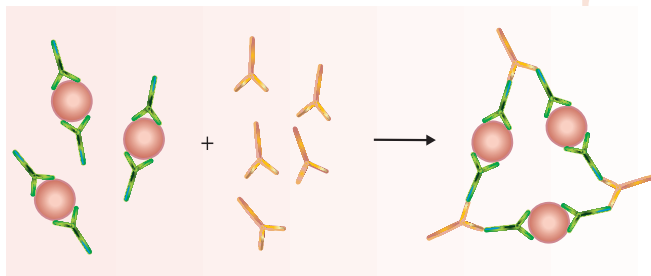
1ο ΣΤΑΔΙΟ



Φυσιολογικά
ερυθρά
(δεν έχουν
προσκολλημένα
αντισώματα)

Ορός αίματος
που περιέχει
IgG αντισώματα

2ο ΣΤΑΔΙΟ



Προσκόλληση
των IgG αντισωμάτων
πάνω στα ερυθρά

Αντι - IgG
(αντι - ανθρώπινη
γ σφαιρίνη)

Συγκόλληση

Σχήμα 12.6: Έμμεση Coombs

αυτό με γνωστά φυσιολογικά ερυθρά αιμοσφαίρια ομάδος 0 Rhesus θετικά, τα οποία έχουμε στο εργαστήριο για αυτόν τον σκοπό. Κατά τη διάρκεια της επώασης τα IgG αντισώματα - αν υπάρχουν στον εξεταζόμενο ορό - προσκολλώνται πάνω στα Rhesus θετικά ερυθρά αιμοσφαίρια. Μετά το τέλος της επώασης, έχουμε ερυθρά αιμοσφαίρια με προσκολλημένα πάνω τους IgG αντισώματα.

2. Στο δεύτερο στάδιο κάνουμε ό,τι και στην άμεση Coombs. Προσθέτουμε δηλαδή στα ερυθρά αυτά αντι-IgG αντίσωμα (αντι-ανθρώπινη γ σφαιρίνη), που δρα σαν γέφυρα και ενώνει τα IgG αντισώματα μεταξύ τους κάνοντας ορατή τη συγκόλληση.

Βλέπουμε λοιπόν ότι η έμμεση Coombs διαφέρει από την άμεση Coombs στο ότι προηγείται ένα στάδιο στο οποίο δίνουμε την ευκαιρία στα αντισώματα που βρίσκονται στον ορό του αίματος να προσκολληθούν πάνω σε ερυθρά αιμοσφαίρια ώστε να μπορέσουμε στη συνέχεια να τα ανιχνεύσουμε με άμεση Coombs.

Η έμμεση Coombs χρησιμοποιείται σε κάθε περίπτωση που θέλουμε να ερευνήσουμε αν υπάρχουν στον ορό του αίματος αντισώματα έναντι των ερυθρών αιμοσφαιρίων, όπως σε γυναίκες Rhesus αρνητικές που γέννησαν Rhesus θετικό παιδί, ή σε άτομα Rhesus αρνητικά που έκαναν μετάγγιση Rhesus θετικού αίματος.

Η τεχνική της άμεσης και έμμεσης Coombs περιγράφεται στα αντίστοιχα κεφάλαια του βιβλίου Αιματολογίας-Αιμοδοσίας.

Πώς λαμβάνονται τα αντι-IgG αντισώματα (αντι-ανθρώπινη γ σφαιρίνη);

Τα αντι-IgG αντισώματα (ή αλλιώς: αντι-ανθρώπινη γ σφαιρίνη ή αντισφαιρινικός ορός ή ορός Coombs ή anti-human όπως έχει επικρατήσει να λέγεται στην καθημερινή εργαστηριακή πράξη) χρησιμοποιούνται στην αντίδραση Coombs αλλά και σε πολλές άλλες εφαρμογές. Παράγονται με τον εξής τρόπο: Χορηγούμε με ένεση IgG αντίσωμα ανθρώπου σε ένα πειραματόζωο, συνήθως κουνέλι. Το IgG αντίσωμα αυτό του ανθρώπου, **δρα σαν αντιγόνο** για το κουνέλι, συνεπώς το κουνέλι παράγει αντισώματα εναντίον του (παράγει λοιπόν **αντι-IgG αντισώματα**). Τα αντισώματα αυτά κυκλοφορούν στον ορό του αίματος του κουνελιού, απ' όπου τα παίρνουμε με αιμοληψία.

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Συγκολλητινοαντίδραση ονομάζεται η ένωση ενός σωματιδιακού αντιγόνου με το ομόλογο αντίσωμα και ο σχηματισμός κροκίδων (ορατής συγκόλλησης). Διακρίνεται σε άμεση συγκόλληση και έμμεση ή παθητική συγκόλληση.

Φαινόμενο προζώνης είναι η αναστολή της συγκόλλησης λόγω περίσσειας αντισωμάτων που παρατηρείται σε μερικές συγκολλητινοαντιδράσεις.

Η μικροβιακή συγκόλληση είναι μέθοδος άμεσης συγκόλλησης με την οποία ανιχνεύονται στον ορό των ασθενών αντισώματα εναντίον μικροβίων. Κλασικά παραδείγματα οι συγκολλητινοαντιδράσεις Widal και Wright.

Η συγκόλληση Latex είναι μέθοδος έμμεσης (παθητικής) συγκόλλησης που χρησιμοποιεί σωματίδια πολυστυρενίου τα οποία με κατάλληλη επεξεργασία έχουν προσροφήσει πάνω στην επιφάνειά τους μόρια αντιγόνου. Κλασικές εφαρμογές της η ανίχνευση ρευματοειδούς παράγοντα (RF) και C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP).

Η παθητική αιμοσυγκόλληση είναι μέθοδος έμμεσης (παθητικής) συγκόλλησης που χρησιμοποιεί ερυθρά αιμοσφαίρια στην επιφάνεια των οποίων έχουν προσροφηθεί διάφορα αντιγόνα.

Η αντίδραση Coombs είναι συγκολλητινοαντίδραση με την οποία ανιχνεύονται IgG αντισώματα τα οποία μπορούν να προσκολλώνται πάνω στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων χωρίς να τα συγκολλούν. Τέτοια είναι τα αντισώματα εναντίον του D αντιγόνου του Rhesus. Με την άμεση Coombs ανιχνεύονται αντισώματα προσκολλημένα πάνω στα ερυθρά αιμοσφαίρια, ενώ με την έμμεση Coombs αντισώματα που βρίσκονται στον ορό του αίματος.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Τι είναι συγκολλητινοαντίδραση;
2. Τι είναι άμεση και τι έμμεση συγκόλληση;
3. Ποιες είναι οι φάσεις της συγκολλητινοαντίδρασης;
4. Ποιες είναι οι προϋποθέσεις για τη δημιουργία συγκόλλησης;
5. Ποια είναι τα πλεονεκτήματα και ποια τα μειονεκτήματα των συγκολλητινοαντιδράσεων;
6. Ποιες είναι οι κυριότερες εφαρμογές των συγκολλητινοαντιδράσεων;
7. Τι είναι το φαινόμενο προζώνης; Πώς εξηγείται;
8. Τι είναι μικροβιακή συγκόλληση; Ποιες οι κυριότερες εφαρμογές της;
9. Τι είναι συγκόλληση Latex; Ποιες οι κυριότερες εφαρμογές της;
10. Τι είναι η αντίδραση Coombs; Σε τι διακρίνεται;
11. Περιγράψτε εν συντομία την άμεση Coombs.
12. Τι ανιχνεύει η άμεση Coombs; Σε ποιες περιπτώσεις εφαρμόζεται;
13. Περιγράψτε εν συντομία την έμμεση Coombs.
14. Τι ανιχνεύει η έμμεση Coombs; Σε ποιες περιπτώσεις εφαρμόζεται;
15. Τι είναι η αντι-ανθρώπινη γ σφαιρίνη; Πώς αλλιώς λέγεται; Πώς παράγεται;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13^ο

ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Ορολογικές αντιδράσεις ονομάζονται οι αντιδράσεις που γίνονται στο εργαστήριο στον ορό του αίματος των ασθενών. Με τις αντιδράσεις αυτές αναζητούνται στον ορό του αίματος αντισώματα εναντίον μικροβίων, ιών, παρασίτων, κυττάρων, καθώς και διάφοροι παράγοντες (π.χ. ρευματοειδής παράγοντας, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη κ.α.).

Οι ορολογικές αντιδράσεις μπορεί να ανήκουν σε διάφορα είδη αντιδράσεων αντιγόνου-αντισώματος όπως στις συγκολλητινοαντιδράσεις, ιζηματινοαντιδράσεις, αιμολυτικές αντιδράσεις, αντιδράσεις σύνδεσης συμπληρώματος κ.λ.π.

Μερικές από τις πιο συνηθισμένες ορολογικές αντιδράσεις που γίνονται σήμερα στο εργαστήριο είναι οι: ASTO, CRP, RA Test, Mono test, Widal, Wright, VDRL, οι οποίες και περιγράφονται αναλυτικά στη συνέχεια.

13.1 ASTO

Είναι αντίδραση με την οποία αναζητούνται στον ορό του αίματος αντισώματα εναντίον της στρεπτολυσίνης-Ο του πυογόνου στρεπτόκοκκου (στρεπτόκοκκου ομάδας-A) σε άτομα που πάσχουν από στρεπτοκοκκική λοίμωξη. Τα αντισώματα αυτά ονομάζονται "αντιστρεπτολυσίνη-Ο".

Η αντιστρεπτολυσίνη-Ο εμφανίζεται στο αίμα του ασθενούς από τις πρώτες μέρες της νόσου και ο τίτλος της (δηλαδή το ποσό των αντισωμάτων) αυξάνει συνεχώς. Διατηρείται σε υψηλό επίπεδο όσο κρατά η αρρώστια αλλά πέφτει σιγά – σιγά όσο υποχωρεί αυτή. Αυξάνεται και πάλι σε περίπτωση υποτροπής της νόσου, γι' αυτό και ο προσδιορισμός του τίτλου έχει μεγάλη διαγνωστική σημασία.

Οι συνηθισμένοι μέθοδοι με τις οποίες ανιχνεύεται ο τίτλος της αντιστρεπτολυσίνης-Ο στον ορό του αίματος είναι:

- α) Μέθοδος αναστολής της αιμόλυσης
- β) Μέθοδος συγκόλλησης σωματιδίων latex.

13.1.1 Προσδιορισμός ASTO με τη μέθοδο αναστολής της αιμόλυσης

Αρχή της μεθόδου:

Η στρεπτολυσίνη-Ο του στρεπτόκοκκου έχει την ιδιότητα να αιμολύει τα ερυθρά αιμοσφαίρια ανθρώπου και ζώων in vitro. Το αντίσωμά της (η αντιστρεπτολυσίνη) εξουδετερώνει αυτήν την αιμολυτική ικανότητα της στρεπτολυσίνης. Αν στον ορό του αίματος του αρρώστου υπάρχει αντιστρεπτολυσίνη, αυτή θα εξουδετερώσει τη στρεπτολυσίνη και δε θα προκληθεί αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων.

Αναμιγνύουμε λοιπόν στο εργαστήριο τον εξεταζόμενο ορό με ορισμένη ποσότητα στρεπτολυσίνης. Στη συνέχεια προσθέτουμε ερυθρά αιμοσφαίρια. Αν δεν γίνει αιμόλυση, σημαίνει ότι στον ορό περιέχεται αντιστρεπτολυσίνη η οποία εξουδετέρωσε τη στρεπτολυσίνη που βάλαμε. Όσο περισσότερη αντιστρεπτολυσίνη υπάρχει στον ορό, τόσο σε μεγαλύτερες αραιώσεις ο ορός αυτός θα προκαλεί αναστολή της αιμόλυσης.

Αντιδραστήρια:

Αυτά διατίθενται έτοιμα στο εμπόριο και χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Είναι τα εξής:

1. Στρεπτολυσίνη. Φέρεται λυοφιλοποιημένη, δηλαδή αποξηραμένη σε φιαλίδια. Πριν από τη χρήση της ανασυσταίνεται με νερό ή ρυθμιστικό διάλυμα, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.
2. Ρυθμιστικό διάλυμα buffer (ποικίλλει ανάλογα με την κατασκευάστρια εταιρεία).
3. Πρότυπος ορός. Είναι ορός που περιέχει γνωστή ποσότητα αντιστρεπτολυσίνης.
4. Ερυθρά αιμοσφαίρια. Συνήθως είναι ερυθρά προβάτου ή κουνελιού. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ερυθρά ανθρώπου ομάδας 0.
5. Εξεταστέος ορός. Πρέπει να είναι διαυγής. Αν είναι θολός, λιπαιμικός, ικτερικός ή αιμολυμένος είναι ακατάλληλος για την αντίδραση. Πριν από την εξέταση αδρανοποιείται στους 56°C για 30 λεπτά.

Εκτέλεση:

1. Κάνουμε αραιώσεις του εξεταστέου ορού με το ρυθμιστικό διάλυμα. Δε γίνονται υποδιπλάσιες αραιώσεις αλλά ενδιάμεσες αραιώσεις. Κάθε εργαστήριο μπορεί να χρησιμοποιεί τη μέθοδο των αραιώσεων που περιγράφει ο κατασκευαστής των αντιδραστηρίων. Τις ίδιες αραιώσεις κάνουμε και στον πρότυπο ορό. Συνήθως γίνονται 10 αραιώσεις (από 1:50 έως 1:2400).
2. Τοποθετούμε τις αραιώσεις με τη σειρά σε σωληνάρια
3. Προσθέτουμε διάλυμα στρεπτολυσίνης στα σωληνάρια
4. Ανακινούμε και τα αφήνουμε σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά
5. Προσθέτουμε εναιώρημα των ερυθρών στα σωληνάρια και βάζουμε το στατό στον κλίβανο των 37°C για 45 λεπτά. Ενδιάμεσα ανακινούμε μια-δύο φορές κάθε 15 λεπτά. Βγάζουμε από τον κλίβανο και εξετάζουμε τα σωληνάρια για παρουσία ή μη αιμόλυσης.

Ανάγνωση:

Εάν στον εξεταζόμενο ορό δεν υπάρχει καθόλου αντιστρεπτολυσίνη θα υπάρχει αιμόλυση σε όλα τα σωληνάρια. Αν όμως υπάρχει αντιστρεπτολυσίνη, αυτή θα αναστείλει την αιμόλυση στα πρώτα σωληνάρια όπου το ποσό του ορού είναι μεγαλύτερο. Όσο περισσότερη αντιστρεπτολυσίνη έχει ο ορός, τόσο η αναστολή της αιμόλυσης θα παρατηρηθεί σε περισσότερα σωληνάρια ίσως και σε όλα. Το τελευταίο σωληνάριο στο οποίο δεν υπάρχει αιμόλυση είναι ο τίτλος της αντιστρεπτολυσίνης. Κάποια σωληνάρια που δείχνουν οριακή αντίδραση πρέπει να φυγοκεντρηθούν για να καθιζήσουν τα μη αιμολυθέντα ερυθρά και να φανεί καλύτερα η παρουσία ή μη αιμόλυσης.

Πριν γίνει η ανάγνωση του τίτλου του εξεταζόμενου ορού θα πρέπει να βεβαιωθούμε ότι ο πρότυπος ορός έδωσε τον αναμενόμενο τίτλο. Ο *τίτλος της αντιστρεπτολυσίνης είναι η τελευταία αραιώση του ορού χωρίς αιμόλυση και εκφράζεται σε μονάδες Todd*.

13.1.2 Προσδιορισμός ASTO με τη μέθοδο Latex

Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται σωματίδια Latex τα οποία είναι καλυμμένα με στρεπτολυσίνη-Ο. Τα σωματίδια αυτά συγκολλώνται όταν έλθουν σε επαφή με το αντίστοιχο αντίσωμα, δηλαδή με την αντιστρεπτολυσίνη-Ο. Τα αντιδραστήρια αυτά προσφέρονται έτοιμα στο εμπόριο και ακολουθούνται οι οδηγίες του κατασκευαστή.

Μπορεί να γίνει και ημιποσοτική Latex με αραιώσεις του εξεταζόμενου ορού. Η Latex δοκιμή δεν επηρεάζεται από την παρουσία λιπιδίων στον ορό, από θολερότητα, ή από παρουσία χολερυθρίνης ή αιμοσφαιρίνης.

Αξιολόγηση της ASTO:

Η αντιστρεπτολυσίνη εμφανίζεται στο αίμα των πασχόντων από οξεία στρεπτοκοκκική λοίμωξη μια εβδομάδα περίπου από την έναρξη της νόσου και αυξάνεται σιγά σιγά μέχρι την 5η περίπου εβδομάδα, οπότε φθάνει και στο μέγιστο της τιμής της. Κατά τον 2ο μήνα αρχίζει να πέφτει. Μικρές ποσότητες αντισωμάτων παρατηρούνται και στον ορό υγιών που είχαν κάποτε νοσήσει και αυτό εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως ηλικία, γεωγραφική θέση, κοινωνικοοικονομικές συνθήκες, κλίμα κ.α. Τιμές πάνω από 250 μονάδες στους ενήλικες και πάνω από 333 μονάδες στα παιδιά θεωρούνται αυξημένες.

Η ASTO βγαίνει θετική σε ασθενείς με ρευματικό πυρετό, με οξεία σπειραματονεφρίτιδα και σε μικρότερα ποσοστά σε πάσχοντες από στρεπτοκοκκική πυοδερμία και οξεία αμυγδαλίτιδα. Η κύρια διαγνωστική της αξία είναι στο ρευματικό πυρετό.

13.2 CRP

Η CRP (C-αντιδρώσα πρωτεΐνη) είναι μια σφαιρίνη που υπάρχει φυσιολογικά στον ορό του αίματος σε συγκέντρωση $< 1 \text{ mg/dl}$. Το ποσό της όμως στον ορό αυξάνει όταν υπάρχει ενεργός φλεγμονή, καταστροφή ιστών και κακοήθης εξαλλαγή, γι' αυτό και έχει σημασία ο προσδιορισμός της. Το όνομά της οφείλεται στο ότι ενώνεται με το C πολυσακχαριδικό αντιγόνο του πνευμονόκοκκου και σχηματίζει ίζημα.

Οι μέθοδοι ανίχνευσής της είναι:

- α) μέθοδος συγκόλλησης Latex που γίνεται σε πλάκα και χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα στα εργαστήρια γιατί είναι απλή και γρήγορη, αλλά δίνει ποιοτικά ή ημιποσοτικά αποτελέσματα και
- β) η νεφελομετρία που είναι μέθοδος εκλογής διότι συνδυάζει ακριβή ποσοτική μέτρηση, μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα και έχει αντικαταστήσει όλες τις άλλες μεθόδους.

13.2.1 Προσδιορισμός CRP με τη μέθοδο latex

Χρησιμοποιούνται σωματίδια latex καλυμμένα με αντίσωμα έναντι της CRP. Αντιδραστήριο latex μαζί με πλακίδια και μάρτυρες διατίθενται από διάφορες εταιρίες. Η αντίδραση γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή και μπορεί να είναι απλή ανίχνευση ή ημιποσοτικός προσδιορισμός. Μικροδιαφορές στην τεχνική υπάρχουν ανάλογα με την εταιρία, σε γενικές γραμμές όμως κάνουμε τα εξής:

Στην απλή ανίχνευση

1. Βάζουμε σε αντικειμενοφόρο πλάκα μια σταγόνα του εξεταστέου ορού χωρίς καμιά αραιώση και από μια σταγόνα θετικού και αρνητικού μάρτυρα.
2. Προσθέτουμε σε όλες τις σταγόνες από μια σταγόνα του εναιωρήματος latex.
3. Ανακατεύουμε τις σταγόνες με ξεχωριστό ραβδάκι. Ανακινούμε και μετά από 3-5 λεπτά διαβάζουμε για συγκόλληση συγκρίνοντας πάντα με το θετικό και αρνητικό μάρτυρα. Δεν πρέπει να καθυστερήσουμε να το διαβάσουμε γιατί μετά από 5 λεπτά μπορεί να εμφανιστεί μη ειδική συγκόλληση. Επίσης, αν ο ορός είναι πολύ λιπαιμικός μπορεί να δώσει μη ειδική συγκόλληση.

Στον ημιποσοτικό προσδιορισμό

Κάνουμε την ίδια αντίδραση αλλά με αραιώσεις του εξεταστέου ορού.

Οι αραιώσεις γίνονται με ισότονο διάλυμα NaCl και είναι: 1:20 1:40 1:80 1:160 κ.ο.κ.

Ο τίτλος της CRP θα είναι η τελευταία αραιώση που εξακολουθεί να δίνει συγκόλληση.

Αξιολόγηση της CRP:

Η CRP αυξάνει σε μικροβιακές λοιμώξεις, ρευματικό πυρετό, ρευματοειδή αρθρίτιδα, νεοπλάσματα, χειρουργικές επεμβάσεις, εγκαύματα, έμφραγμα του μυοκαρδίου κ.α. Ο ποσοτικός προσδιορισμός διαδοχικών δειγμάτων βοηθά στην παρακολούθηση της νόσου, στην εκτίμηση της βαρύτητας της λοίμωξης και της αποτελεσματικότητας της θεραπείας. Για αυτό, για τον προσδιορισμό της προτιμάται σήμερα η **νεφελομετρία** που δίνει ποσοτικά αποτελέσματα με μεγάλη ακρίβεια και ευαισθησία. Τιμές CRP 1-10 mg/dl θεωρούνται μέτρια αύξηση και >10 mg/dl σαφής αύξηση.

13.3 Ρευματοειδής Παράγοντας (RF)

Ο ρευματοειδής παράγοντας (RF) είναι αντίσωμα έναντι του Fc κλάσματος της IgG. Ανήκει κυρίως στις IgM ανοσοσφαιρίνες μπορεί όμως να είναι και IgG ή IgA, ακόμα και IgE ή IgD.

Χαρακτηριστικά, ο ρευματοειδής παράγοντας αυξάνει στη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Οι μέθοδοι προσδιορισμού του RF που έχουν χρησιμοποιηθεί από παλιά είναι οι **συγκολλητινοαντιδράσεις, κυρίως η αντίδραση latex**. Σήμερα, μέθοδος εκλογής με μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα που δίνει επιπλέον και ποσοτικά αποτελέσματα είναι η **νεφελομετρία** που έχει αντικαταστήσει τις άλλες μεθόδους, κυρίως στα νοσοκομειακά εργαστήρια. Περιγράφεται όμως και η μέθοδος latex για λόγους διδακτικούς και διότι βρίσκει ακόμη εφαρμογές στα μικρά εργαστήρια. Η συγκολλητινοαντίδραση και η νεφελομετρία ανιχνεύουν IgM ρευματοειδή παράγοντα. Οι άλλοι ρευματοειδείς παράγοντες ανιχνεύονται με ELISA ή ραδιοανοσολογικές μεθόδους και ζητούνται σε ειδικές μόνο περιπτώσεις.

13.3.1 RA test - δοκιμή latex

Χρησιμοποιούνται σωματίδια latex καλυμμένα με IgG ανοσοσφαιρίνη και αναζητείται στον ορό του αίματος αντίσωμα έναντι της IgG (δηλαδή ρευματοειδής παράγοντας). Τα αντιδραστήρια της μεθόδου προσφέρονται στο εμπόριο από όλους σχεδόν τους οίκους και περιλαμβάνουν και θετικό και αρνητικό

μάρτυρα. Η αντίδραση γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή, αλλά κατά βάση η τεχνική και η αξιολόγηση είναι περίπου ίδιες.

Αρχή της μεθόδου:

Σωματίδια latex καλυμμένα με IgG ανοσοσφαιρίνη συγκολλώνται όταν έρθουν σε επαφή με ρευματοειδή παράγοντα.

Εκτέλεση:

1. Πάνω σε γυάλινη πλάκα συγκολλητινοαντιδράσεων τοποθετούμε μια σταγόνα του εξεταστέου ορού που τον έχουμε αραιώσει 1:20 με το ρυθμιστικό διάλυμα που περιλαμβάνεται στη συσκευασία. Επίσης τοποθετούμε ξεχωριστά μια σταγόνα από το θετικό και μια από τον αρνητικό μάρτυρα.
2. Βάζουμε κοντά σε κάθε μια από τις τρεις σταγόνες από μια σταγόνα αντιγόνο latex.
3. Με ξεχωριστή οδοντογλυφίδα ή γυάλινο ραβδάκι ανακατεύουμε τον κάθε ορό με το αντιγόνο.
4. Ανακινούμε την πλάκα κυκλικά πίσω - μπρος επί 1 έως 5 λεπτά, παρατηρώντας για εμφάνιση συγκόλλησης. Πρώτα εξετάζουμε τους μάρτυρες. Ο θετικός πρέπει να παρουσιάσει γρήγορη και σαφή συγκόλληση, ενώ ο αρνητικός θα πρέπει να παραμείνει ομοιογενής. Εσφαλμένα αποτελέσματα μπορεί να βγουν αν ο εξεταζόμενος ορός είναι λιπαιμικός, αν αργήσει να διαβαστεί το αποτέλεσμα, αν το latex μπήκε στην κατάψυξη.

Ερμηνεία:

Η δοκιμή βγαίνει θετική στο 80-90% των πασχόντων από ρευματοειδή αρθρίτιδα.

Επίσης βγαίνει θετική σε υψηλά ποσοστά στο σύνδρομο Sjögren και σε χαμηλότερα ποσοστά σε άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, όπως στο συστηματικό ερυθματώδη λύκο (ΣΕΛ), σκληρόδερμα, μικτή νόσο του συνδετικού ιστού κ.α. Μπορεί να βγει θετική και σε μερικούς ασθενείς που πάσχουν από οξείες και χρόνιες λοιμώξεις (όπως ιογενείς λοιμώξεις, λέπτα, φυματίωση, σύφιλη, υποξεία ενδοκαρδίτιδα κ.α.), σε νεοπλάσματα, αλλά και σε μικρό ποσοστό φυσιολογικών ατόμων, κυρίως μεγαλύτερης ηλικίας.

13.3.2 Ημιποσοτική RA δοκιμή

1. Κάνουμε πρώτα σε μια σειρά σωληναρίων υποδιπλάσιες αραιώσεις του εξεταζόμενου ορού 1:20 1:40 1:80 1:160 1:320.
2. Μια σταγόνα από την κάθε αραιώση μεταφέρεται πάνω στην πλάκα.
3. Προστίθεται από μια σταγόνα του αντιδραστήριου latex, γίνεται η αντίδραση όπως περιγράφεται παραπάνω και στη συνέχεια διαβάζεται το αποτέλεσμα.

13.4 Mono test

Η εξέταση χρησιμοποιείται για την εργαστηριακή διάγνωση της λοιμώδους μονοπυρήνωσης. Η λοιμώδης μονοπυρήνωση (ΛΜ) είναι νόσος προκαλούμενη από τον ιό Epstein Barr που ανήκει στην ομάδα των ερπητοϊών. Στη λοιμώδη μονοπυρήνωση, εκτός από τα ειδικά αντισώματα που παράγονται εναντίον του ιού Epstein Barr, εμφανίζονται στον ορό του ασθενή και αντισώματα ετερόφιλα που λέγονται έτσι γιατί

συγκολλούν ερυθρά αιμοσφαίρια άλλων ειδών όπως ίππου, προβάτου και άλλων ζώων. Αυτά τα ετερόφιλα αντισώματα (ή PauL-Bunnell αντισώματα) ανιχνεύονται με το mono test.

Αρχή της μεθόδου:

Στο mono test χρησιμοποιούμε ερυθρά αιμοσφαίρια ίππου και ελέγχουμε αν συγκολλώνται με τον ορό του ασθενούς. Αν τα ερυθρά συγκολληθούν, σημαίνει ότι στον ορό υπάρχουν τα ετερόφιλα αντισώματα.

Παρατηρήσεις πάνω στη μέθοδο:

Στον ορό του αίματος μερικών ατόμων μπορεί να υπάρχουν και άλλα ετερόφιλα αντισώματα που δεν έχουν σχέση με τη λοιμώδη μονοκυρήνωση (όπως ετερόφιλα αντισώματα ορονοσίας που παράγονται μετά από αντιτετανικό ορό με ορό ίππου). Αυτά τα ετερόφιλα αντισώματα μπορεί να παρέμβουν στην αντίδραση και να προκαλέσουν λανθασμένο αποτέλεσμα. Γι' αυτό στο mono test χρησιμοποιούνται ερυθρά αιμοσφαίρια ίππου ειδικά κατεργασμένα με φορμόλη και καλυμμένα με σωματίδια latex τα οποία **συγκολλώνται μόνο με τα ετερόφιλα αντισώματα της λοιμώδους μονοκυρήνωσης** και όχι με τα άλλα ετερόφιλα αντισώματα.

Τα αντιδραστήρια προσφέρονται έτοιμα στο εμπόριο σε μορφή kit που περιλαμβάνει θετικό και αρνητικό μάρτυρα (controls) και η αντίδραση γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Οι οδηγίες πρέπει να ακολουθούνται με μεγάλη ακρίβεια για την αποφυγή ψευδώς θετικών και ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

Αξιολόγηση

Τα ετερόφιλα αντισώματα εμφανίζονται περί το τέλος της πρώτης εβδομάδας της νόσου. Η δοκιμασία ανιχνεύει ετερόφιλα αντισώματα στο 90% περίπου των περιπτώσεων λοιμώδους μονοκυρήνωσης στους ενήλικες, σε παιδιά όμως - ιδιαίτερα κάτω των 4 ετών- σε μικρότερα ποσοστά. Επειδή στα παιδιά συνήθως εμφανίζονται τα αντισώματα αργότερα σε σχέση με τους ενήλικες, μια αρνητική εξέταση δεν αποκλείει τη νόσο και χρειάζεται επανάληψη.

13.5 Widal

Είναι αντίδραση μικροβιακής συγκόλλησης (συγκολλητινοαντίδραση) κατά την οποία ανιχνεύονται στον ορό του αίματος του αρρώστου αντισώματα έναντι των σαλμονελλών. Τα αντισώματα αυτά εμφανίζονται στον ορό του αίματος ανθρώπου που πάσχει από γενικευμένη σαλμονέλλωση (τυφοειδή ή παράτυφο) κατά το τέλος της πρώτης εβδομάδας της νόσου.

Αντιδραστήρια

Για την εκτέλεση της αντίδρασης χρειάζονται:

1. Τα αντιγόνα των σαλμονελλών.
2. Ο ορός του αρρώστου.

Ως αντιγόνα χρησιμοποιούνται το σωματικό αντιγόνο O και το βλεφαριδικό αντιγόνο H των σαλμονελλών. Τα αντιγόνα αυτά λαμβάνονται έτοιμα από το εμπόριο. Στην Ελλάδα οι γενικευμένες σαλμονελλώσεις οφείλονται κατά κανόνα στη σαλμονέλλα του τυφοειδούς και του παράτυφου B. Γι' αυτό χρησιμοποιούνται

στη Widal τα σωματικά και βλεφαριδικά αντιγόνα και των δυο αυτών σαλμονελλών ως εξής:

Σαλμονέλλα τύφου: σωματικό αντιγόνο (TO) και βλεφαριδικό αντιγόνο (TH)

Σαλμονέλλα παράτυφου Β: σωματικό αντιγόνο (BO) και βλεφαριδικό αντιγόνο (BH)

Η συγκολλητινοαντίδραση γίνεται σε σωληνάρια με διαδοχικές αραιώσεις του εξεταζόμενου ορού και ολοκληρώνεται σε 2 μέρες.

13.5.1 Widal σε σωληνάρια:

Εκτέλεση:

1. Γίνονται υποδιπλάσιες αραιώσεις του υπό εξέταση ορού (από 1:20 μέχρι 1:320) σε ισότονο NaCl. Θα χρειαστούμε δυο χωριστά στατό με 2 σειρές σωληνάρια στο καθένα, μια σειρά μπροστά και μια πίσω. Το ένα στατό είναι για τις Η συγκολλήσεις (με τα TH αντιγόνα μπροστά και τα BH αντιγόνα πίσω) και το άλλο για τις Ο συγκολλήσεις (με τα TO αντιγόνα μπροστά και τα BO αντιγόνα πίσω).
2. Διαμοιράζονται με τη σειρά οι υποδιπλάσιες αραιώσεις του ορού σε όλα τα σωληνάρια και στη συνέχεια τοποθετούνται ίσοι όγκοι αντιγόνου σε κάθε μια από τις 4 σειρές, ήτοι από το TH στην 1^η σειρά, από το BH στη 2^η σειρά, από το TO στην 3^η σειρά και από το BO στην 4^η σειρά. Με τον τρόπο αυτό οι αραιώσεις του ορού υποδιπλασιάζονται και οι τελικές αραιώσεις γίνονται από 1:40 μέχρι 1:640.
3. Το στατό με τα Η αντιγόνα μεταφέρεται σε υδατόλουτρο 50° C όπου αφήνεται για 2 ώρες. Μετά παραμένει για 3 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου για να κατακαθίσουν τα συγκολλήματα, γίνεται μια πρώτη ανάγνωση και στη συνέχεια τοποθετείται στο ψυγείο για την τελική ανάγνωση την άλλη μέρα. Το στατό με τα Ο αντιγόνα φέρεται στον κλίβανο των 37° C, όπου αφήνεται για 2 ώρες και μετά τοποθετείται στο ψυγείο για να διαβαστεί το αποτέλεσμα την άλλη μέρα.

Ανάγνωση της Widal.

Διαβάζουμε το αποτέλεσμα κοιτάζοντας τον πυθμένα κάθε σωληναρίου χωριστά πάνω από ένα μεγεθυντικό καθρέφτη. Πρώτα διαβάζουμε χωρίς να ανακινήσουμε τα σωληνάρια και μετά ξαναδιαβάζουμε με ανακίνηση. Με την ανακίνηση μπρος στο μεγεθυντικό καθρέφτη μπορούμε να δούμε τις οριακές συγκολλήσεις ιδιαίτερα με τα Ο-αντιγόνα. Οι εικόνες των συγκολλήσεων που περιμένουμε είναι οι εξής:

Η Η-συγκόλληση χαρακτηρίζεται από μεγάλες κροκίδες σε όλη την έκταση του πυθμένα του σωληναρίου. Με την ελαφρά ανακίνηση δεν σπάνε αλλά φαίνονται καλύτερα. Η Ο-συγκόλληση χαρακτηρίζεται από λεπτές κροκίδες που είναι συγκεντρωμένες σε μικρότερη περιοχή του πυθμένα του σωληναρίου. Στην ανακίνηση εύκολα διασκορπίζονται.

Τίτλος συγκόλλησης είναι η τελευταία αραιώση που δίνει συγκόλληση. Στην απάντηση πρέπει να αναγράφεται ο τίτλος για όλα τα αντιγόνα. Παράδειγμα θετικής Widal σε περίπτωση τυφοειδούς πυρετού είναι π.χ:

TH 1:320 TO 1:160 BH – BO –

13.5.2 Widal σε πλάκα

Εκτός από την Widal σε σωληνάρια γίνεται και η Widal σε πλάκα. Είναι μια προκαταρκτική ταχεία μέθοδος. Τα αντιγόνα υπάρχουν έτοιμα σε σετ μαζί με θετικό και αρνητικό μάρτυρα.

Εκτέλεση:

Η εξέταση γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή, σε γενικές γραμμές ως εξής:

Σε μια γυάλινη πλάκα βάζουμε διαδοχικά ελαττούμενες ποσότητες του εξεταζόμενου ορού. Προσθέτουμε από μια σταγόνα αντιγόνου σε κάθε μια από τις σταγόνες του ορού. Ανακατεύουμε με μια οδοντογυλφίδα από την τελευταία αραιώση προς την πρώτη.

Ανακινούμε την πλάκα στα χέρια μας μπρος-πίσω 15-20 φορές ώστε να ανακατευτεί καλά το αντιγόνο με τον ορό για 1 λεπτό και διαβάζουμε την συγκόλληση μπρος σε φωτεινή επιφάνεια. Παράλληλα εξετάζουμε με τον ίδιο τρόπο τον θετικό και τον αρνητικό μάρτυρα. Η ανάγνωση πρέπει να γίνει γρήγορα. Με τον αρνητικό μάρτυρα δεν πρέπει να γίνει συγκόλληση. Με τον θετικό μάρτυρα πρέπει να γίνει συγκόλληση στην αραιώση που δίνει ο κατασκευαστής συνήθως στην αραιώση 1:80.

Αξιολόγηση της Widal

Η εξέταση Widal είναι σχετικά περιορισμένης διαγνωστικής αξίας σήμερα, διότι έχουν βελτιωθεί οι μέθοδοι απομόνωσης της σαλμονέλλας από τα κλινικά υλικά. Επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες που κάνουν δύσκολη την αξιολόγηση του αποτελέσματος, όπως το ότι σε κάθε πληθυσμό υπάρχουν υγιή άτομα που έχουν αντισώματα προς τα αντιγόνα O ή /και H των σαλμονελλών.

Η Widal είναι αρνητική την πρώτη εβδομάδα της νόσου και αρχίζει να γίνεται θετική μετά τη δεύτερη εβδομάδα. Ατομικοί παράγοντες όπως η ηλικία, η λήψη αντιβιοτικών στην αρχή της νόσου κ.α. μπορούν να επηρεάσουν την παραγωγή αντισωμάτων. Επίσης, το εμβόλιο TAB (τυφοειδούς, παράτυφου A και παράτυφου B) μπορεί να αφήσει αντισώματα για διάφορα χρονικά διαστήματα.

Από την ανάλυση αυτή προκύπτει ότι δεν υπάρχει ένας ορισμένος τίτλος αντισωμάτων που χαρακτηρίζει θετική τη δοκιμασία Widal. Μόνο η **αύξηση του τίτλου στην πορεία της νόσου** μπορεί να αποτελέσει ένδειξη ενεργής λοίμωξης. Άρα συνιστάται να υπάρχουν δυο δείγματα του ορού, ένα στην αρχή της νόσου και ένα μετά τη 10^η μέρα, οπότε, αν βρεθεί άνοδος του τίτλου κατά δυο σωληνάρια (άνω του τετραπλασίου) θεωρείται θετικό το αποτέλεσμα.

Η μέθοδος μπορεί να γίνει και με συγκολλητινοαντίδραση latex ή με παθητική αιμοσυγκόλληση με ερυθρά αιμοσφαίρια ευαισθητοποιημένα (καλυμμένα) με τα O και H αντιγόνα σαλμονελλών. Είναι μέθοδοι ταχείες και προκαταρκτικές.

13.6 Wright

Είναι αντίδραση μικροβιακής συγκόλλησης (συγκολλητινοαντίδραση). Κατ' αυτήν ανιχνεύονται αντισώματα έναντι των βρουκελλών στον ορό του αίματος ασθενών που πάσχουν από βρουκέλλωση (μελιταίο πυρετό). Χρησιμοποιείται ευρύτατα στα εργαστήρια. Σαν αντιγόνο χρησιμοποιείται στέλεχος Br.abortus που έχει νεκρωθεί με θέρμανση. Η συγκολλητινοαντίδραση αυτή γίνεται με αραιώσεις του ορού σε σωληνάρια ή σε πλάκα.

13.6.1 Wright σε σωληνάρια

Αντιδραστήρια:

1. Το αντιγόνο είναι εναιώρημα καλλιεργήματος της *B.abortus* στέλεχος 1019 που έχει μεγάλη αντιγονική σταθερότητα και μειωμένη παθογόνο δράση. Φέρεται έτοιμο στο εμπόριο.
2. Ο ορός του αρρώστου πρέπει να είναι διαυγής και όχι αιμολυμένος.
3. Το αραιωτικό υγρό με το οποίο θα γίνουν οι αραιώσεις του ορού είναι κοινό NaCl 0,85%. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί πυκνό διάλυμα NaCl 5% για να εξουδετερωθεί η εμφάνιση προζώνης.
4. Ο θετικός μάρτυρας είναι ορός γνωστού τίτλου, τον οποίο αραιώνουμε όπως και το εξεταστέο δείγμα για να δούμε αν θα δώσει τον αναμενόμενο τίτλο.

Εκτέλεση:

1. Σε μια σειρά από 10 σωληνάρια κάνουμε υποδιπλάσιες αραιώσεις του εξεταζόμενου ορού.
2. Προσθέτουμε σε όλα τα σωληνάρια το αντιγόνο.
3. Ανακινούμε το στατό και το τοποθετούμε στον κλίβανο των 37° C, όπου το αφήνουμε μέχρι την επόμενη και μεθεπόμενη μέρα (48ωρο) και διαβάζουμε. Μετά τις πρώτες 24 ώρες κάνουμε την πρώτη ανάγνωση και αν είναι θετική η αντίδραση ειδοποιούμε την κλινική, αλλά η τελική ανάγνωση του τίτλου θα γίνει μετά 48ωρη επώαση. Τίτλος της αντίδρασης είναι η τελευταία αραιώση στην οποία παρατηρείται συγκόλληση.

Παρατηρήσεις

Πρόβλημα μπορεί να παρατηρηθεί με το φαινόμενο προζώνης, όπου στις μικρές αραιώσεις του ορού δεν παρατηρείται συγκόλληση λόγω της περίσσειας των αντισωμάτων (βλέπε κεφάλαιο ΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΝΟ-ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ). Το φαινόμενο προζώνης μπορεί να αποφευχθεί με δυο τρόπους:

- α) αν χρησιμοποιήσουμε σαν αραιωτικό διάλυμα πυκνό διάλυμα NaCl 5% ή
- β) αν προσθέσουμε αντι-ανθρώπινη γ σφαιρίνη (anti-human ή αντισφαιρινικό ορό ή ορό Coombs όπως επίσης ονομάζεται). Η αντι-ανθρώπινη γ σφαιρίνη θα συνδεθεί με τα αντισώματα που είναι προσκολλημένα πάνω στις βρουκέλλες και θα τα συμπλησιάσει μεταξύ τους κάνοντας ορατή συγκόλληση. Η αντίδραση Wright στην οποία προστίθεται αντισφαιρινικός ορός ονομάζεται **"Wright Coombs"** και περιγράφεται παρακάτω.

Αξιολόγηση της Wright

Τίτλος 1:40 και κάτω δεν αξιολογείται σαν θετικός. Τίτλος 1:80 θεωρείται οριακός και θα αξιολογηθεί ανάλογα με την περίπτωση, αν δηλαδή ο ασθενής είναι κάτοικος πόλεων που δεν έχει καμιά σχέση με την κτηνοτροφία, αν είναι η πρώτη φορά που αρρωσταίνει με συμπτώματα ύποπτα για βρουκέλλωση κ.λ.π. Συνιστάται τότε να ξαναγίνει δοκιμή με νέο δείγμα που θα ληφθεί μετά από μια ή δυο εβδομάδες. Αν όμως ο ασθενής έχει σχέση με κτηνοτροφία, αν έρχεται σε επαφή με ζώα (κρεοπώλης, κτηνίατρος), ή μένει σε περιοχή όπου ενδημεί η νόσος, τίτλος 1:80 θα θεωρηθεί αρνητικός. Τα ίδια περίπου ισχύουν και για τίτλο 1:160. Τίτλος όμως 1:320 δεν μπορεί να αγνοηθεί και θεωρείται ενδεικτικός ότι το άτομο πάσχει από βρουκέλλωση.

13.6.2 Wright σε πλάκα

Το αντιγόνο είναι πυκνό εναιώρημα του προτύπου στελέχους που χρησιμοποιείται και στη μέθοδο των σωληναρίων. Προσφέρεται έτοιμο στο εμπόριο σε συσκευασία μαζί με την πλάκα και τους μάρτυρες.

Εκτέλεση

Ακολουθούνται οι οδηγίες του κατασκευαστή. Σε γενικές γραμμές:

1. Στην πλάκα τοποθετούνται διαδοχικά ελαττούμενες ποσότητες του εξεταζόμενου ορού.
2. Προσθέτουμε από μια σταγόνα του αντιγόνου.
3. Ανακατεύουμε με οδοντογλυφίδα αρχίζοντας από την τελευταία αραιώση του ορού.
4. Ανακινούμε συνεχώς την πλάκα μπρος-πίσω και κυκλικά για 3 λεπτά και διαβάζουμε.

Σε θετική αντίδραση θα δούμε λεπτή συγκόλληση. Τίτλος αντισωμάτων είναι η τελευταία αραιώση που παρουσιάζει σαφή συγκόλληση. Η μέθοδος έχει το προσόν ότι είναι ταχεία και δεν απαιτεί σωληνάρια. Είναι καλή για προκαταρκτική εξέταση αλλά δεν έχει επαναληψιμότητα στον τίτλο. Είναι μέθοδος για μικρά εργαστήρια ή για οροεπιδημιολογικές μελέτες.

13.6.3 Wright Coombs

Γνωρίζουμε ότι στον ορό ασθενών υπάρχουν τα λεγόμενα "ατελή" αντισώματα, τα οποία προσκολλώνται μεν πάνω στις βρουκέλλες αλλά δεν προκαλούν τη συγκόλλησή τους. Αυτό συμβαίνει στις μικρές αραιώσεις του ορού λόγω περίσσειας των αντισωμάτων σε σχέση με τα αντιγονικά μόρια της βρουκέλλας (φαινόμενο προζώνης). Για να γίνει ορατή η συγκόλληση προσθέτουμε αντισφαιρινικό ορό (anti-human, ή αντι-ανθρώπινη γ σφαιρίνη, ή ορό Coombs) που είναι αντίσωμα έναντι των αντισωμάτων των προσκολλημένων πάνω στις βρουκέλλες. Ο ορός αυτός αναγνωρίζει τα αντισώματα αυτά, ενώνεται μ' αυτά και λειτουργώντας σαν γέφυρα ανάμεσά τους συμπλησιάζει τα κύτταρα της βρουκέλλας επί των οποίων είναι προσκολλημένα και τα συγκλλά.

Αντιδραστήρια

1. Αντισφαιρινικός ορός έτοιμος στο εμπόριο
2. Αντιγόνο εναιώρημα νεκρό B.abortus

Εκτέλεση:

1. Γίνονται σε σωληνάρια υποδιπλάσιες αραιώσεις του εξεταζόμενου ορού με φυσιολογικό διάλυμα NaCl.
2. Προσθέτουμε αντιγόνο σε όλα τα σωληνάρια.
3. Αφήνουμε το στατό σε υδατόλουτρο 37° C για 2 ώρες.
4. Φυγοκεντρούνται τα σωληνάρια στις 3000 στροφές για 5 λεπτά. Πιετίζεται το υπερκείμενο, προστίθεται φυσιολογικό διάλυμα NaCl και ξαναφυγοκεντρείται. Επαναλαμβάνεται το πλύσιμο αυτό τρεις φορές για να φύγει κάθε ίχνος από τον ορό και τελικά επαναιωρούνται τα ιζήματα σε φυσιολογικό διάλυμα NaCl.
5. Προστίθεται σε κάθε σωληνάριο από 1 σταγόνα αντισφαιρινικού ορού αραιωμένου 1:50.
6. Φέρεται το στατό στον κλίβανο των 37° C όπου αφήνεται μέχρι την άλλη μέρα οπότε και το διαβάζουμε.

Ανάγνωση:

Διαβάζεται όπως κάθε συγκολλητινοαντίδραση. Αν δεν υπάρχουν αντιβrouκελλικά αντισώματα δεν θα παρατηρηθεί συγκόλληση σε κανένα σωληνάριο. Αν υπάρχουν θα εμφανιστεί συγκόλληση. Η τελευταία αραιώση του ορού που δίνει πλήρη συγκόλληση δηλώνει τον τίτλο των αντισωμάτων.

Ερμηνεία:

Η δοκιμή αυτή βγαίνει συχνότερα θετική σε σχέση με τη Wright και σε υψηλότερο τίτλο, θετικός θεωρείται τίτλος από 1:160 και άνω.

13.7 VDRL

Η αντίδραση VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) είναι κροκιδωτική δοκιμή, ανήκει στις συγκολλητινοαντιδράσεις και με αυτήν αναζητούνται στον ορό του αίματος αντισώματα τα οποία εμφανίζονται σε άτομα που έχουν προσβληθεί από το μικρόβιο της σύφιλης (δηλαδή από το ωχρό τρεπόννημα ή ωχρά σπειροχαίτη όπως ονομάζεται).

Τα αντισώματα αυτά αντιδρούν με αντιγόνο καρδιολιπίνης. Η καρδιολιπίνη είναι ένα φωσφολιπίδιο που βρίσκεται στις μεμβράνες των μιτοχονδρίων σε πολλά όργανα του σώματος. Τα αντισώματα έναντι της καρδιολιπίνης που ανιχνεύονται σε ασθενείς με σύφιλη οφείλονται στην αντίδραση του μικροβίου με τους ιστούς του ασθενούς.

Αντιδραστήρια:

1. Αντιγόνο καρδιολιπίνης
2. Ρυθμιστικό διάλυμα με NaCl 1%
3. Θετικός μάρτυρας
4. Αρνητικός μάρτυρας
5. Ορός του αρρώστου

Τα αντιδραστήρια προσφέρονται από τις εταιρίες σε kit. Η εξέταση γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Πριν την έναρξη, ο προς εξέταση ορός αδρανοποιείται στους 56° C για 30 λεπτά.

Εκτέλεση:

1. Σε πλάκα τίθεται αδρανοποιημένος ορός.
2. Στη συνέχεια προστίθεται διάλυμα του αντιγόνου.
3. Γίνεται ανακίνηση της πλάκας και ακολουθεί ανάγνωσή της στο μικροσκόπιο. Η ύπαρξη κροκίδων χαρακτηρίζει την αντίδραση ως θετική. Η ίδια διαδικασία γίνεται και με τον θετικό και τον αρνητικό μάρτυρα. Μπορεί να γίνει και ποσοτική VDRL με αραιώσεις του ορού.

Αξιολόγηση:

Η VDRL χρησιμοποιείται ευρύτατα στην καθημερινή πράξη για την εργαστηριακή διάγνωση της σύφιλης. Βγαίνει θετική συνήθως 4-6 εβδομάδες μετά τη μόλυνση, είναι δε σε πολύ ψηλά ποσοστά θετική -σχεδόν πάντα- στο δεύτερο στάδιο της νόσου. Ο τίτλος της πέφτει με τη θεραπεία, γι' αυτό είναι χρήσιμη δοκιμασία για τον έλεγχο του θεραπευτικού αποτελέσματος (δείκτης ίασης).

Επειδή όμως τα αντισώματα που ανιχνεύει η VDRL είναι αντισώματα έναντι της καρδιολιπίνης και όχι ειδικά αντισώματα έναντι του μικροβίου, η αντίδραση μπορεί να βγει θετική και σε μερικές άλλες περιπτώσεις όπου επίσης παρατηρούνται αντισώματα έναντι της καρδιολιπίνης. Έτσι η εξέταση βγαίνει ψευδώς θετική σε άτομα που πάσχουν από κολλαγονώσεις, λέπτρα, ελονοσία, λοιμώδη μονοπυρήνωση, ηπατίτιδα και άλλα λοιμώδη νοσήματα, πιθανόν σε εγκυμοσύνη κ.λπ. Άρα, σε περίπτωση θετικής VDRL πρέπει να γίνει επιβεβαίωση με ειδικές δοκιμασίες που ανιχνεύουν αντισώματα **ειδικά** έναντι του μικροβίου. Η θετική VDRL για να θεωρηθεί διαγνωστική για σύφιλη πρέπει να συσχετίζεται και με άλλα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα.

Μολονότι η VDRL δεν είναι ειδική για τη σύφιλη, η μεγάλη ευαισθησία της, αλλά και η ευκολία και η ταχύτητα στην εκτέλεσή της καθώς και το χαμηλό της κόστος την κάνει εξαιρετικά χρήσιμη στην καθημερινή εργαστηριακή πράξη.

13.8 RPR

Η αντίδραση RPR (Rapid Plasma Reagin) είναι τροποποίηση της VDRL. Το αντιγόνο είναι το ίδιο (καρδιολιπίνη) αλλά επί πλέον περιέχει κοκκία άνθρακα που κάνουν την κροκίδωση εντονότερη και εύκολα ορατή με γυμνό μάτι. Έχει την ίδια ευαισθησία και την ίδια ειδικότητα με την VDRL.

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Οι ορολογικές αντιδράσεις είναι αντιδράσεις που γίνονται στον ορό του αίματος των ασθενών. Με τις αντιδράσεις αυτές αναζητούνται στον ορό του αίματος αντισώματα εναντίον μικροβίων, ιών, παρασίτων, καθώς και διάφοροι παράγοντες όπως ο ρευματοειδής παράγοντας, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη κ.α. Οι πιο συνηθισμένες ορολογικές αντιδράσεις είναι οι εξής:

Η ASTO, που αναζητά στον ορό του αίματος αντισώματα εναντίον της στρεπτολυσίνης-Ο του πυογόνου στρεπτόκοκκου σε άτομα που πάσχουν από στρεπτοκοκκική λοίμωξη. Η συνήθης μέθοδος ανίχνευσής της είναι η μέθοδος αναστολής της αιμόλυσης. Μπορεί όμως να χρησιμοποιηθεί και η μέθοδος latex.

Η CRP, που προσδιορίζει το ποσό της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης στον ορό του αίματος. Το ποσό αυτό αυξάνει σε ενεργό φλεγμονή, καταστροφή ιστών και νεοπλασίες. Οι συνήθεις μέθοδοι προσδιορισμού της είναι η μέθοδος latex και η νεφελομετρία η οποία είναι και μέθοδος εκλογής γιατί συνδυάζει ακριβή ποσοτική μέτρηση, μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα.

Ο Ρευματοειδής παράγοντας (RF) που είναι αντίσωμα εναντίον του Fc κλάσματος της IgG και βρίσκεται αυξημένος κυρίως στη ρευματοειδή αρθρίτιδα αλλά και σε άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, σε οξείες και χρόνιες λοιμώξεις, νεοπλασίες κ.λ.π. Κλασική μέθοδος ανίχνευσής του υπήρξε η μέθοδος latex, σήμερα όμως μέθοδος εκλογής είναι η νεφελομετρία που συνδυάζει μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα και δίνει ποσοτικά αποτελέσματα.

Το Mono test που ανιχνεύει τα ετερόφιλα αντισώματα που παράγονται στην λοιμώδη μονοπυρήνωση και βοηθά στην εργαστηριακή διάγνωση της νόσου.

Η Widal που είναι αντίδραση μικροβιακής συγκόλλησης (συγκολλητινοαντίδραση) με την οποία ανιχνεύονται στον ορό του αίματος αντισώματα εναντίον των σαλμονελλών.

Η Wright που είναι αντίδραση μικροβιακής συγκόλλησης (συγκολλητινοαντίδραση) με την οποία ανιχνεύονται στον ορό του αίματος αντισώματα εναντίον των βρουκελλών.

Η VDRL και η RPR που είναι κροκιδωτικές δοκιμές με τις οποίες αναζητούνται στον ορό του αίματος αντισώματα εναντίον της καρδιολιπίνης τα οποία παράγονται σε ασθενείς με σύφιλη.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Τι ονομάζουμε ορολογικές αντιδράσεις; Ποιες είναι οι πιο συνηθισμένες ορολογικές αντιδράσεις που γίνονται στο εργαστήριο;
2. Τι ανιχνεύει η ASTO; Με ποιες μεθόδους γίνεται συνήθως ο προσδιορισμός της;
3. Πότε είναι αυξημένη η ASTO;
4. Τι είναι η CRP; Ποιες είναι οι μέθοδοι ανίχνευσής της και ποια είναι η μέθοδος εκλογής (η μέθοδος που προτιμάται);
5. Πότε αυξάνει η CRP;
6. Τι είναι ο ρευματοειδής παράγοντας; Με ποιες μεθόδους τον προσδιορίζουμε; Ποια είναι η μέθοδος εκλογής;
7. Σε ποιες περιπτώσεις είναι θετικός ο ρευματοειδής παράγοντας;
8. Τι είναι το Mono test;
9. Τι είναι η Widal; Πώς αξιολογείται;
10. Τι είναι η Wright; Πώς αξιολογείται;
11. Τι είναι η Wright Coombs; Γιατί γίνεται;
12. Τι είναι η VDRL;
13. Πότε βγαίνει ψευδώς θετική η VDRL;
14. Τι είναι η RPR;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 14°

ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΥΝΔΕΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ

Είναι από τις παλαιότερες ορολογικές διαγνωστικές μεθόδους. Με αυτές αναζητούμε στον ορό του αίματος αντισώματα που με το ομόλογο αντιγόνο σχηματίζουν σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος το οποίο συνδέει και καταναλώνει το συμπλήρωμα. Κλασική εφαρμογή των αντιδράσεων αυτών είναι η αντίδραση **Wasserman** στη σύφιλη. Η αντίδραση σύνδεσης του συμπληρώματος μπορεί να εφαρμοστεί εκτός από τη σύφιλη και σε πολλά άλλα μικροβιακά, ιογενή και παρασιτικά νοσήματα. Παλαιότερα είχε χρησιμοποιηθεί και στην εχινοκκοκίαση (αντίδραση Weinberg). Σήμερα αυτές οι αντιδράσεις δεν χρησιμοποιούνται πια και εδώ γίνεται μια σύντομη αναφορά στην αντίδραση Wasserman για λόγους κυρίως διδακτικούς.

Αρχή της μεθόδου σύνδεσης του συμπληρώματος:

Γνωρίζουμε ότι κάθε αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος προκαλεί την σύνδεση συμπληρώματος. Η σύνδεση αυτή του συμπληρώματος όμως δεν είναι ορατή, γι' αυτό προστίθεται σε δεύτερη φάση ένας δείκτης. Σαν δείκτης χρησιμοποιούνται ερυθρά αιμοσφαίρια προβάτου και ορός ζώου που περιέχει αντισώματα προς τα ερυθρά αυτά. Αυτό είναι το λεγόμενο αιμολυτικό σύστημα. Για να δράσει το αιμολυτικό σύστημα και να αιμολύσει τα ερυθρά, πρέπει να υπάρχει ελεύθερο συμπλήρωμα (να μην έχει δεσμευτεί στην προηγούμενη φάση από σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος). Αν δεν υπάρχει ελεύθερο συμπλήρωμα (έχει δηλαδή δεσμευτεί στην προηγούμενη φάση), δεν θα γίνει αιμόλυση. Συνεπώς θετική είναι η αντίδραση σύνδεσης του συμπληρώματος, όταν το συμπλήρωμα που θα βάλουμε δεσμευτεί όλο στην πρώτη φάση οπότε δεν θα γίνει αιμόλυση στη δεύτερη φάση.

14.1 Αντίδραση Wasserman

Φάσεις της αντίδρασης:

Στην Wasserman αναζητούμε στον ορό του ασθενούς αντισώματα έναντι της καρδιολιπίνης που εμφανίζονται σε ασθενείς με σύφιλη (για τα αντισώματα αυτά μιλήσαμε και στο προηγούμενο κεφάλαιο της VDRL). Η αντίδραση Wasserman γίνεται σε δυο φάσεις.

1^η φάση:

1. Φέρνουμε σε επαφή τον εξεταζόμενο ορό με αντιγόνο καρδιολιπίνης. Αν στον ορό υπάρχουν αντισώματα έναντι της καρδιολιπίνης, θα ενωθούν με το αντιγόνο και θα σχηματιστεί σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος.
2. Στη συνέχεια προσθέτουμε συμπλήρωμα, το οποίο **θα συνδεθεί** από το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος. Η πρώτη φάση ολοκληρώθηκε, η αντίδραση όμως αυτή δεν δίνει ορατό αποτέλεσμα. Πρέπει με κάποιο τρόπο να διαπιστώσουμε αν συνδέθηκε το συμπλήρωμα. Για να γίνει ορατό το αποτέλεσμα προχωρούμε στην δεύτερη φάση

2^η φάση:

Για να δούμε αν συνδέθηκε το συμπλήρωμα που βάλαμε στην πρώτη φάση, προσθέτουμε ένα **αιμολυτικό σύστημα**. Δηλαδή μίγμα ερυθρών προβάτου με αντιπροβάτειο αιμολυτικό ορό. Ο αντιπροβάτειος αιμολυτικός ορός έχει την ιδιότητα να αιμολύει τα ερυθρά του προβάτου με την παρουσία συμπληρώματος. Αν στη δεύτερη φάση υπάρχει ελεύθερο συμπλήρωμα (δεν δεσμεύτηκε δηλαδή στην πρώτη φάση), αυτό θα συνδεθεί με το αιμολυτικό σύστημα και θα προκληθεί λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Η αντίδραση αυτή γίνεται ορατή σαν αιμόλυση.

Ερμηνεία της αντίδρασης - Περιπτώσεις:

- A) Αν στον ορό του αίματος **υπάρχουν αντισώματα** έναντι της καρδιολιπίνης, αυτά θα ενωθούν με το αντιγόνο, και το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος θα συνδέσει το συμπλήρωμα που προσθέσαμε. Όταν στη συνέχεια, στη 2^η φάση, προσθέσουμε το αιμολυτικό σύστημα δεν θα υπάρχει συμπλήρωμα (αφού συνδέθηκε στην 1^η φάση) και **δεν θα γίνει αιμόλυση. Η Wasserman είναι θετική.**
- B) Αντίθετα, αν στον εξεταζόμενο ορό **δεν υπάρχουν αντισώματα**, δεν θα συνδεθεί το συμπλήρωμα στην 1^η φάση της δοκιμής, θα παραμείνει ελεύθερο και όταν στη 2^η φάση προσθέσουμε το αιμολυτικό σύστημα **θα γίνει αιμόλυση. Η Wasserman είναι αρνητική.**

Άρα: Απουσία αιμόλυσης	=	θετική Wasserman
Αιμόλυση	=	Αρνητική Wasserman

Αντιδραστήρια

1. Αντιγόνο καρδιολιπίνης: Είναι αλκοολικό διάλυμα εκχυλίσματος καρδιάς βοδιού που περιέχει χοληστερίνη και λεκιθίνη. Είναι τυποποιημένο και προσφέρεται έτοιμο στο εμπόριο.
2. Συμπλήρωμα: Είναι ορός αίματος ινδοχοίρου. Προσφέρεται έτοιμο στο εμπόριο λυοφιλοποιημένο. Η ανασύστασή του γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες.
3. Αιμολυτικό σύστημα. Αποτελείται από ερυθρά προβάτου και αιμολυτικό αντιπροβάτειο ορό (δηλαδή αντισώματα έναντι των ερυθρών του προβάτου που προκαλούν αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων). Ο αιμολυτικός ορός είναι ορός ίππου ή κουνελιού που ανοσοποιήθηκε προς τα ερυθρά αιμοσφαίρια του προβάτου. Παρασκευάζεται μετά από επανειλημμένες ενέσεις ερυθρών αιμοσφαιρίων προβάτου σε ίππο ή κουνέλι, οπότε παράγονται αντισώματα έναντι τους που τα παίρνουμε με αιμοληψία.
4. Θετικός μάρτυρας. Μπορεί να είναι ορός αίματος θετικού αρρώστου ή να τον αγοράσουμε έτοιμο από το εμπόριο.
5. Ορός αίματος του εξεταζόμενου. Πριν από την εξέταση αδρανοποιείται στους 56° για 30 λεπτά.

Αξιολόγηση του αποτελέσματος:

Όπως η VDRL έτσι και η Wasserman ανιχνεύει αντισώματα έναντι της καρδιολιπίνης. Τα αντισώματα αυτά δεν παρατηρούνται μόνο στη σύφιλη αλλά και σε άλλα νοσήματα. Έτσι η Wasserman βγαίνει ψευδώς θετική στις νόσους που βγαίνει και η VDRL (λέπρα, ελονοσία, κολλαγονώσεις, λοιμώδη μονοπυρήνωση, ηπατίτιδα κ.λπ.). Ένας τρόπος για να ξεχωρίσει μια ψευδώς θετική Wasserman από μια αληθινή

θετική αντίδραση είναι να δώσουμε πενικιλίνη. Αν πρόκειται για σύφιλη, στην επανάληψη της εξέτασης θα πάρουμε αρνητικό αποτέλεσμα, ενώ αν πρόκειται για ψευδώς θετική, η αντίδραση θα παραμείνει θετική και μετά τη λήψη πενικιλίνης.

Οι δοκιμές VDRL και Wasserman λέγονται **μη τρεπονημικές** (επειδή το αντιγόνο που χρησιμοποιούν δεν είναι αντιγόνο του μικροβίου ωχρού τρεπονήματος αλλά είναι αντιγόνο καρδιολιπίνης). Οι δοκιμές αυτές βγαίνουν θετικές στο 70-77 % των ασθενών που πάσχουν από πρωτογενή, όψιμη, ή λανθάνουσα σύφιλη. Στη δευτερογενή όμως σύφιλη τα ποσοστά είναι πολύ μεγαλύτερα (90 % και πλέον). Οι αντιδράσεις αυτές έχουν το πλεονέκτημα ότι αρνητικοποιούνται μετά την επιτυχημένη θεραπεία και την ίαση, δηλαδή **χρησιμεύουν ως δείκτης ίασης της νόσου**.

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Οι αντιδράσεις σύνδεσης του συμπληρώματος είναι ορολογικές αντιδράσεις που βασίζονται στην ιδιότητα που έχουν τα συμπλέγματα αντιγόνου-αντισώματος να συνδέουν το συμπλήρωμα. Η σύνδεση όμως του συμπληρώματος δεν φαίνεται, γι' αυτό χρησιμοποιούμε σε δεύτερη φάση ένα αιμολυτικό σύστημα (ερυθρά προβάτου με αντιπροβάτειο ορό).

Αν υπάρχει στον εξεταζόμενο ορό το ομόλογο αντίσωμα, θα ενωθεί με το αντιγόνο και θα συνδεθεί το συμπλήρωμα, οπότε δεν απομένει συμπλήρωμα ελεύθερο για να προκαλέσει αιμόλυση του αιμολυτικού συστήματος (μη αιμόλυση = θετική αντίδραση). Αντίθετα, αν λείπει το αντίσωμα, το συμπλήρωμα δε συνδέεται, μένει ελεύθερο και προκαλεί αιμόλυση του αιμολυτικού συστήματος (αιμόλυση = αρνητική αντίδραση).

Κλασική εφαρμογή της αντίδρασης σύνδεσης του συμπληρώματος είναι η αντίδραση Wasserman που χρησιμοποιήθηκε στην ορολογική διάγνωση της σύφιλης.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Ποια είναι η αρχή της μεθόδου σύνδεσης του συμπληρώματος;
2. Περιγράψτε με συντομία την Wasserman. Πότε θα πούμε ότι είναι θετική και πότε αρνητική;
3. Ποιο αντιγόνο χρησιμοποιείται στην Wasserman;
4. Τι είναι το αιμολυτικό σύστημα;
5. Πώς αξιολογείται το αποτέλεσμα της Wasserman. Πότε βγαίνει ψευδώς θετική;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 15°

ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΣΕΣΗΜΑΣΜΕΝΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ Ή ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ

15.1 Γενικά για τα φθοριοχρώματα, ραδιοϊσότοπα και ένζυμα

Ένας μεγάλος αριθμός ανοσολογικών τεχνικών έχει αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια και εφαρμόζεται συστηματικά πλέον στο ανοσολογικό εργαστήριο και όχι μόνο. Αυτές οι τεχνικές εκμεταλλεύονται την αντίδραση αντιγόνου - αντισώματος (Ag-Ab), δηλαδή την ιδιότητα των αντισωμάτων να αναγνωρίζουν ανάμεσα από πλήθος άλλων ουσιών τα αντίστοιχα προς αυτά αντιγόνα, και να σχηματίζουν ανοσοσυμπλέγματα. Επίσης, χρησιμοποιούν την επισήμανση είτε του αντιγόνου είτε του αντισώματος με κάποιες 'ουσίες' που επιτρέπουν την εύκολη σχετικά ανίχνευση και μέτρησή τους. Είναι πλέον σχετικά απλή υπόθεση η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός αντιγόνων όπως οι πρωτεΐνες του ορού, οι ορμόνες και διάφοροι καρκινικοί δείκτες που μας βοηθούν στην επιτυχή διάγνωση ασθενειών.

Το 1941 ο Coons, πρωτοπαρουσίασε τη σήμανση ειδικών αντισωμάτων με φθορίζουσες χρωστικές ενώ το 1959 οι R. S. Yalow και S. R. Berson, οι οποίοι τιμήθηκαν με βραβείο Nobel το 1977, χρησιμοποίησαν αντιγόνο επισημασμένο με ραδιοϊσότοπο για την μέτρηση της ινσουλίνης. Τέλος το 1966, οι Avrameas και Uriel στη Γαλλία ταυτόχρονα με τους Nakane και Pierce χρησιμοποίησαν για πρώτη φορά τα ένζυμα για την ταυτοποίηση και εντοπισμό αντιγόνων.

Ανάλογα με το τρόπο επισήμανσης που χρησιμοποιείται κάθε φορά έχουν αναπτυχθεί και οι αντίστοιχες μέθοδοι, όπως είναι ο **ανοσοφθορισμός** στην περίπτωση των φθορίζουσων χρωστικών, η **ραδιοανοσολογική μέθοδος (RIA)** στην περίπτωση των ραδιοϊσοτόπων και η **ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA)** στην περίπτωση των ενζύμων τις οποίες και θα εξετάσουμε αναλυτικά παρακάτω.

15.2 Ανοσοφθορισμός

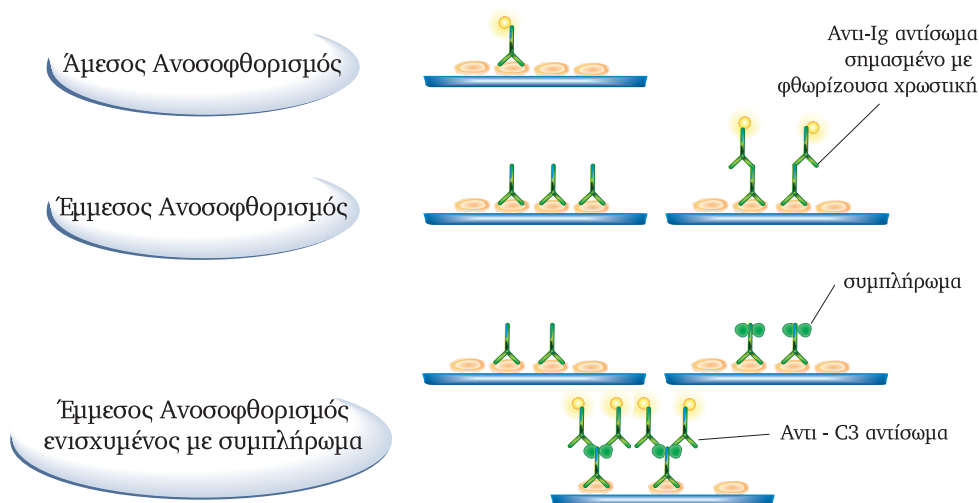
Ανοσοφθορισμός είναι η μέθοδος ανίχνευσης αντιγόνων ή αντισωμάτων σε βιολογικά υλικά με τη χρήση σεσημασμένων αντισωμάτων με φθορίζουσες χρωστικές. Χρησιμοποιείται για τον *in situ* (επί τόπου) εντοπισμό μιας πρωτεΐνης σ' ένα κύτταρο ή ιστό. Πρόκειται για απλή μέθοδο στην εφαρμογή της, η οποία παρουσιάζει μεγάλη επαναληψιμότητα και χρησιμοποιείται τόσο για ερευνητικούς όσο και για διαγνωστικούς σκοπούς. **Φθορισμός** ονομάζεται το φαινόμενο της εκπομπής δευτερεύουσας φωτεινής ακτινοβολίας από ένα διεγερμένο μόριο. Οι φθορίζουσες χρωστικές χρησιμοποιούνται για τη σήμανση αντισωμάτων.

Οι τεχνικές του ανοσοφθορισμού διακρίνονται σε δυο κατηγορίες, στον **άμεσο** και **έμμεσο** ανοσοφθορισμό.

Στον άμεσο ανοσοφθορισμό η φθορίζουσα χρωστική προσδένεται άμεσα στο ειδικό αντίσωμα και εφαρμόζεται στην τομή ή στα μονιμοποιημένα κύτταρα σχηματίζοντας φθορίζον σύμπλεγμα εντοπισμένο στη θέση του αντιγόνου.

Στον έμμεσο ανοσοφθορισμό χρησιμοποιούμε μη επισημασμένο αντίσωμα έναντι του αντιγόνου που εξετάζουμε και στη συνέχεια προσθέτουμε δεύτερο αντίσωμα σημασμένο με φθορίζουσα χρωστική το οποίο παρουσιάζει ειδικότητα έναντι της σταθερής περιοχής του ήδη χρησιμοποιημένου αντισώματος. Το αποτέλεσμα είναι η ενίσχυση του σήματος φθορισμού γιατί σε κάθε δεσμευμένο πρώτο αντίσωμα προσδένονται πάνω από ένα φθορίζοντα αντισώματα, με συνέπεια την αύξηση της ευαισθησίας της μεθόδου.

Αρχή λειτουργίας των Ανοσοφθορισμών



Εικόνα 15.1 Η αρχή λειτουργίας των Ανοσοφθορισμών.

Η διαδικασία που ακολουθείται στον έμμεσο ανοσοφθορισμό είναι η ακόλουθη:

Παρασκευάζονται μονόστιβα κυττάρων σε αντικειμενοφόρους πλάκες. Τα κύτταρα μονιμοποιούνται με φορμαλδεΰδη. Τα παρασκευάσματα επωάζονται με το αντίσωμα έναντι του αντιγόνου που θέλουμε να εντοπίσουμε. Ακολουθεί επώαση με το δεύτερο αντίσωμα που είναι συνδεδεμένο με τη φθορίζουσα ουσία.

Μια επιπλέον παραλλαγή της παραπάνω τεχνικής είναι ο έμμεσος ανοσοφθορισμός, ενισχυμένος από συμπλήρωμα.

Τα παρασκευάσματα εξετάζονται σε ειδικό μικροσκόπιο φθορισμού.

Ραδιοαναστολογική μέθοδος (RIA)

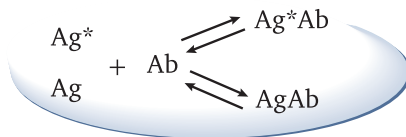
Αρχή λειτουργίας της μεθόδου



Ag = Αντιγόνο Ab = Αντίσωμα
AgAb = Σύμπλοκο αντιγόνου - αντισώματος



Ag* = Ραδιενεργό σημασμένο αντιγόνο
Ag*Ab = Ραδιοϊχνηθετημένο σύμπλοκο
αντιγόνου - αντισώματος



Εικόνα 15.2 Αρχή λειτουργίας της Ραδιοαναστολογικής μεθόδου (RIA). Η Ραδιοαναστολογική μέθοδος στηρίζεται στην ανταγωνιστικότητα ενός επισημασμένου αντιγόνου με το ίδιο μη επισημασμένο αντιγόνο για τις θέσεις δέσμησης του αντίστοιχου αντισώματος το οποίο βρίσκεται σε περιορισμένη ως προς το αντιγόνο συγκέντρωση.

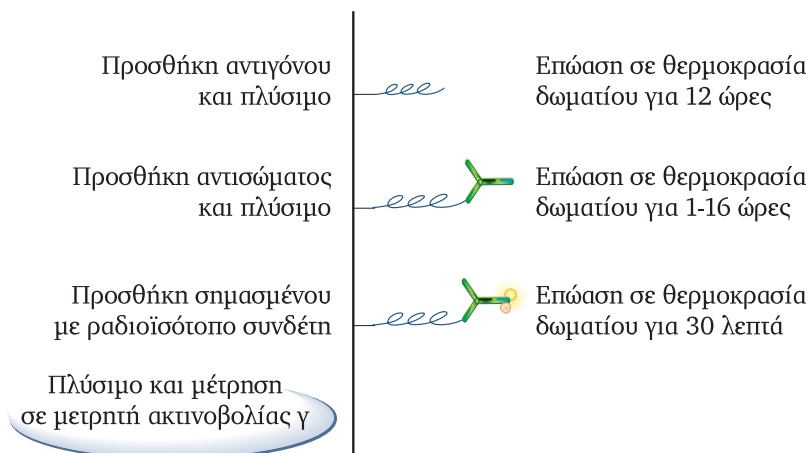
15.3 Ραδιοαναστολογική μέθοδος (RIA)

Πρόκειται για μια απλή, ευαίσθητη μέθοδο η οποία παρουσιάζει υψηλή ακρίβεια ενώ είναι εξαιρετικά οικονομική. Αρχή της μεθόδου είναι η **ανταγωνιστική τεχνική** ή **μέθοδος του περιορισμένου αντιδραστηρίου**.

Χρησιμοποιούμε ραδιενεργά επισημασμένο αντιγόνο το οποίο ανταγωνίζεται με το προς μέτρηση αντιγόνο για την πρόσδεση σε περιορισμένη ποσότητα του αντίστοιχου αντισώματος. Όσο περισσότερο είναι ποσοτικά το μη σημασμένο ή 'ψυχρό' αντιγόνο τόσο λιγότερο επισημασμένο αντιγόνο θα προσδένεται στο αντίσωμα, τόσο ασθενέστερο θα είναι το σήμα και αντίστροφα.

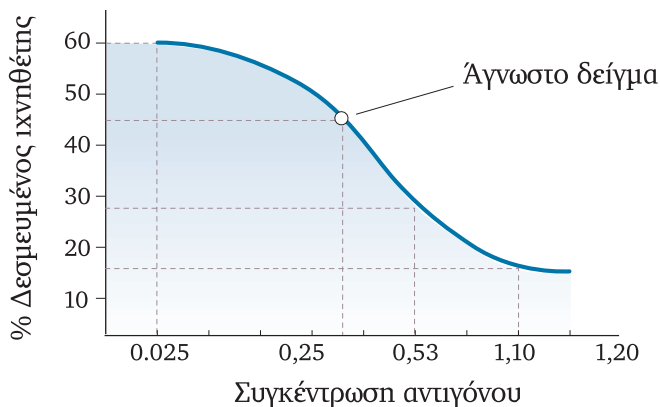
Ραδιοαναστολογική μέθοδος (RIA)

Διαγραμματική απεικόνιση της μεθόδου



Εικόνα 15.3 Διαγραμματική απεικόνιση της Ραδιοαναστολογικής μεθόδου (RIA). Το μη επισημασμένο αντιγόνο αποτελεί στη ραδιοαναστολογική ανάλυση (RIA), είτε πρότυπο διάλυμα για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης, είτε το προς εξέταση δείγμα.

Καμπύλη αναφοράς για ραδιοαναστολογική ανάλυση (RIA)



Εικόνα 15.4 Πρότυπη καμπύλη σε Ραδιοαναστολογική ανάλυση (RIA).

Η μέτρηση της ραδιενέργειας του σύμπλοκου σημασμένου αντιγόνου - αντισώματος γίνεται σε μετρητή ακτινοβολίας γ.

Η χρήση ραδιενεργών ουσιών απαιτεί την απαραίτητη τήρηση κάποιων πρακτικών από το προσωπικό. Τα κυριότερα μέτρα προστασίας είναι:

- α. Η χρήση των ραδιενεργών ουσιών γίνεται σε προκαθορισμένο χώρο με περιορισμένη πρόσβαση του προσωπικού σε αυτόν.
- β. Πρέπει να χρησιμοποιούνται απαραίτητα γάντια μιας χρήσης, ποδιά εργαστηρίου και να πλένονται τα χέρια μετά από κάθε επιμέρους εργασία.
- γ. Η απόρριψη των ραδιενεργών καταλοίπων πρέπει να γίνεται σε προκαθορισμένους χώρους σύμφωνα με τους ισχύοντες κανονισμούς.

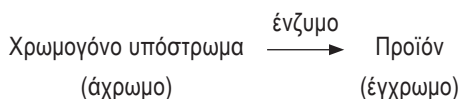
15.4 Ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA)

Η πιο πρόσφατη μέθοδος προσδιορισμού του συμπλέγματος αντιγόνου - αντισώματος είναι η ανοσοενζυμική τεχνική και πιο συγκεκριμένα η μέθοδος ELISA. Πρόκειται για απλή στην εκτέλεσή της τεχνική, η οποία προσφέρει μεγάλη ευαισθησία και ακρίβεια, δεν απαιτεί ειδικό εργαστηριακό εξοπλισμό (εκτός από φωτόμετρο με κατάλληλα φίλτρα) ενώ κυκλοφορεί μεγάλος αριθμός προτυποποιημένων δοκιμασιών (kit) για ένα πολύ μεγάλο φάσμα εφαρμογών. Η αρχή λειτουργίας των ανοσοενζυμικών μεθόδων (ELISA) είναι η κάτωθι:

Ανίχνευση του συμπλέγματος αντιγόνου - αντισώματος ή ακινητοποιημένου αντισώματος με τη χρήση αντισώματος ομοιοπολικά συνδεδεμένου με ένζυμο.

Το ένζυμο με την προσθήκη του κατάλληλου υποστρώματος (άχρωμο) καταλύει την αντίδραση η οποία καταλήγει στον σχηματισμό έγχρωμου προϊόντος.

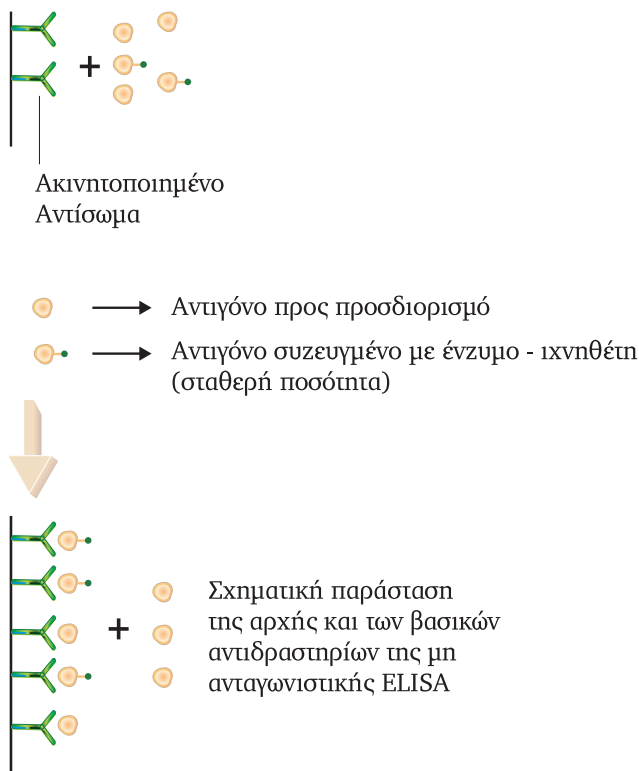
Η ποσότητα του χρώματος (άρα και του προϊόντος) είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του ενζύμου.



Οι ανοσοενζυμικές μέθοδοι διακρίνονται τόσο σε **ανταγωνιστικές**, όπως στην περίπτωση της ραδιοανοσοανάλυσης (RIA) όσο και σε **μη ανταγωνιστικές** (μέθοδος sandwich). Η αρχή λειτουργίας της ανταγωνιστικής μεθόδου είναι ίδια με της ραδιοανοσολογικής μεθόδου με την εξαίρεση της σήμανσης του αντιγόνου με ένζυμο.

Ανταγωνιστική ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA)

Μέθοδος διπλού sandwich

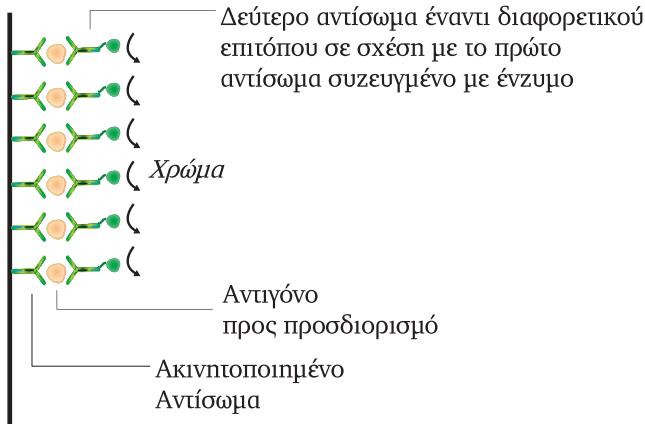


Εικόνα 15.5 Διαγραμματική απεικόνιση της ανταγωνιστικής ανοσοενζυμικής μεθόδου (ELISA).

Στις μη ανταγωνιστικές ανοσοανάλυσεις (ανοσοανάλυσεις δυο θέσεων), χρησιμοποιούνται δυο αντισώματα, ένα επισημασμένο και ένα μη επισημασμένο, ανεπτυγμένα έναντι δυο διαφορετικών επιτόπων της προσδιοριζόμενης ουσίας. Τα αντισώματα αυτά παγιδεύουν το μετρούμενο μόριο υπό μορφή "sandwich". Σε αντίθεση με την ανοσοανάλυση ανταγωνιστικού τύπου, στην περίπτωση αυτή όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση του αντιγόνου, τόσο περισσότερο επισημασμένο αντίσωμα δεσμεύεται.

Σε μια άλλη μορφή μη ανταγωνιστικής ανοσοανάλυσης, που χρησιμοποιείται συνήθως για τον προσδιορισμό τίτλου αντισωμάτων, το προς μέτρηση αντίσωμα συνδέεται με το αντιγόνο και στη συνέχεια συνδέεται στο ανοσοσύμπλεγμα επισημασμένο αντίσωμα έναντι του προς μέτρηση αντισώματος.

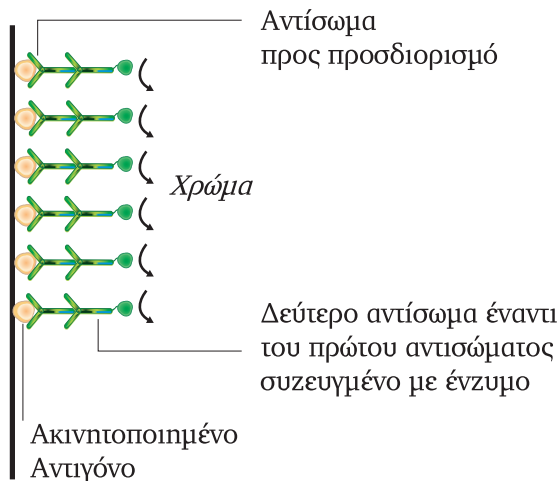
Μέθοδος Sandwich (ELISA)



Εικόνα 15.6: Διαγραμματική απεικόνιση της μη ανταγωνιστικής ανοσοενζυμικής μεθόδου (ELISA).

Μη ανταγωνιστικές ανοσοενζυμικές μεθόδοι (ELISA)

Μέθοδος διπλού sandwich



Εικόνα 15.7: Διαγραμματική απεικόνιση της μη ανταγωνιστικής ανοσοενζυμικής μεθόδου (ELISA) με τη μέθοδο του διπλού sandwich.

Τα συνηθέστερα ένζυμα που χρησιμοποιούνται στις ανοσοενζυμικές μεθόδους (ELISA) είναι η αλκαλική φωσφατάση, η υπεροξειδάση του ραπανιού και η β-γαλακτοσιδάση. Τα αντίστοιχα υποστρώματα που χρησιμοποιούνται είναι η φωσφορική π-νιτροφαινόλη και το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Η διάρκεια της ενζυμικής αντίδρασης είναι μεταξύ 10 και 30 λεπτών.

15.5 Νεότερες Μέθοδοι

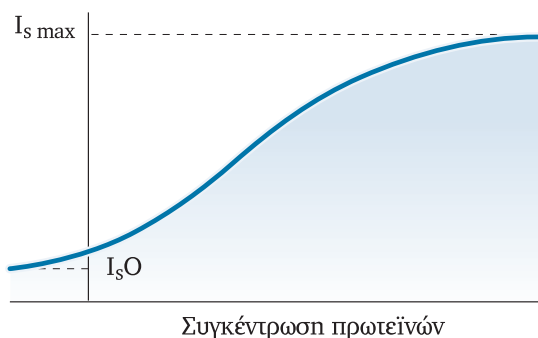
15.5.1 Νεφελομετρία

Πρόκειται για μέθοδο μέτρησης της συγκέντρωσης διαφόρων ουσιών στα βιολογικά υγρά. Αφορά κυρίως πρωτεΐνες οι οποίες αντιδρούν με τα αντισώματά τους σχηματίζοντας συμπλέγματα αντιγόνου - αντισώματος.

Η νεφελομετρία είναι μέθοδος μέτρησης της σκέδασης του φωτός, όταν δέσμη ακτινών από μια φωτεινή πηγή πέσει σε σωματίδια ή μακρομόρια (ανοσοσυμπλέγματα) που βρίσκονται σε ένα διάλυμα. Το ποσοστό του σκεδαζόμενου φωτός από τα συμπλέγματα αντιγόνου - αντισώματος είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση της ουσίας (πρωτεΐνη). Το φως που περνά ή που ανακλάται, μετρείται με κοινά φωτόμετρα ή με φασματοφωτόμετρα. Υπάρχει όμως και η δυνατότητα χρήσης και ειδικών οργάνων όπως είναι τα **νεφελόμετρα**. Πρόκειται για εξειδικευμένα όργανα μέτρησης εκπεμπόμενου φωτός προσαρμοσμένα στην συγκεκριμένη μέθοδο, τα οποία επιτρέπουν την εξέταση μεγάλου αριθμού δειγμάτων.

Υπάρχουν διάφορες νεφελομετρικές μέθοδοι οι οποίες χρησιμοποιούνται για την μέτρηση της συγκέντρωσης του αντιγόνου. Προκειμένου να γίνουν νεφελομετρικοί προσδιορισμοί στο νεφελόμετρο είναι απαραίτητο να χρησιμοποιήσουμε πρότυπα διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης, για τη δημιουργία καμπύλης αναφοράς. Η καμπύλη αναφοράς είναι συνάρτηση της έντασης του σκεδασμένου φωτός (I_s) και της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών.

Καμπύλη αναφοράς για νεφελομετρικούς προσδιορισμούς



Εικόνα 15.8: Πρότυπη καμπύλη για νεφελομετρικούς προσδιορισμούς.

Η νεφελομετρία προσφέρει μια σειρά από πλεονεκτήματα όπως είναι η ευκολία χρήσης των αυτόματων αναλυτών, η μεγάλη ακρίβεια της μεθόδου και η υψηλή ταχύτητα μετρήσεων μεγάλου αριθμού δειγμάτων. Χρησιμοποιείται ευρύτατα για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ανοσοσφαιρινών IgG, IgA, IgM καθώς και της CRP, του RF και των παραγόντων του συμπληρώματος. Έχει χρησιμοποιηθεί και για τη μέτρηση παραγόντων της πήξης, φαρμάκων και ορμονών. Η νεφελομετρία είναι ακριβής, ταχεία, εύκολη στην εφαρμογή της, έχει καλή ευαισθησία και ειδικότητα, δυνατότητα μέτρησης χαμηλών συγκεντρώσεων και είναι αυτοματοποιημένη.

15.5.2 Θολερομετρία

Η θολερομετρία χρησιμοποιείται όπως και η νεφελομετρία για την εκτίμηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών σε βιολογικά υγρά. Σε αυτή την περίπτωση όμως μετράμε την μείωση της έντασης του προσπίπτοντος φωτός κατά τη διέλευσή του από το διάλυμα των συμπλεγμάτων πρωτεΐνης - αντιορού.

Η θολερομετρία χρησιμοποιείται επίσης και για τη μέτρηση της δραστηριότητας των αντιβιοτικών, βιταμινών κτλ. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούμε καλλιέργειες βακτηρίων στις οποίες προσθέτουμε σε κατάλληλες αραιώσεις τα αντιβιοτικά που μελετούμε. Όσο μεγαλύτερη είναι η θολερότητα που οφείλεται στη βακτηριακή ανάπτυξη, τόσο μικρότερη είναι η δραστηριότητα του αντιβιοτικού.

Η ευαισθησία της μεθόδου είναι περίπου ίδια με της νεφελομετρίας με αποτέλεσμα να χρησιμοποιείται εξίσου με τη νεφελομετρία στην καθημερινή εργαστηριακή πρακτική.

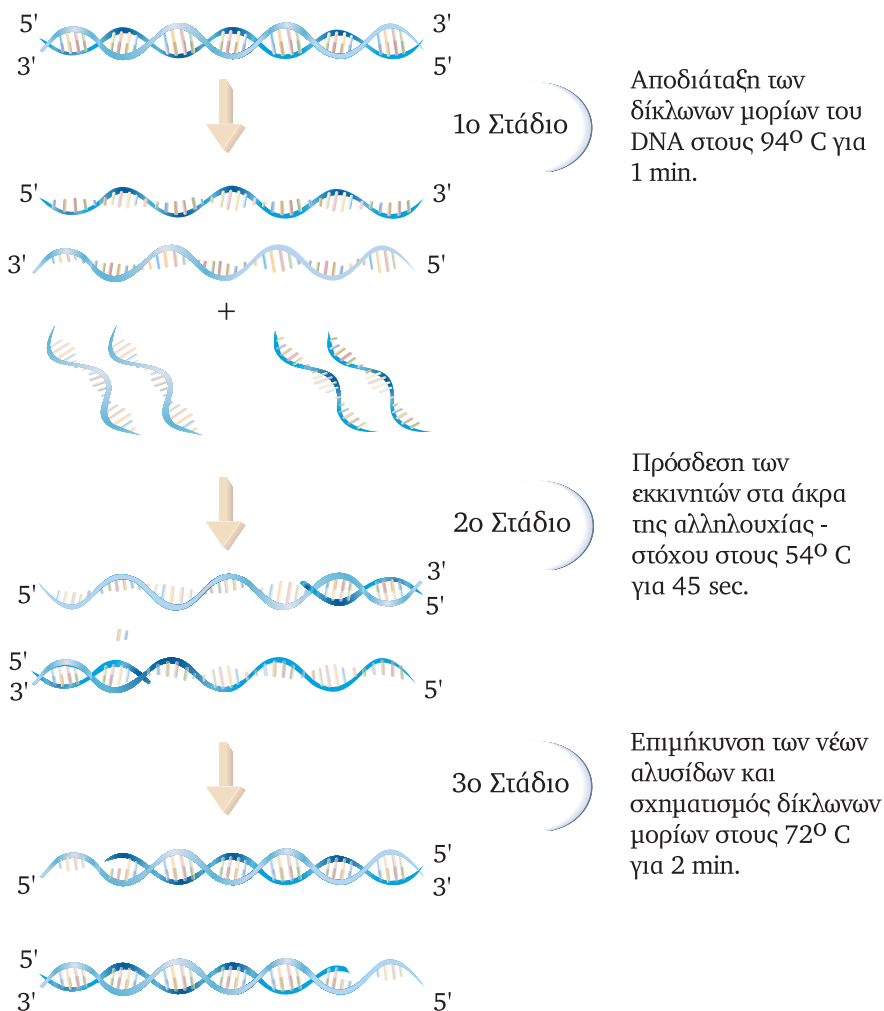
15.5.3 Αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR)

Η τεχνική της Αλυσιδωτής Αντίδρασης της Πολυμεράσης (PCR) πρωτοπαρουσιάστηκε το 1985 από τον K. Mullis (Nobel Χημείας, 1993) και σήμερα αποτελεί την πιο δημοφιλή τεχνική της Μοριακής Βιολογίας.

Το **DNA στόχος** αποτελεί το πρότυπο DNA, το οποίο πολλαπλασιάζεται με ενζυμικό τρόπο σε σημείο που να είναι πλέον ανιχνεύσιμο και εκμεταλλεύσιμο για οποιοδήποτε σκοπό.

Το πρώτο στάδιο της μεθόδου είναι η **αποδιάταξη** του DNA στόχου, δηλαδή η μετατροπή του δίκλωνου μορίου DNA σε μονόκλωνο. Το δεύτερο στάδιο περιλαμβάνει τη σύνδεση των μονόκλωνων τμημάτων με **εκκινητές** (primers), ένα ζεύγος συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων συμπληρωματικών προς τα άκρα της αλληλουχίας στόχου. Το τρίτο στάδιο περιλαμβάνει την επιμήκυνση των νέων αλυσίδων με τη δράση του ενζύμου **Taq πολυμεράση** (πρόκειται για ένζυμο DNA πολυμεράσης με προέλευση το βακτήριο *Thermus aquaticus*, το οποίο διατηρεί τη δράση του σε υψηλές θερμοκρασίες) και των ελεύθερων δεοξυριβονουκλεοτιδίων τα οποία προσδένονται συμπληρωματικά ως προς την αρχική αλυσίδα σχηματίζοντας δυο νέα δίκλωνα μόρια DNA. Η εναλλαγή των τριών σταδίων αποτελεί έναν κύκλο της αντίδρασης του PCR κατά τον οποίο διπλασιάζεται η ποσότητα του DNA.

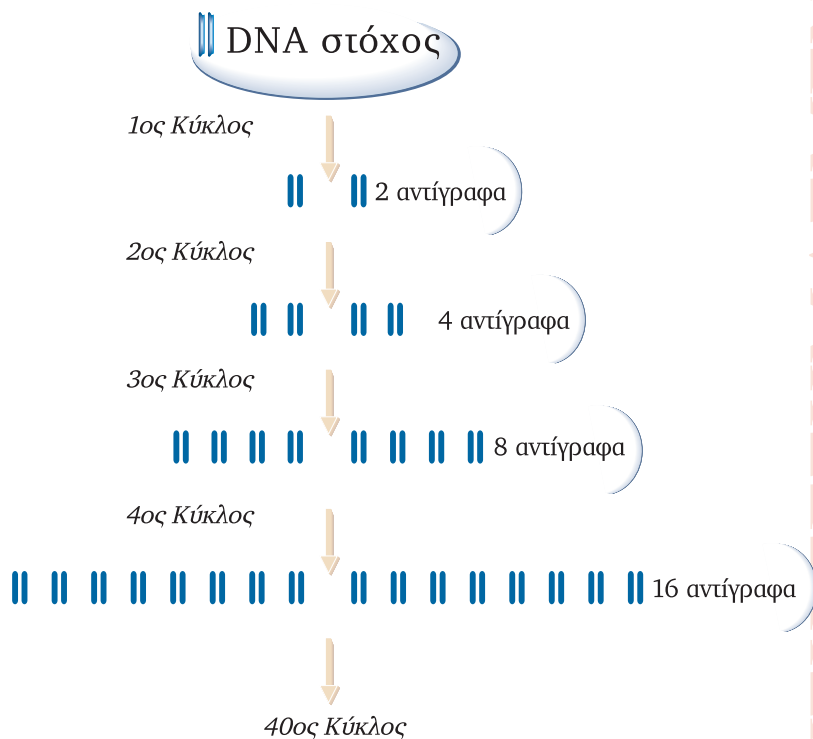
Αλυσιδωτή αντίδραση της Πολυμεράσης (PCR)



Η αντίδραση αποτελείται από πολλαπλές κυκλικές επαναλήψεις των τριών σταδίων

Εικόνα 15.9 Διαγραμματική απεικόνιση των σταδίων κάθε κύκλου αντίδρασης της Αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR). Συνήθως απαιτούνται 25 με 40 κύκλοι για το σχηματισμό ικανής ποσότητας του DNA στόχου. Το προϊόν της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) είναι πολλαπλά αντίγραφα του αρχικού DNA.

Εκθετική αύξηση του DNA



Εικόνα 15.10 Το τμήμα του DNA στόχου πολλαπλασιάζεται 2^n , όπου n είναι ο αριθμός των κύκλων δηλ. εάν πραγματοποιήσουμε 40 κύκλους καταλήγουμε στον σχηματισμό περισσότερων από 1 δισεκατομμύριο αντιγράφων του αρχικού τμήματος του DNA.

Στα σύγχρονα εργαστήρια η όλη διαδικασία είναι αυτοματοποιημένη. Το μόνο που απαιτείται είναι η προσθήκη των κατάλληλων αντιδραστηρίων σε μια ειδική συσκευή, **το θερμικό κυκλοποιητή**.

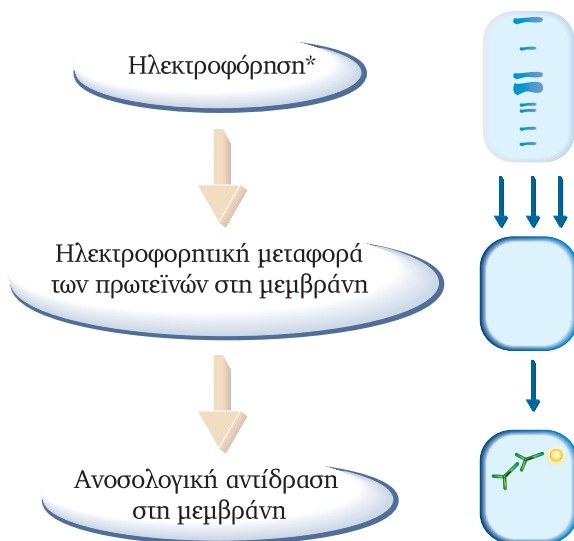
Οι εφαρμογές της μεθόδου είναι πάρα πολλές. Χρησιμοποιείται στην Ιατρική για τη διάγνωση ασθενειών και γενετικών ανωμαλιών ενώ χρησιμοποιείται και στην Εγκληματολογία για τη διελεύκανση υποθέσεων.

15.5.4 Ανοσοαποτύπωμα (WESTERN BLOT)

Με το ανοσοαποτύπωμα (Western Blot) μπορούμε να πιστοποιήσουμε την ύπαρξη μιας οποιασδήποτε πρωτεΐνης, αρκεί να έχουμε αντισώματα έναντι αυτής. Πρόκειται για μέθοδο ποιοτικού προσδιορισμού που εφαρμόζεται μόνο σε πρωτεΐνες. Η τεχνική περιλαμβάνει την ηλεκτροφορητική ανάλυση του αντιγονικού δείγματος και μεταφορά των πρωτεϊνών σε φίλτρο νιτροκυταρίνης, νάυλον ή PVDF. Οι μεμβράνες

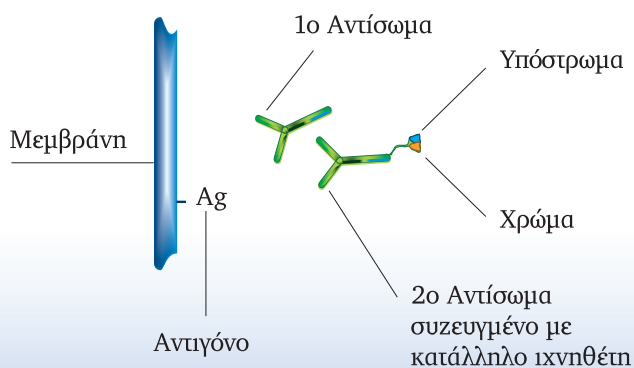
Στάδια του Ανοσοαποτυπώματος - Western Blot

*Ηλεκτροφόρηση ονομάζεται η τεχνική με την οποία διαχωρίζουμε πρωτεΐνες ή πολυπεπτιδικές αλυσίδες στην περίπτωση της αποδιατακτικής ηλεκτροφόρησης, μέσα σε ένα πήκτωμα πολυακρυλαμίδης υπό την επίδραση ενός ηλεκτρικού πεδίου και με βάση το μοριακό τους μέγεθος.



Εικόνα 15.11 Τα στάδια του Ανοσοαποτυπώματος.

Ανοσοαποτύπωμα Western Blot



Εικόνα 15.12 Έμμεσος τρόπος ανίχνευσης του αντιγόνου στη μεμβράνη.

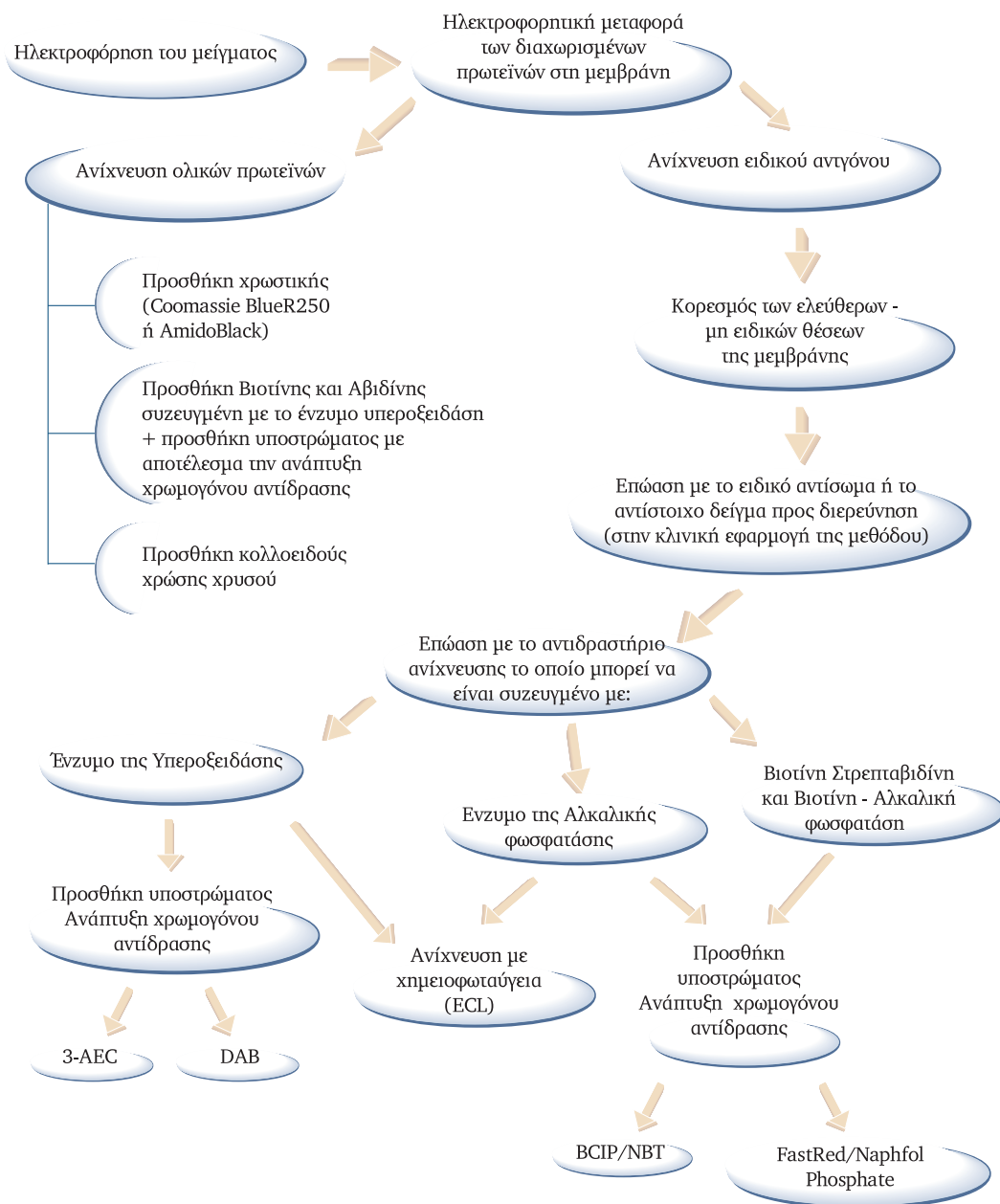
αυτές έχουν την ιδιότητα να προσροφούν τις πρωτεΐνες και να εμφανίζεται το ακριβές "αποτύπωμα" των πρωτεϊνών όπως έχουν διαχωριστεί στο πήκτωμα. Η μεμβράνη επωάζεται με το αντίσωμα της πρωτεΐνης που θέλουμε να προσδιορίσουμε και στη συνέχεια με δεύτερο αντίσωμα συνδεδεμένο ομοιοπολικά με το ένζυμο υπεροξειδάση. Προσθέτοντας το κατάλληλο υπόστρωμα, παράγεται έγχρωμο προϊόν που κατακρημνίζεται στις θέσεις που υπάρχει το σύμπλοκο.

Όταν απαιτείται μεγαλύτερη ευαισθησία, τότε χρησιμοποιείται η χρώση κατά ECL η οποία είναι 100 φορές πιο ευαίσθητη σε σύγκριση με την χρώση κατά DAB. Βασίζεται στην αρχή της φωταύγειας. **Χημειοφωταύγεια** ονομάζεται το φαινόμενο παραγωγής ακτινοβολίας από μια χημική αντίδραση.

Η μέθοδος του ανοσοαποτυπώματος έχει ευρύτατο φάσμα εφαρμογών. Έχει κλινική εφαρμογή κυρίως στη διάγνωση των ερπητικών λοιμώξεων, με την ανίχνευση αντισωμάτων στον ορό ασθενών έναντι του ιού του έρπητα τύπου I και II, και του Συνδρόμου Επίκτητης Ανοσολογικής Ανεπάρκειας (AIDS).

Ανοσολογική Αντίδραση στη Μembrάνη

Τρόποι ανίχνευσης αντιγόνου
με τη χρήση διαφορετικών ιχνηθετών



Εικόνα 15.13 Τα διαδοχικά στάδια της μεθόδου του ανοσοαποτυπώματος.

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Οι μέθοδοι οι οποίες εκμεταλλεύονται σημασμένα αντιγόνα ή αντισώματα βρίσκονται σήμερα σε ευρεία χρήση στο εργαστήριο. Διακρίνονται στους ανοσοφθορισμούς, στη ραδιοανοσολογική μέθοδο και στην ανοσοενζυμική μέθοδο ενώ νεότερες μέθοδοι έχουν καθιερωθεί τα τελευταία χρόνια όπως είναι η νεφελομετρία, η θολερομετρία, η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης και το ανοσοαποτύπωμα.

ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΣΕΣΗΜΑΣΜΕΝΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ Ή ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Τι ονομάζουμε ανοσοφθορισμό;
2. Δώστε τον ορισμό του φθορισμού.
3. Σε ποιες κατηγορίες διακρίνονται οι τεχνικές του ανοσοφθορισμού; Ποια από τις δύο κατηγορίες είναι πιο αποτελεσματική;
4. Ποια η αρχή λειτουργίας της ραδιοανοσολογικής μεθόδου (RIA);
5. Ποια η αρχή λειτουργίας της ανοσοενζυμικής μεθόδου (ELISA);
6. Σε ποιες κατηγορίες διακρίνονται οι ανοσοενζυμικές μέθοδοι (ELISA);
7. Ποια τα πλεονεκτήματα της νεφελομετρίας;
8. Να περιγράψετε την καμπύλη αναφοράς των νεφελομετρικών προσδιορισμών.
9. Ποια η αρχή λειτουργίας της θολερομετρίας και ποιες οι εφαρμογές της;
10. Ποια η αρχή λειτουργίας της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) και ποιες οι εφαρμογές της;
11. Από ποια στάδια αποτελείται ένας κύκλος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR);
12. Τι ονομάζουμε εκκινητές;
13. Τι είναι το ανοσοαποτύπωμα (Western Blot);
14. Περιγράψτε τα στάδια του ανοσοαποτυπώματος (Western Blot).
15. Τι είναι η χημειοφωταύγεια;
16. Ποιες οι εφαρμογές του ανοσοαποτυπώματος;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 16°

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥΣ

16.1 Προσδιορισμός του αριθμού των λεμφοκυττάρων

Τα έμμορφα συστατικά του αίματος αποτελούνται από τα ερυθροκύτταρα, τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια. Τα ερυθροκύτταρα συμμετέχουν στην μεταφορά του οξυγόνου στους ιστούς και στην απομάκρυνση του διοξειδίου του άνθρακα ενώ τα λευκοκύτταρα συμμετέχουν στο ανοσοποιητικό σύστημα. Τα λευκά αιμοσφαίρια διακρίνονται σε **κοκκιώδη** και σε **μη κοκκιώδη** κύτταρα. Τα κοκκιώδη κύτταρα αποτελούνται από τα βασεόφιλα, τα ουδετερόφιλα και τα ηωσηνόφιλα τα οποία μαζί με τα μονοκύτταρα τα οποία είναι μη κοκκιώδη κύτταρα συμμετέχουν στους μηχανισμούς της μη ειδικής άμυνας με τη διαδικασία της φαγοκυττάρωσης. Τα μη κοκκιώδη κύτταρα διακρίνονται και σε μια άλλη κατηγορία κυττάρων, τα λεμφοκύτταρα τα οποία είναι υπεύθυνα για τους μηχανισμούς της ειδικής ανοσολογικής αντίδρασης. Διακρίνονται σε δύο κατηγορίες στα Τ και στα Β λεμφοκύτταρα. Όταν ο οργανισμός προσβληθεί από κάποιο παθογόνο μικροοργανισμό, τότε κινητοποιούνται τόσο τα Β λεμφοκύτταρα, όσο και τα Τ λεμφοκύτταρα. Τα Β λεμφοκύτταρα πολλαπλασιάζονται με πολύ γρήγορους ρυθμούς προκειμένου να συνθέσουν και να εκκρίνουν ικανό αριθμό αντισωμάτων στο πλαίσιο της χυμικής ανοσολογικής απόκρισης ενώ τα Τ λεμφοκύτταρα στο πλαίσιο της κυτταρικής ανοσολογικής απάντησης εκκρίνουν με τα Τ βοηθητικά λεμφοκύτταρα τις λεμφοκίνες. Οι λεμφοκίνες κινητοποιούν μεγάλο αριθμό Τ κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων τα οποία επιτίθενται άμεσα στους παθογόνους μικροοργανισμούς.

Είναι σαφές ότι ο αριθμός των κυκλοφορούντων λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα αποτελεί κριτήριο στις σύγχρονες διαγνωστικές μεθόδους για την ύπαρξη ή όχι κάποιου εισβολέα, και άρα ένδειξη κάποιας λοίμωξης από βακτήριο, ιό ή μύκητα. Επίσης στο πλαίσιο της μελέτης των ανοσολογικών αποκρίσεων για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών πρωτοκόλλων που αφορούν ασθένειες με σοβαρές επιπτώσεις, όπως είναι η Επίκτητη Ανοσολογική Ανεπάρκεια (AIDS) ή οι διάφορες μορφές των νεοπλασμάτων (καρκίνοι), είναι απαραίτητη η μελέτη των λεμφοκυττάρων. Αυτό επιτυγχάνεται με την απομόνωσή τους από τα άλλα συστατικά του αίματος, τον προσδιορισμό του αριθμού τους και το διαχωρισμό σε υποπληθυσμούς λειτουργικά διακριτών λεμφοκυττάρων.

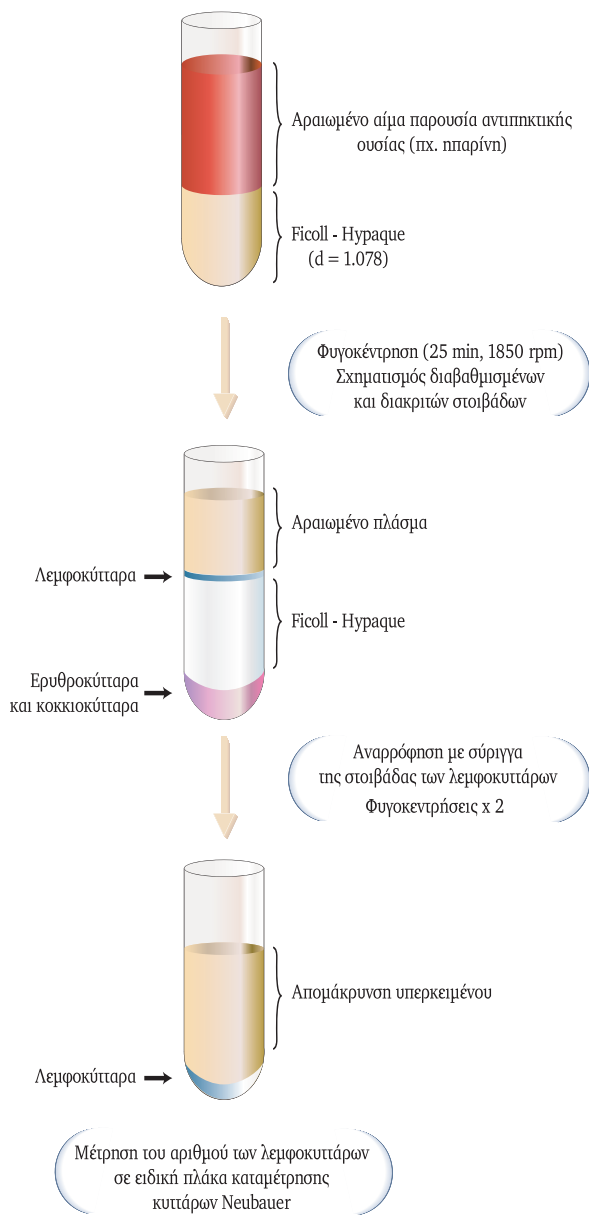
Το περιφερικό αίμα αποτελεί την πιο εύκολα διαθέσιμη πηγή των λεμφοκυττάρων. Αμέσως μετά την αιμοληψία το αίμα τοποθετείται σε φιαλίδια τα οποία περιέχουν αντιπηκτικό διάλυμα όπως είναι η ηπαρίνη για την αποφυγή σχηματισμού θρόμβων.

Η **απομόνωση των λεμφοκυττάρων** από τα υπόλοιπα συστατικά του αίματος γίνεται με τη βοήθεια

του συνθετικού μέσου Ficoll - Hysaque. Πρόκειται για διάλυμα το οποίο είναι πιο πυκνό από τα λεμφοκύτταρα, αλλά παρουσιάζει χαμηλότερη πυκνότητα σε σχέση με τα ερυθροκύτταρα και τα κοκκιοκύτταρα. Το δείγμα του ληφθέντος αίματος αφού αραιωθεί με κατάλληλο ρυθμιστικό διάλυμα σε αναλογία 1:1, επιστιβάζεται με προσοχή πάνω σε διάλυμα Ficoll - Hysaque, ώστε να σχηματισθεί χαρακτηριστικό δί-στιβο. Στη συνέχεια φυγοκεντρείται με αποτέλεσμα το σχηματισμό μιας σειράς από διαβαθμισμένες και διακριτές στιβάδες. Η κάθε στιβάδα αποτελείται και από ένα χαρακτηριστικό πληθυσμό κυττάρων. Στον πυθμένα του σωληναρίου συγκεντρώνονται τα ερυθροκύτταρα και τα κοκκιοκύτταρα που είναι πυκνότερα του Ficoll-Hysaque. Πάνω από το Ficoll - Hysaque βρίσκεται μια στιβάδα η οποία αποτελείται από τα λεμφοκύτταρα και ελάχιστα μονοκύτταρα. Πάνω από αυτή την στιβάδα κυττάρων βρίσκεται το πλάσμα του αίματος. Με τη βοήθεια μιας σύριγγας παίρνουμε τα κύτταρα της στιβάδας που μας ενδιαφέρει και ακολουθούν δύο διαδοχικές φυγοκεντρήσεις. Σκοπός αυτών των φυγοκεντρήσεων είναι η απομάκρυνση του Ficoll-Hysaque το οποίο εάν παραμείνει για μεγάλο χρονικό διάστημα σε επαφή με τα κύτταρα έχει τοξικά αποτελέσματα. Το εναιώρημα των κυττάρων αφήνεται σε ηρεμία για 1 ώρα σε επωαστικό θάλαμο. Τα μονοκύτταρα προσκολλώνται στην επιφάνεια του φιαλιδίου ενώ τα λεμφοκύτταρα απομακρύνονται σε καθαρή πλέον μορφή.

Απομόνωση των Λεμφοκυττάρων του Αίματος

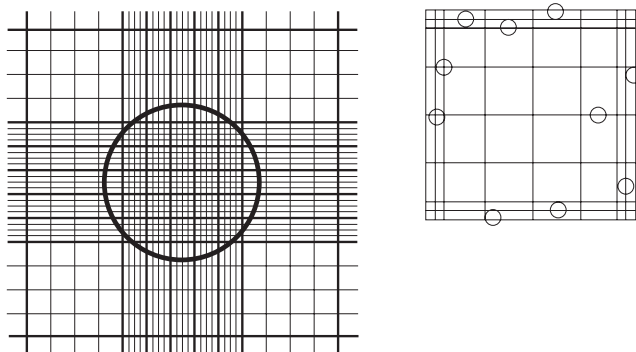
Μέθοδος της διαφορετικής φυγοκέντρωσης σε
υλικό Ficoll - Hysaque



Εικόνα 16.1 Διαδικασία απομόνωσης των λεμφοκυττάρων του αίματος.

Μέτρηση των Λεμφοκυττάρων

Χρήση πλάκας καταμέτρησης κυττάρων Neubauer



$$\text{Αριθμός Λεμφοκυττάρων/ml} = \text{Αριθμός των κυττάρων} \times \frac{\text{Συντελεστής Αραίωσης}}{\text{Όγκος ελαιώματος των κυττάρων}} \times 10.000$$

$$\text{Συνολικός αριθμός Λεμφοκυττάρων} = \text{Αριθμός λεμφοκυττάρων/ml} \times \text{Όγκος ελαιώματος των κυττάρων}$$

Εικόνα 16.2 Μέτρηση αριθμού των λεμφοκυττάρων με τη χρήση πλάκας Neubauer.

Η **μέτρηση του αριθμού των λεμφοκυττάρων** γίνεται με τη χρήση ειδικής πλάκας καταμέτρησης κυττάρων, **Neubauer**. Πρόκειται για αντικειμενοφόρο πλάκα η οποία φέρει ειδικές διαγραμμώσεις οι οποίες σχηματίζουν τετραγωνίδια σταθερού όγκου. Με τις κατάλληλες αραιώσεις είναι δυνατόν να γίνει μέτρηση του αριθμού των κυττάρων στα αντίστοιχα τετραγωνίδια με ένα απλό φωτονικό μικροσκόπιο.

Χρησιμοποιώντας και την κατάλληλη χρωστική, όπως είναι η **Trypan Blue** μπορούμε να διακρίνουμε τα ζωντανά από τα νεκρά κύτταρα. Η συγκεκριμένη χρωστική εισέρχεται στο εσωτερικό των νεκρών κυττάρων και τα βάφει με το χαρακτηριστικό μπλε χρώμα της. Με αυτό τον τρόπο εκτός από τη μέτρηση του αριθμού των λεμφοκυττάρων είναι δυνατός και ο υπολογισμός της **βιωσιμότητάς τους**.

Πίνακας 16.1: Φυσιολογικός αριθμός κυττάρων του αίματος

Πληθυσμός κυττάρων	Μέσος αριθμός κυττάρων ανά μικρολίτρο (μl)	Φυσιολογικό εύρος τιμών
Λευκά αιμοσφαίρια	7400	4500 - 11000
Λεμφοκύτταρα	2500	1000 - 4800
Ουδετερόφιλα	4400	1800 - 7700
Ηωσηνόφιλα	200	0 - 450
Βασεόφιλα	40	0 - 200
Μονοκύτταρα	300	0 - 800

Ποσοστό υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων

Υποπληθυσμός λεμφοκυττάρων	% των λεμφοκυττάρων
T βοηθητικά λεμφοκύτταρα	55
T κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα	25
B λεμφοκύτταρα	10
Άλλες κατηγορίες (πχ. NK κύτταρα)	10

16.2 Επιφανειακοί δείκτες των λεμφοκυττάρων

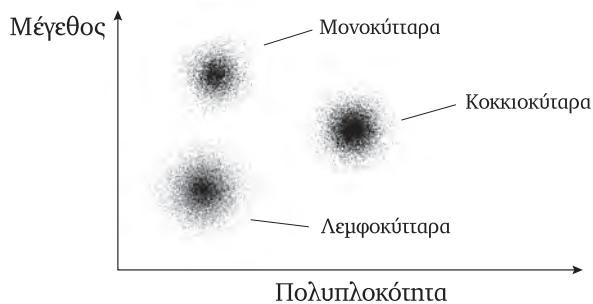
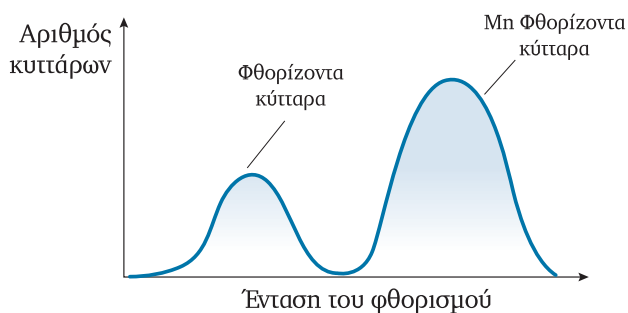
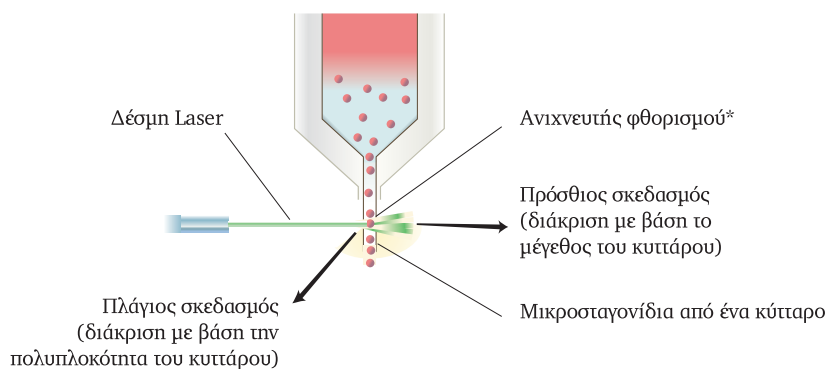
Τα λεμφοκύτταρα αποτελούνται από πολλούς διακριτούς λειτουργικά υποπληθυσμούς αν και στο μικροσκόπιο όλα εμφανίζουν την ίδια χαρακτηριστική μορφή. Μικρά στρογγυλά κύτταρα με λίγο κυτταρόπλασμα. Είναι απαραίτητο όμως για την περαιτέρω μελέτη τους αλλά και για διαγνωστικούς σκοπούς να μπορούμε να διακρίνουμε κάθε πληθυσμό. Αυτό επιτυγχάνεται με την εκμετάλλευση της παρουσίας πρωτεϊνών της κυτταρικής τους επιφάνειας οι οποίες είναι χαρακτηριστικές για κάθε πληθυσμό, τους **επιφανειακούς δείκτες**.

Ένας μεγάλος αριθμός επιφανειακών δεικτών έχει ήδη χαρακτηριστεί όσον αφορά τα λεμφοκύτταρα. Κατατάσσονται σύμφωνα με μια συστηματική ονοματολογία, το **σύστημα CD**. Κάθε δείκτης χαρακτηρίζεται από έναν αύξοντα αριθμό πχ. CD2, CD16, CD83, CD164 κτλ.

Τα T λεμφοκύτταρα στο σύνολό τους χαρακτηρίζονται από την παρουσία του επιφανειακού δείκτη CD3, μόριο το οποίο είναι υπεύθυνο για την ενεργοποίησή τους. Σημαντικότερος δείκτης των B λεμφοκυττάρων είναι ο επιφανειακός δείκτης CD19. Επίσης, τα T λεμφοκύτταρα διακρίνονται σε περαιτέρω υποπληθυσμούς όπως είναι τα T βοηθητικά λεμφοκύτταρα που χαρακτηρίζονται από το δείκτη CD4 και τα T κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα που χαρακτηρίζονται από το δείκτη CD8.

Κυτταρομετρία Ροής

Αρχή λειτουργίας του κυτταρομετρητή ροής



Διαχωρισμός των πληθυσμών με βάση το μέγεθος και την πολυπλοκότητα

Εικόνα 16.3 Αρχή λειτουργίας του κυτταρομετρητή ροής.

16.3 Ποσοτικός προσδιορισμός των πληθυσμών των B και T λεμφοκυττάρων με ανίχνευση αντιγόνων επιφανείας τους (Κυτταρομετρία Ροής)

Η παρουσία των επιφανειακών δεικτών σε συνδυασμό με την ύπαρξη των αντίστοιχων μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι αυτών έχει προκαλέσει επανάσταση στη μελέτη αυτών των πληθυσμών αλλά και στην καθημερινή τους χρήση σε διαγνωστικό επίπεδο.

Ο καθορισμός, η μέτρηση αλλά και ο διαχωρισμός υποπληθυσμών κυττάρων γίνεται με βάση το μέγεθος και την πολυπλοκότητά τους σε συνδυασμό με την ένταση του φθορισμού των συνδεδεμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι επιφανειακών δεικτών. Τα παραπάνω πραγματοποιούνται σε **κυτταρόμετρο ροής**.

Πρόκειται για αυτοματοποιημένη μέθοδο μέτρησης και διαχωρισμού κυττάρων με βάση συγκεκριμένα φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά, όπως είναι το μέγεθος και η πολυπλοκότητά τους. Έχει την ικανότητα να ξεετάζει ξεχωριστά κάθε ένα κύτταρο από ένα κυτταρικό εναιώρημα με την πρόσπτωση μιας δέσμης Laser πάνω του. Εκτός από τα φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά έχει την ικανότητα να προσδιορίζει την ένταση δύο τουλάχιστον διαφορετικών φθοριοχρωμάτων που είναι συνδεδεμένα με αντίστοιχα μονοκλωνικά αντισώματα.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των πληθυσμών των T και B λεμφοκυττάρων σε δείγμα αίματος εφαρμόζουμε την ακόλουθη διαδικασία. Αφού απομονώσουμε τα λεμφοκύτταρα, όπως περιγράφηκε παραπάνω, χρησιμοποιούμε μονοκλωνικά αντισώματα έναντι των CD3 και CD19 επιφανειακών δεικτών. Τα λεμφοκύτταρα επωάζονται με τα συγκεκριμένα μονοκλωνικά αντισώματα τα οποία είναι συζευγμένα με αντίστοιχες φθορίζουσες χρωστικές π.χ. FITC και PE. Τα μονοκλωνικά αντισώματα δεσμεύονται στα κύτταρα που φέρουν τους αντίστοιχους δείκτες και στη συνέχεια περνάνε από κυτταρομετρητή ροής. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται υπό μορφή γραφικών παραστάσεων και ποσοστών.

Πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η πλήρης αυτοματοποίηση που επιτρέπει τον έλεγχο τεράστιου αριθμού κυττάρων και την ανίχνευση έστω και μικρού αριθμού κυττάρων που ανήκουν σε συγκεκριμένο πληθυσμό. Χρησιμοποιείται στην καθημερινή διαγνωστική πρακτική σε ανοσολογικά, αιματολογικά και νεοπλασματικά νοσήματα.

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Τα λεμφοκύτταρα πρωταγωνιστούν στους μηχανισμούς της ειδικής ανοσολογικής αντίδρασης. Είναι σημαντικό να απομονώνουμε και να προσδιορίζουμε τον αριθμό τους με συνοπτικές και απλές διαδικασίες όπως γίνεται με τη χρήση του Ficol-Hyraque και της πλάκας Neubauer. Τα λεμφοκύτταρα φέρουν επιφανειακούς δείκτες τους οποίους τους εκμεταλλευόμαστε για το διαχωρισμό υποπληθυσμών τους, όπως είναι τα T και B λεμφοκύτταρα με τη χρήση της Κυτταρομετρίας Ροής.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Γιατί είναι σημαντικό να γνωρίζουμε τον αριθμό των λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα;
2. Ποια είναι τα στάδια απομόνωσης των λεμφοκυττάρων;
3. Με ποιο τρόπο γίνεται η μέτρηση των λεμφοκυττάρων;
4. Με ποιο τρόπο γίνεται ο υπολογισμός της βιωσιμότητας των λεμφοκυττάρων;
5. Τι ονομάζουμε επιφανειακούς δείκτες των λεμφοκυττάρων;
6. Τι είναι το κυτταρόμετρο ροής και ποια τα πλεονεκτήματά του;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 17°

HLA ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ

17.1 Γενικά

Το HLA Σύστημα ή Μείζον Σύστημα Ιστοσυμβατότητας (MHC) είναι ένα σύνολο στενά συνδεδεμένων γονιδίων που εκφράζουν τα αντίστοιχα **HLA - αντιγόνα** στην επιφάνεια όλων των εμπύρηνων κυττάρων του οργανισμού. Πρόκειται δηλαδή για πρωτεΐνες που βρίσκονται στην επιφάνεια των κυττάρων και διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες: στα τάξης I, τάξης II και τάξης III HLA. Τα τάξης I HLA μόρια βρίσκονται σε όλα τα εμπύρηνα κύτταρα του οργανισμού ενώ τα τάξης II HLA μόρια βρίσκονται κυρίως στα μακροφάγα και τα B λεμφοκύτταρα. Τα τάξης I HLA αντιγόνα διακρίνονται στα **HLA-A, B, C** ενώ τα τάξης II στα **HLA-DP, DQ και DR** αντιγόνα.

Τα γονίδια των MHC είναι **πολυμορφικά** δηλ. υπάρχει μεγάλος αριθμός αλληλομόρφων σε κάθε γονίδιο. **Αλληλόμορφα** ονομάζουμε γονίδια που βρίσκονται στην ίδια γονιδιακή θέση των ομόλογων χρωμοσωμάτων και ελέγχουν την ίδια ιδιότητα με διαφορετικό τρόπο. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι τα HLA τάξης I π.χ. στην περίπτωση του HLA-B υπάρχουν 250 διαφορετικά αλληλόμορφα.

Είναι γνωστό ότι στις μεταμοσχεύσεις συμβαίνει πάντα απόρριψη του μοσχεύματος, εκτός αν ο δότης και ο δέκτης έχουν τα ίδια αντιγόνα ιστοσυμβατότητας. Επίσης σημαντικός είναι ο ρόλος τους στην ειδική ανοσία. Απαραίτητη προϋπόθεση για την ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων είναι η αντιγονοπαρουσίαση των συμπλεγμάτων MHC-πεπτιδίου στον TCR υποδοχέα των λεμφοκυττάρων.

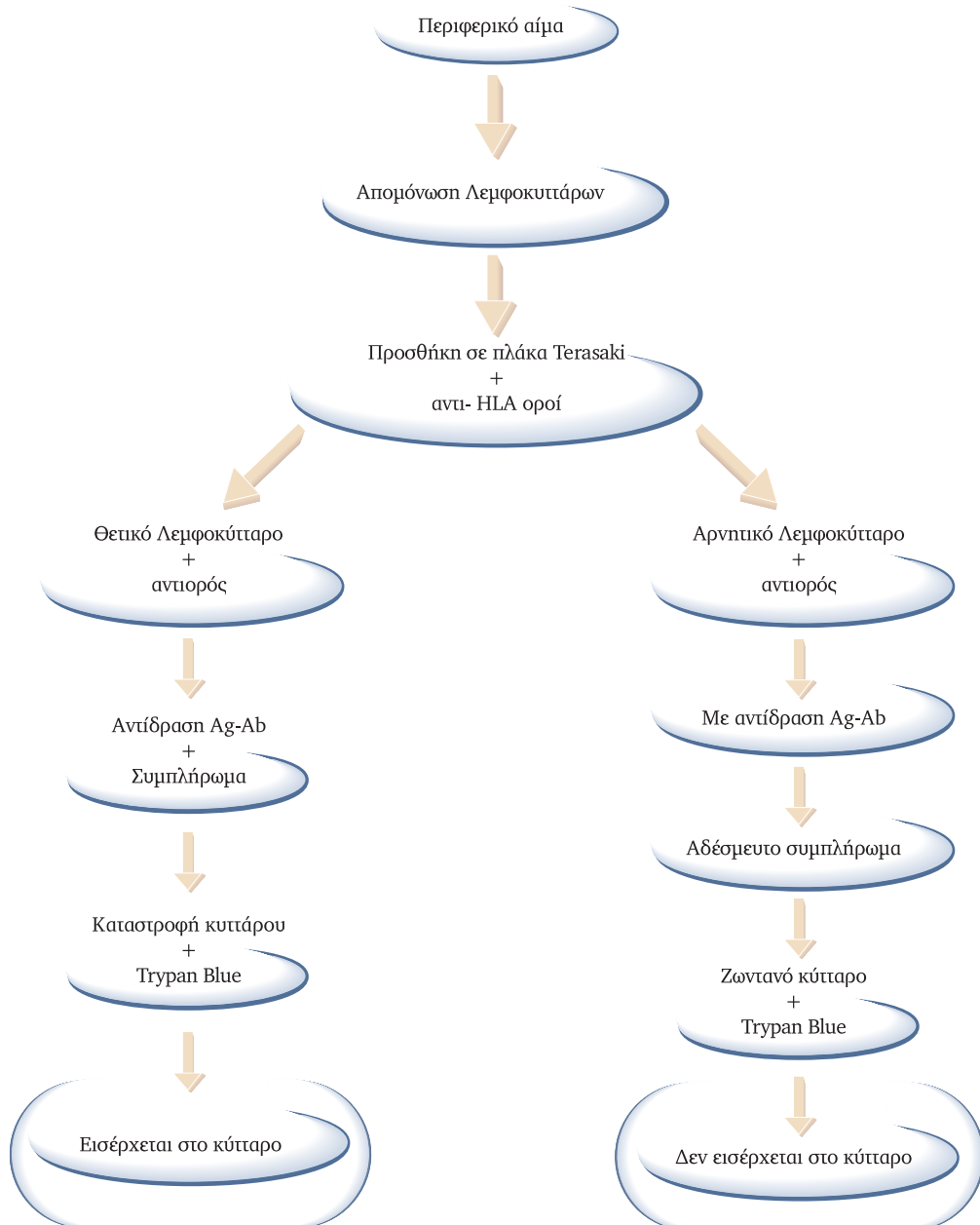
Η ταυτοποίηση των HLA - αντιγόνων αποτελεί καθημερινή πρακτική στα σύγχρονα ανοσολογικά εργαστήρια και ιδιαίτερα στα εργαστήρια ιστοσυμβατότητας. Η HLA τυποποίηση συμβάλλει στη βελτίωση της έκβασης των μεταμοσχεύσεων ιστών και οργάνων βοηθώντας στην επιλογή του κατάλληλου δότη. Επιτρέπει τη συσχέτιση των HLA μορίων με νοσήματα, ενώ χρησιμοποιούνται και στη φυλογενετική ανάλυση των ανθρώπινων φυλών.

17.2 Ταυτοποίηση των HLA

Οι τεχνικές ιστοσυμβατότητας που χρησιμοποιούνται για την τυποποίηση των HLA - αντιγόνων διακρίνονται σε δυο κατηγορίες: Στις **κλασσικές ορολογικές μεθόδους** και στις **σύγχρονες τεχνικές της μοριακής βιολογίας**.

Στην περίπτωση των ορολογικών τεχνικών χρησιμοποιείται η **μικρολεμφοκυτταρική μέθοδος** των δύο σταδίων με τη χρήση συμπληρώματος κουνελιού και τη χρώση με κυανού του μεθυλενίου. Η αρχή της μεθόδου είναι η ικανότητα των λεμφοκυττάρων που φέρουν στην επιφάνειά τους το HLA - αντιγόνο έναντι του οποίου περιέχει αντισώματα ο ορός, να σχηματίζουν σύμπλεγμα αντιγόνου - αντισώματος. Στη συνέ-

Μικρολεμφοκυτταρική Δοκιμασία



Εικόνα 17.1 Τα διαδοχικά στάδια της Μικρολεμφοκυτταρικής Δοκιμασίας.

χεια ενεργοποιείται το συμπλήρωμα το οποίο καταστρέφει την κυτταρική μεμβράνη του λεμφοκυττάρου. Με την προσθήκη της χρωστικής Trypan Blue διαπιστώνεται η ύπαρξη ζώντων ή νεκρών λεμφοκυττάρων. Τα ζωντανά λεμφοκύτταρα δεν επιτρέπουν την είσοδο της χρωστικής στο εσωτερικό τους, σε αντίθεση με τα νεκρά λεμφοκύτταρα. Με απλή παρατήρηση στο μικροσκόπιο διαπιστώνεται η ύπαρξη ή όχι των συγκεκριμένων HLA - αντιγόνων που εξετάζουμε. Η όλη διαδικασία πραγματοποιείται σε πλάκες Terasaki οι οποίες φέρουν φρεάτια πολύ μικρού όγκου. Σε αυτά προσθέτουμε τους αντίστοιχους αντιορούς και στη συνέχεια τα απομονωμένα λεμφοκύτταρα.

Μια πολύ χρήσιμη τεχνική ιστοσυμβατότητας η οποία χρησιμοποιείται με επιτυχία για την επιλογή του κατάλληλου δότη στις μεταμοσχεύσεις είναι η **Μικτή Λεμφοκυτταρική Καλλιέργεια (ΜΛΚ)**.

Σε καλλιεργητικό μέσο αναμινγνούνται τα λεμφοκύτταρα του δότη και του δέκτη του μοσχεύματος. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στην αναστολή της ικανότητας πολλαπλασιασμού των λεμφοκυττάρων του δότη (διεγείροντα κύτταρα), είτε με την επίδραση μιας χημικής ουσίας, της Μιτομυκίνης C, είτε με την ακτινοβολή τους. Στη συνέχεια οι δύο πληθυσμοί των λεμφοκυττάρων συγκαλλιεργούνται σε φρεάτια πλακών κυτταρικής καλλιέργειας για πέντε ημέρες. Στη συνέχεια προστίθεται τριτιωμένη θυμιδίνη (^3H). Η τριτιωμένη θυμιδίνη προσλαμβάνεται από το νεοσυντιθέμενο DNA των λεμφοκυττάρων που πολλαπλασιάζονται. Μετά από σύντομο χρονικό διάστημα τα κύτταρα αναρροφώνται σε ειδικά απορροφητικά φίλτρα μαζί με τη ραδιενέργεια που είχαν προσλάβει και στη συνέχεια γίνεται μέτρησή τους σε μετρητή β-ακτινοβολίας.

Όσο μεγαλύτερη είναι η διέγερση και κατ' επέκταση ο πολλαπλασιασμός των λεμφοκυττάρων του δότη, τόσο μεγαλύτερες είναι οι τιμές της ραδιενέργειας που λαμβάνονται από τον μετρητή.

Μικτή Λεμφοκυτταρική Καλλιέργεια



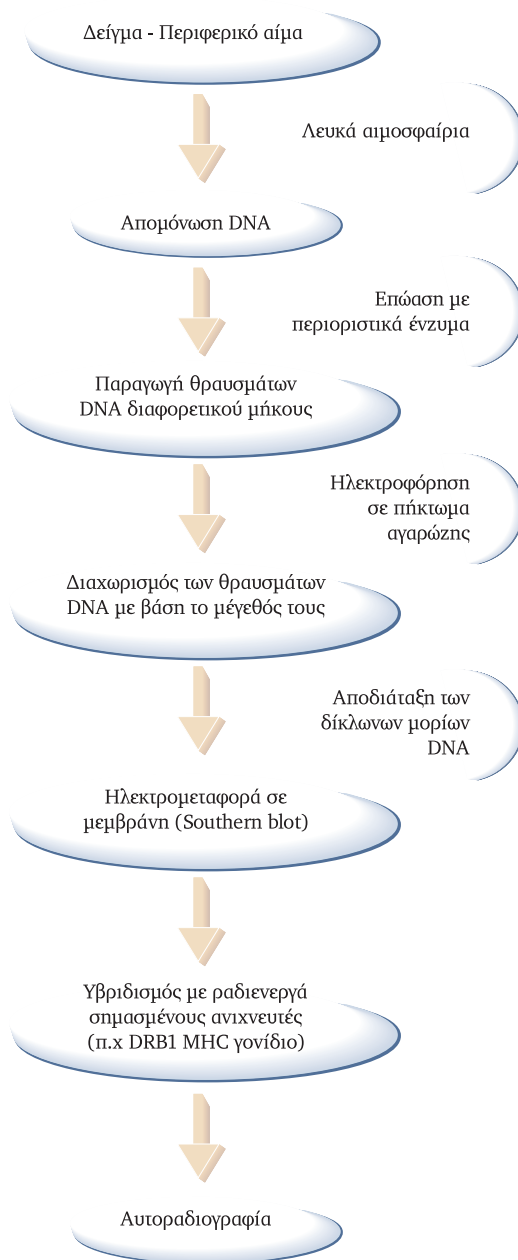
Εικόνα 17.2 Τα διαδοχικά στάδια της Μικτής Λεμφοκυτταρικής Καλλιέργειας (MLR).

Τα τελευταία χρόνια με τη ραγδαία πρόοδο των τεχνικών της Μοριακής Βιολογίας καθιερώθηκε η HLA - γονιδιακή τυποποίηση σε επίπεδο ρουτίνας. Πρόκειται για την τεχνική της ανάλυσης των πολυμορφισμών μήκους θραύσματος από περιοριστικό ένζυμο (**DNA RFLP ανάλυση**), την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με ολιγονουκλεοτίδια ειδικής αλληλουχίας (**PCR-SSO**) και την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με εκκινητές ειδικής αλληλουχίας (**PCR-SSP**).

Η DNA RFLP ανάλυση στηρίζεται στο σπάσιμο του DNA από ένζυμα περιορισμού που κόβουν το DNA σε συγκεκριμένες θέσεις. Τα κομμάτια του DNA που σχηματίζονται ανιχνεύονται στη συνέχεια με ειδικούς ανιχνευτές για την μοριακή τυποποίηση των αλληλομόρφων. Πρόκειται για επίπονη και χρονοβόρα μέθοδο.

HLA τυποποίηση με DNA - RFLP

Rstriction Fragment Length Polymorphisms



Εικόνα 17.3 Τα διαδοχικά στάδια της HLA τυποποίησης με DNA - RFLP.

Για το λόγο αυτό σε κλινική εφαρμογή έχουν καθιερωθεί οι μέθοδοι που εκμεταλλεύονται την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης. Η PCR-SSO ανάλυση περιλαμβάνει την ενίσχυση του DNA - στόχου με PCR και στη συνέχεια τον υβριδισμό του προϊόντος με ολιγονουκλεοτίδια ειδικής αλληλουχίας, ξεχωριστά για κάθε HLA-A, B, C, DR, DP και DQ ειδικότητα. Πρόκειται για μια από τις πιο καθιερωμένες και χρησιμοποιούμενες μεθόδους που επιτρέπει την τυποποίηση μεγάλου αριθμού δειγμάτων με αξιοπιστία και ακρίβεια.

Η PCR-SSP ανάλυση ολοκληρώνεται με την PCR σε ένα στάδιο μιας και η χρήση των εκκινητών ειδικής αλληλουχίας επιτρέπει την HLA - τυποποίηση άμεσα. Αποτέλεσμα είναι η τεχνική να είναι πάρα πολύ σύντομη (μόλις τρεις ώρες) και να προσφέρει υψηλή ακρίβεια. Πρόκειται επίσης για μια καθιερωμένη τεχνική στην κλινική πράξη αλλά δεν είναι κατάλληλη για μεγάλο αριθμό δειγμάτων ενώ απαιτεί και μεγάλη ποσότητα αρχικού DNA.

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Το Μείζον Σύστημα Ιστοσυμβατότητας (MHC) ή αντιγόνα ιστοσυμβατότητας είναι πρωτεΐνες που βρίσκονται στην επιφάνεια των κυττάρων. Είναι χαρακτηριστικές για κάθε άνθρωπο, και παίζουν σημαντικό ρόλο στους μηχανισμούς ειδικής ανοσίας. Η HLA ταυτοποίηση είναι απαραίτητη στις μεταμοσχεύσεις οργάνων και γίνεται με ορολογικές τεχνικές όπως είναι η Μικρολεμφοκυτταρική Μέθοδος και η Μικτή Λεμφοκυτταρική Καλλιέργεια αλλά και τεχνικές Μοριακής Βιολογίας όπως είναι η DNA RFLP ανάλυση, η PCR - SSO και η PCR - SSP.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Τι είναι το HLA σύστημα ή Μείζον Σύστημα Ιστοσυμβατότητας;
2. Σε ποιες κατηγορίες διακρίνονται τα HLA αντιγόνα;
3. Γιατί είναι σημαντική η HLA ταυτοποίηση;
4. Σε ποιες κατηγορίες διακρίνονται οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την HLA ταυτοποίηση;
5. Περιγράψτε την Μικρολεμφοκυτταρική Μέθοδο.
6. Ποια τα στάδια της Μικτής Λεμφοκυτταρικής Καλλιέργειας (MLR);
7. Αναφέρατε τις μοριακές τεχνικές HLA ταυτοποίησης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

- Αρσένη Π.** (1991). Ανοσοηλεκτροφόρηση - Ανοσοκαθήλωση – Αντίθετη Ανοσοηλεκτροφόρηση. Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Ανοσολογίας - Σεμινάριο Ανοσολογίας (Ανοσολογική Μεθοδολογία), σελ.26.
- Γερμενής Α. Ε.** (2000). Ιατρική Ανοσολογία. Εκδόσεις Παπαζήση. Αθήνα.
- Δημητρακόπουλος Γ.** (1993). Ιατρική Βακτηριολογία. Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδη. Αθήνα.
- Δημητρακόπουλος Γ.** (1998). Ανοσολογία. Ίδρυμα Ευγενίδου. Αθήνα.
- Ελληνική Εταιρία Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας** (1994). Ανοσοχημικές Μέθοδοι - Εφαρμογές στην Κλινική Χημεία. 6ο Σεμινάριο. Αθήνα.
- Εμμανουηλίδου - Αρσένη Α.** (1994). Ιατρική Μικροβιολογία. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα.
- Ηλιάδης Β.** (2000). Τα Νόμπελ Ιατρικής - Φυσιολογίας στην υπηρεσία της ανθρωπότητας. Εκδόσεις Ελληνικά Γράμματα, Αθήνα.
- Ηλιάδης Β. και Οικονόμου Θ.** (2000). Βιολογία Γ' Ενιαίου Λυκείου. Εκδόσεις Ελληνικά Γράμματα, Αθήνα.
- Ιορδανίδη Π. και Γεροχρήστου-Ζορμπά** (1997). Τεχνολογία Οργάνων Εργαστηρίου. Ίδρυμα Ευγενίδου. Αθήνα.
- Καρακάση Α.** (1995). Αντιπυρηνικά Αντισώματα. Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας; 40 (2): 139-151.
- Καρακάση Α.** (1998). Ανοσολογική διερεύνηση μη οργανοειδικών αυτοανώσων νοσημάτων - Αυτοαντισώματα. Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Ανοσολογίας – Σεμινάριο Ανοσολογίας, σελ. 248-253.
- Καρακάση Α., Πισκοντάκη Ι., Ινιωτάκη Α., Χαραλαμπόπουλος Δ., Σφηκάκης Π., Χωρέμη Ε.** (1992). Σύγκριση Elisa και Immunoblotting για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων έναντι του Scl-70 σε ασθενείς με διάχυτη σκληροδερμία. Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας, 37:566.
- Καρακάση-Γαρδούνη Άννα** (1992). Ο έλεγχος της αντιγονικότητας των σπερματοζωαρίων και της προκαλούμενης αυτο- και ισο- ανοσοποίησης δια των μεθόδων TAT, MAR test και ELISA. Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα.
- Κατσούλας Χ.** (2000). Βιολογία Γενικής Παιδείας Β' τάξης Ενιαίου Λυκείου. Εκδόσεις Βολανάκη, Αθήνα.
- Μαρμάρης Β. και Λαμπροπούλου-Μαρμάρα Μ.** (2000). Βιολογία Κυττάρου. Μοριακή Προσέγγιση. 4η έκδοση. Εκδόσεις Τυπόγραμμα, Πάτρα.
- Ματαυτσή - Δίζα Ε.** (1998). Συγκολλητινοαντιδράσεις - Ιζηματινοαντιδράσεις Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Ανοσολογίας-Σεμινάριο Ανοσολογίας, σελ.29.
- Μουτσόπουλος Χ.Μ.** (1994). Αυτοάνοσα Ρευματικά Νοσήματα. Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Ανοσολογίας - Σεμινάριο Ανοσολογίας, σελ.164.
- Μπαρωνά-Μάμαλη Φ., Μπότσαρης Ι., Μπουρμπουχάκης Ι. και Περάκη Β.** (2000). Βιολογία Γενικής Παιδείας Γ' τάξης Ενιαίου Λυκείου. 2η έκδοση. Οργανισμός Εκδόσεων Διδακτικών Βιβλίων, Αθήνα.
- Παυλάτου Μ.** (1997). Ανοσολογία. 3^η έκδοση. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας. Αθήνα.

Χαρίτος Α. Α. (1991). Σημειώσεις Ανοσολογίας. Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Χατζηπέτρου - Κουρουνάκη Α. (1997). Ανοσοβιολογία. Β΄ Έκδοση. University Studio Press. Θεσσαλονίκη.

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ

A. Karakassi, I. Piskontaki, A. Iniotaki, D. Charalambopoulos, P. Sfikakis, H. Choremi (1992). Autoantibodies against Scl-70 by Immunoblotting and ELISA in patients with Systemic Sclerosis. 8th International Congress of Immunology, Budapest, Hungary. Abstracts p.641.

Foukas L., Katsoulas H., Paraskevopoulou N., Metheniti A., Lambropoulou M. and Marmaras V. (1998). Phagocytosis of *Escherichia coli* by insect hemocytes requires both activation of the Ras/ Mitogen activated protein kinase signal transduction pathway for attachment and β_3 integrin for internalization. *J. Biol. Chem.* 273, 14813-14818.

Harrison's Principles of Internal Medicine. (1994). 13th ed. International edition.

Hyde R. M. (1995). Immunology. National medical Series for Independent Study. Williams and Wilkins editions, Philadelphia, U.S.A.

Janeway C. and Travers P. (1999). Κλινική Ανοσοβιολογία. 2η έκδοση. Πρόλογος: Μουτσόπουλος Χ. Μετάφραση: Βλαχογιαννόπουλος Π. Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα.

Katsoulas H.L., Margomenou L., Tsiatas M.L., Pyrgaki C., Tsitsilonis O.E., Voelter W., Baxevanis C.N. and Papamichail M. (2001). Characterization of supernatants from activated human lymphocytes with monoclonal antibodies against CD3 (ACD3S). Communication within the Immune System: Basic Rules and their Breakdown - Euroconference on Molecular Aspects of the Initiation and Regulation of Immune Responses, *San Feliu de Guixols*, Spain.

Katsoulas H.L., Tsitsilonis O.E., Baxevanis C.N., Panayiotou G., Margomenou L., Tsiatas M.L., and Papamichail M. (2001). Analysis of immunoenhancing agents present within anti-CD3 activated lymphocyte supernatants (ACD3S) using proteomics. *3rd Balkan Congress of Immunology*, Athens, Greece.

Kelley W. N., Harris E. D. Jr., Ruddy S., Sledge C. B. (1993). Textbook of Rheumatology. Fourth edition, Philadelphia, W.B. Saunders Co.

Klebanoff S. J. (1988). Phagocytic cells: Products of oxygen metabolism. In: "*Inflammation*" Ed. Gallin J., Goldstein R. and Snyderman. Raven Press, New York. USA.

Kosmas N. E., Zorpidou D., Vassilareas V., Roussou T. and Michaelides S. (1997). Decreased C4 Complement Component Serum Levels Correlate with the Degree of Emphysema in Patients with Chronic Bronchitis. *Chest*, 112:341-47.

Lambropoulou M., Katsoulas H. and Marmaras V. (1997). LPS-Triggered hemocyte spreading and immune-protein release. Assays of *E. coli* aggregation by hemocyte immune proteins. In: "*Techniques in Insect Immunology*" Ed. Weisner A., Dunphy G., Marmaras V., Morishima I., Sugumaran M. and Yamakawa M. SOS Publications, Fair Haven, NJ., USA.

Liszewski M. K., Farries T. C., Lubin D. M., Rooney I. A., Atkinson J. B. (1996). Control of the complement

system. *Adv. Immunol.* 61: 201-13.

Lydyard P., Whelan A. and Fanger M. (2000). Instant Notes in Immunology. BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford, UK.

Mc Carty G. A. (1986). Autoantibodies and their relation to rheumatic diseases. *Advances in Rheumatology*. Medical Clinics of North America, 70:237.

Metchnikoff E. (1884). Ueber eine Sprosspilzkrankheit der Daphnien. Beitrag zur Lehre über den Kampf der Phagocyten gegen Krankheitserreger. *Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.* 96: 177-195.

Michaelides S. and Grange M. J. (1989). Relationship between immunoglobulin levels, tuberculin hypersensitivity and radiological extent of disease in greek patients with pulmonary tuberculosis. *Eur. Respir. J.* 2, 727-730.

Peter J.B., Shoenfeld Y. (eds). (1996). Autoantibodies. Elsevier Publications.

Reichlin M. (1993). Antibodies to defined antigens in the systemic rheumatic diseases. *Bulletin on the Rheumatic Diseases.*, 42 (8) : 4.

Roitt I., Brostoff J. and Male D. (1995). Ανοσολογία 3η έκδοση. Πρόλογος: Μουτσόπουλος Χ. Επιστημονικές Εκδόσεις "Γρ. Παρισιάνος", Αθήνα.

Rose N., Conway de Macario E., Fahey J., Friedman H., Penn G. (1992). Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology. 4th edition, Washington, D.C.

Stites D. P., Terr A. I., Parslow T. G. eds. (1997). Medical Immunology. Ninth edition. Appleton & Lange Publications.

Tan E.M. (1989). Antinuclear Antibodies: Diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv. Immunol.* 44:93.

Ternynck T. and Avrameas S. (1990). Ανοσοενζυμικές Τεχνικές. Μετάφραση: Λυμπέρη Π. Ελληνικό Ινστιτούτο Pasteur, Αθήνα.

Towbin H., Stachelin T. and Gordon J. (1979). Electrophoretic transfer of proteins of polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 4350-4358.

Vella J. P., Mangee C., Vos L., et al. (1999). Cellular and humoral mechanisms of vascularized allograft rejection induced by indirect recognition of donor MHC allopeptides. *Transplantation*; 67: 1523-32.

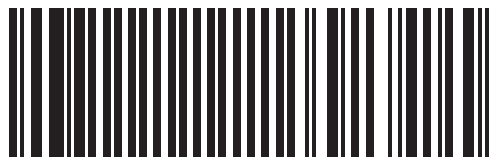
Weir D. M., Stewart J. (1993). Immunology. Churchill Livingstone, U.K.

Young J. D. (1985). Role of ionic events in the triggering of phagocytosis. *J. Theor. Biol.* 116: 475-545.

Βάσει του ν. 3966/2011 τα διδακτικά βιβλία του Δημοτικού, του Γυμνασίου, του Λυκείου, των ΕΠΑ.Λ. και των ΕΠΑ.Σ. τυπώνονται από το ΙΤΥΕ - ΔΙΟΦΑΝΤΟΣ και διανέμονται δωρεάν στα Δημόσια Σχολεία. Τα βιβλία μπορεί να διατίθενται προς πώληση, όταν φέρουν στη δεξιά κάτω γωνία του εμπροσθόφυλλου ένδειξη «ΔΙΑΤΙΘΕΤΑΙ ΜΕ ΤΙΜΗ ΠΩΛΗΣΗΣ». Κάθε αντίτυπο που διατίθεται προς πώληση και δεν φέρει την παραπάνω ένδειξη θεωρείται κλεψίτυπο και ο παραβάτης διώκεται σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 7 του νόμου 1129 της 15/21 Μαρτίου 1946 (ΦΕΚ 1946,108, Α').

Απαγορεύεται η αναπαραγωγή οποιουδήποτε τμήματος αυτού του βιβλίου, που καλύπτεται από δικαιώματα (copyright), ή η χρήση του σε οποιαδήποτε μορφή, χωρίς τη γραπτή άδεια του Υπουργείου Παιδείας, Θρησκευμάτων και Αθλητισμού / ΙΤΥΕ - ΔΙΟΦΑΝΤΟΣ.

Κωδικός βιβλίου: 0-24-0247
ISBN 978-960-06-3014-5



(01) 000000 0 24 0247 5