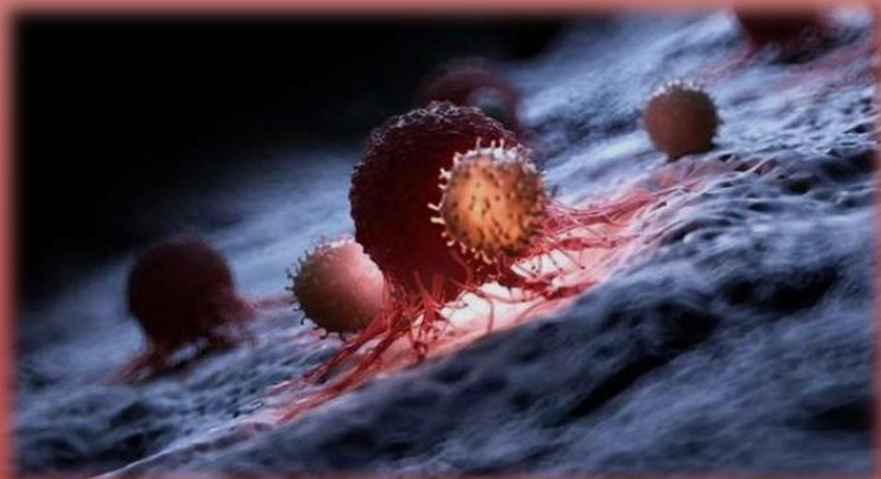
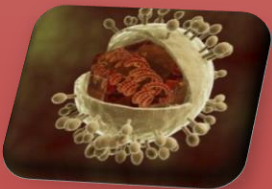




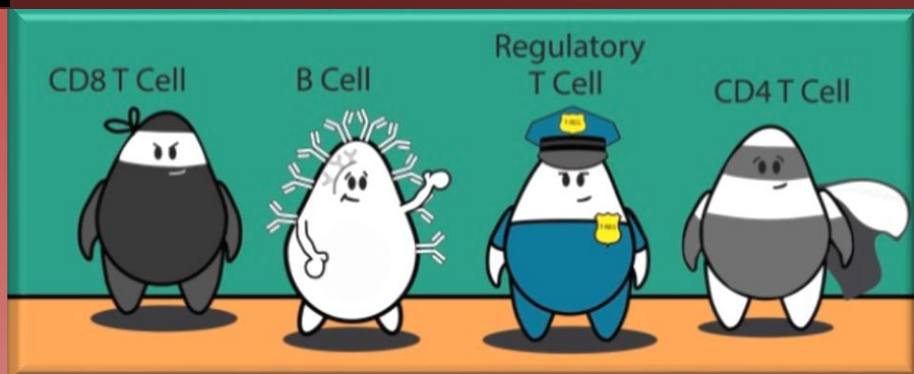
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

Σχολή Επιστημών Υγείας
Ιατρική Σχολή
Τομέας Κλινικοεργαστηριακός
Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής
Διευθυντής: Καθηγητής Ανδρέας Χ. Λάζαρης



ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ
ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΣΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΩΝ ΑΛΛΟΙΩΣΕΩΝ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ,
ΛΟΙΜΩΔΟΥΣ ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗΣ Ή ΜΗ,
ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΑΡΚΕΙΑ
ΤΟΥ ΑΝΟΣΙΑΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ



Δέσποινα Ε. Ανταράκη
Ιατρός Βιοπαθολόγος

Αθήνα 2020

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Σχολή Επιστημών Υγείας
Ιατρική Σχολή
Τομέας Κλινικοεργαστηριακός
Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής
Διευθυντής: Καθηγητής Ανδρέας Χ. Λάζαρης

**Ιστοική εκτίμηση φλεγμονωδών αλλοιώσεων παχέος
εντέρου, λοιμώδους αιτιοπαθογένεσης ή μη, σε σχέση με
την επάρκεια του ανοσιακού συστήματος των ασθενών**

Δέσποινα Ε. Ανταράκη
Ιατρός Βιοπαθολόγος

Διδακτορική διατριβή

Αθήνα 2020

Ημερομηνία αιτήσεως: 10/06/2015

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 16/07/2015

Μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

- 1) κ. Ανδρέας Χ. Λάζαρης, Καθηγητής (Επιβλέπων)
- 2) κ. Γεωργία-Ελένη Θωμοπούλου-Λάζαρη, Αναπλ. Καθηγήτρια
- 3) κ. Ειρήνη Θυμαρά, Επίκουρη Καθηγήτρια

Ημερομηνία ορισμού του θέματος: 12/10/2015

Ημερομηνία καταθέσεως της διδακτορικής διατριβής: 27/03/2020

Ημερομηνία δημόσιας υποστήριξης Διατριβής: 07/05/2020

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: Καθηγητής Πέτρος Π. Σφηκάκης

Μέλη της 7μελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

- 1) Ανδρέας Χ. Λάζαρης, Καθηγητής
- 2) Νικόλαος Καβαντζάς, Καθηγητής
- 3) Γεωργία-Ελένη Θωμοπούλου-Λάζαρη, Αναπλ. Καθηγήτρια
- 4) Γεώργιος Αγρογιάννης, Αναπλ. Καθηγητής
- 5) Γεωργία Βρυώνη, Αναπλ. Καθηγήτρια
- 6) Ειρήνη Θυμαρά, Επίκουρη Καθηγήτρια
- 7) Στρατηγούλα Σακελλαρίου, Επίκουρη Καθηγήτρια

Βαθμός Διατριβής: Άριστα

Περιεχόμενα

Βιογραφικό Σημείωμα.....	6
Όρκος του Ιπποκράτη.....	13
Απόδοση στα νέα ελληνικά.....	14
Πρόλογος.....	16
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	17
Α. ΠΑΧΥ ΕΝΤΕΡΟ	18
Ανατομία.....	18
Αγγειακό δίκτυο.....	18
Βλεννογόνος	18
Ενδοκρινή κύτταρα	20
Ανοσοποιητικό σύστημα του εντέρου	20
Β. ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ.....	21
Νόσοι μικροβιακής αιτιολογίας.....	21
Αγγειακές διαταραχές.....	26
Ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου.....	28
Γ. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ.....	36
1. Τύποι κυττάρων	36
2. Ανοσολογική ανοχή.....	47
3. Μηχανισμοί των αυτοάνοσων ασθενειών	51
4. Τα T ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα	54
ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ	63
Κυτταρομεγαλοϊός	63
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	70
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	71
Α. Υλικό.....	71
Β. Μέθοδοι	71
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	73
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	97
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	105
SUMMARY	107
ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	109
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	113



Βιογραφικό σημείωμα

Όνοματεπώνυμο: Δέσποινα Ανταράκη

Πατρώνυμο: Ελευθέριος

Ημερομηνία Γέννησης: 08/02/1985

Εκπαίδευση

(2002-2008) *Ε.Κ.Π.Α.*

Πτυχίο τμήματος Ιατρικής (7,75), στο οποίο εισήχθη με σειρά εισαγωγής 7^η (έβδομη)

(2008-2010) *Ε.Κ.Π.Α.*

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης «Εφαρμογές της Βιολογίας στην Ιατρική» (8,0)

(2010-2012 και 2013-2017)

Τίτλος ειδικότητας Ιατρικής Βιοπαθολογίας (1,5 χρόνο στο Γ.Ν. Χίου Σκυλίτσειο και για 3,5 χρόνια στο Γ.Ν.Α. Γ. Γεννηματάς)

(2008-2012) *Ε.Κ.Π.Α.*

Πτυχίο τμήματος Θεολογίας (7,96), που εξασφαλίζει παιδαγωγική επάρκεια

(2015-σήμερα) *Ε.Κ.Π.Α.*

Υποψήφια διδάκτορας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών με επιβλέποντα καθηγητή τον κ. Α. Χ. Λάζαρη, Διευθυντή Καθηγητή του εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής

Επαγγελματική εμπειρία

Μάρτιος 2010 - Δεκέμβριος 2010

Υπηρεσία υπαίθρου στο Π.Ι. Καμποχώρων με τρίμηνη προεκπαίδευση στο Γ.Ν. Χίου «Σκυλίτσειο»

Ιούνιος 2012 - Οκτώβριος 2012

Υπηρεσία υπαίθρου στο Π.Ι. Καλλιμασιάς (συμπλήρωση απαιτούμενου χρόνου)

Δεκέμβριος 2010 - Ιούνιος 2012

Ειδικότητα Ιατρικής Βιοπαθολογίας στο Γ.Ν. Χίου «Σκυλίτσειο»

Νοέμβριος 2013–Φεβρουάριος 2017

Ειδικότητα Ιατρικής Βιοπαθολογίας στο Γ.Ν.Α. «Γ. Γεννηματάς»

Φεβρουάριος 2017 – Ιούνιος 2018

Παράταση ειδίκευσης στο Μικροβιολογικό τμήμα του Γ. Ν.Α. «Γ. Γεννηματάς» για 3 εξάμηνα μετά τη λήψη τίτλου ειδικότητας

Ιούλιος 2018 - σήμερα

Επικουρικός Ιατρός Βιοπαθολόγος στο Γ.Ν. Χίου «Σκυλίτσειο» στα τμήματα Αιματολογικό-Αιμοδοσία και Μικροβιολογικό

2002 - σήμερα

Ιατρός μαθητικών κατασκηνώσεων (εθελοντικά) επί σειρά ετών

Μοριακές τεχνικές ανίχνευσης μεταλλαγών της πήξης, μοριακές τεχνικές FISH για ανίχνευση in situ μεταλλαγών λευχαιμιών στο

Εμπειρία σε ειδικά επιστημονικά πεδία

Αιματολογικό εργαστήριο του Γ.Ν.Α. Γ. Γεννηματάς. (πιστοποιητικό από κ. Γεωργιακάκη)

Ηλεκτροφορήσεις HPLC στο Αιματολογικό εργαστήριο (πιστοποιητικό από κ. Γεωργιακάκη)

Μοριακός έλεγχος ιογενών λοιμώξεων στο Μικροβιολογικό εργαστήριο του Γ.Ν.Α. Γ. Γεννηματάς (βεβαίωση από κ. Βαγιάκου)

Εκτέλεση και εκτίμηση ηλεκτροφορήσεων λευκωμάτων στο Βιοχημικό εργαστήριο του Γ.Ν.Α. Γ. Γεννηματάς (πιστοποιητικό από κ. Γεωργιακάκη)

Ανοσολογικές τεχνικές στο Εργαστήριο ελέγχου πρωτεϊνών και Αυτοανοσίας – Κυτταρομετρία ροής – Τεχνικές και ερμηνεία προμεταμοσχευτικού ελέγχου ασθενών υποψηφίων για μεταμόσχευση νεφρού στα Εργαστήρια Ιστοσυμβατότητας και Μοριακής Βιολογίας (Βεβαίωση από κ. Ινιωτάκη)

Μετεκπαίδευση διάρκειας ενός μήνα στο τμήμα ανάλυσης σπέρματος-σπερμοδιάγραμμα και τμήμα καλλιεργειών και λήψης κολλικών και τραχηλικών εκκρινμάτων του Γ.Ν.Α. «Αλεξάνδρα» (Βεβαίωση από κ.Τερζή-Λουκοπούλου)

Διδακτική εμπειρία

-Εκπαιδεύτρια στα Ι.Ε.Κ. Αμαρουσίου, Αιγάλεω και Νέας Σμύρνης, διδάσκοντας τα μαθήματα Μικροβιολογία, Υγιεινή, Παρασιτολογία και Πρώτες Βοήθειες για το εξάμηνο 2008B (11 ώρες/ εβδομάδα),

-στα Ι.Ε.Κ. Αμαρουσίου και Νέας Σμύρνης για το εξάμηνο 2009A (6 ώρες/ εβδομάδα) για το μάθημα της Κλινικής Βιοχημείας,

-στα Ι.Ε.Κ. Νέας Σμύρνης για τα εξάμηνα 2009B και 2010A για το μάθημα της Ακτινοδιαγνωστικής,

-στο Ι.Ε.Κ. Χίου για τα μαθήματα Παιδιατρική, Υγιεινή, Πρώτες Βοήθειες το εξάμηνο 2012B και 2013A.

Δεξιότητες

Μητρική Γλώσσα

Ελληνική

Ξένες γλώσσες

Αγγλική Γλώσσα, Άριστη γνώση Certificate of Proficiency in English του Πανεπιστημίου του Cambridge και ως εκ τούτου επάρκεια γνώσης και διδασκαλίας της Αγγλικής από το Υπουργείο Παιδείας

Γαλλική Γλώσσα, Άριστη γνώση D.A.L.F. από το Institut Francais d' Athenes και ως εκ τούτου επάρκεια γνώσης και διδασκαλίας της Γαλλικής από το Υπουργείο Παιδείας

Ιταλική γλώσσα, Καλή γνώση

Γνώσεις Η/Υ

Infotest Certified Basic User στις ενότητες

- Επεξεργασία κειμένου/Word Processing (MS Word 2010 GR)
- Υπολογιστικά φύλλα/Spreadsheets (MS Excel 2010 GR)
- Υπηρεσίες Διαδικτύου/Internet Applications & Communication (MS Internet Explorer11 & MS Outlook 2010 GR)

Άλλες Πληροφορίες

Διακρίσεις

Σειρά εισαγωγής 7(έβδομη) στην Ιατρική Σχολή του Ε.Κ.Π.Α. με 19.644 μόρια

Υποτροφία Ι.Κ.Υ. από το κληροδότημα «Α. Παπαδάκη» που προοριζόταν για αριστεύσαντες φοιτητές του Ε.Κ.Π.Α. κατά τα έτη 2005, 2006, 2007, 2008

Απολυτήριο Λυκείου με βαθμό 19,8

Συμμετοχή στο πρόγραμμα Euroscola και στις εργασίες του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου στο Στρασβούργο κατά τη χρονιά 2001

Διάκριση στον Πανελλήνιο διαγωνισμό «Θαλής» της Ελληνικής Μαθηματικής Εταιρείας κατά τα έτη 1999, 2000, 2001 στην Α', Β' και Γ' Λυκείου, εκ των οποίων το 1999 και 2000 διάκριση και στη δεύτερη φάση του διαγωνισμού «Ευκλείδης»

Εκπρόσωπος του Νομού Χίου (με την υψηλότερη βαθμολογία στις Πανελλήνιες) στο πρόγραμμα της Γενικής Γραμματείας Νέας Γενιάς «Οι νέοι γνωρίζουν την Ευρώπη» και επίσκεψη στο Παρίσι τη χρονιά 2002

Βραβείο στον Πανελλήνιο διαγωνισμό Τεχνολογίας στην Α'Λυκείου

Επιστημονικό έργο

Σεμινάρια

Παρακολούθηση και πιστοποίηση γνώσεως στο 8^ο Διεπιστημονικό Σεμινάριο με θέμα «Βασικές αρχές στην Ανακουφιστική Φροντίδα», Σπάτα 2016

Χειμερινό Σχολείο «Σπερμοδιάγραμμα –ανδρική υπογονιμότητα», Ιωάννινα 2016

Κλινικά Φροντιστήρια (Αθήνα Ιούνιος 2016):

- «Η εφαρμογή της σύγχρονης τεχνολογίας στα Κλινικά Εργαστήρια Ανοσολογίας»
- «Λεμφοκυτταρώσεις: από την καλοήγη λεμφοκυττάρωση στο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο»
- «Βασική εργαστηριακή διαγνωστική των παρασιτικών λοιμώξεων»
- «Βιοχημικοί δείκτες στην παιδιατρική περίθαλψη»
- «Νεότερα δεδομένα στις ουρολοιμώξεις: από την εργαστηριακή διάγνωση στη θεραπεία»

Παρακολούθηση σεμιναρίου εκμάθησης νοηματικής γλώσσας για ένα έτος

Παρακολούθηση και πτυχίο από το Φροντιστήριο Κατηχητών της Αποστολικής Διακονίας, διάρκειας δύο ετών

Συνέδρια

20η Ετήσια Διημερίδα Κλινικής Μικροβιολογίας με θέμα «Δημόσια Υγεία: ο ρόλος του Εργαστηρίου Κλινικής Μικροβιολογίας στη διάγνωση, θεραπεία και πρόληψη των λοιμώξεων», Αθήνα Ιανουάριος 2020

Πανελλήνιο Συνέδριο Εφαρμοσμένης Εργαστηριακής Ιατρικής, Οκτώβριος 2019

Σεμινάριο Ακαδημίας Αιμοδοσίας με θέμα «Η Αιμοδοσία το 2019: Αιχμές στην επιλογή του αιμοδότη και στην ποιότητα», Αθήνα Σεπτέμβριος 2019

8^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατρικής Βιοχημείας/ 4^ο Συμπόσιο Εργαστηριακής Αιματολογίας & Αιμοδοσίας, Αθήνα Απρίλιος 2019

9^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Μικροβιολογίας, Αθήνα Φεβρουάριος 2019

18^η Ετήσια Κλινική Διημερίδα Κλινικής Μικροβιολογίας με θέμα «Μικροβιαιμία: σύγχρονη μεθοδολογία ανίχνευσης ταυτοποίησης των παθογόνων και ελέγχου της αντοχής» Ιανουάριος 2018

8^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Μικροβιολογίας, Αθήνα Μάρτιος 2017

Ετήσιο μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο 2016-2017 της Ελληνικής

Εταιρείας Εργαστηριακής Αιματολογίας και Αιμοδοσίας –Χειμώνας 2016-2017

9^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατρικής Βιοπαθολογίας, Αθήνα Ιούνιος 2016

42^ο ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο -26^η συνεδριακή επιστημονική εκδήλωση της Ελληνικής Εταιρείας εργαστηριακής Αιματολογίας και Αιμοδοσίας, Αθήνα Μάιος 2016

7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατρικής Βιοχημείας/3^ο Συμπόσιο Εργαστηριακής Αιματολογίας και Αιμοδοσίας, Αθήνα Μάιος 2016

Κύκλος μαθημάτων Ιατρικής Βιοχημείας 2015-2016 (9 μαθήματα)

Ετήσιο μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο 2015-2016 της Ελληνικής Εταιρείας Εργαστηριακής Αιματολογίας και Αιμοδοσίας –Χειμώνας 2015-2016

Κύκλος μαθημάτων Ιατρικής Βιοχημείας 2014-2015 (10 μαθήματα)

Ετήσιο μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο 2014-2015 της Ελληνικής Εταιρείας Εργαστηριακής Αιματολογίας και Αιμοδοσίας –Χειμώνας 2014-2015

Ετήσιο μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο 2013-2014 της Ελληνικής Εταιρείας Εργαστηριακής Αιματολογίας και Αιμοδοσίας –Χειμώνας 2013-2014

Ημερίδα «Διεπιστημονικής συζήτησης για την Ομοφυλοφιλία και την ταυτότητα του φύλου» από την Παιδοψυχιατρική Εταιρεία Ελλάδος -Απρίλιος 2018

Εργασίες

«Έλεγχος ρινικής φορέας *Staphylococcus aureus* σε επαγγελματίες υγείας στο Γ.Ν. Χίου»

Δ.Ανταράκη, Χ.Μαρμαράς, Α.Πιτσικούλη, Π.Ζώρζου, Γ.Αντωνάκη, στο 12^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Ελέγχου Λοιμώξεων, Αθήνα Νοέμβριος 2019

«Συσχέτιση μέσου όγκου αιμοπεταλίων (MPV) και HbA1c σε διαβητικούς και μη διαβητικούς ασθενείς»

Δ.Ανταράκη, Η.Σταυροπούλου, Ε.Μανάρα, Μ.Τσακού, Γ.Αντωνάκη, Ι.Χαλιωρή, στο 8^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατρικής Βιοχημείας/4^ο Συμπόσιο εργαστηριακής Αιματολογίας & Αιμοδοσίας, Αθήνα Απρίλιος 2019

«Μελέτη σε συρρέοντα κρούσματα άσηπτης μηνιγγίτιδας στο νησί της Χίου το καλοκαίρι 2018»

Δ.Ανταράκη, Χ.Κάκαρη, Α.Κοσμά, Ε.Πιππίδη, Μ.Εμμανουήλ, Γ.Αντωνάκη για το 9^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Μικροβιολογίας, Αθήνα Φεβρουάριος 2019

«Αντιμετώπιση μυκωτικού ανευρύσματος αορτής με τοποθέτηση ενδοπρόθεσης: Μια ελπιδοφόρα θεραπεία για επιβαρυσμένους ασθενείς»

Δ.Αφενδούλης, Μ.Πολίτη, Μ.Μουτάφη, Σ.Φερούς, Σ.Βουγαζιανός, Δ.Ανταράκη, Κ.Βασιλείου, Α.Μαράτσος, Μ.Π.Ζώρζου, στο 19^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λοιμώξεων, Αθήνα Μάρτιος 2019

«Οροθετικότητα και προσφυγικές ροές: Μια νέα πρόκληση για τις ΜΕΛ;»

Σ.Φερρούς, Ι.Μαρής, Μ.Πολίτη, Ε.Βορριάς, Δ.Αφενδούλης, Κ.Μυλωνά, Κ.Κορδοπάτη-Ζήλου, Α.Μαλακού, Δ.Ανταράκη, Ι.Βαγγέλα, Μ.-Π. Ζώρζου, Ι.Χαλιορή για το 30^ο Πανελλήνιο Συνέδριο AIDS, Αθήνα 30/11-2/12/2018

«Μελέτη της αντοχής στην Colistin στελεχών *Acinetobacter baumannii* και *Klebsiella pneumoniae* με τέσσερις μεθόδους»
Μ.Ορφανίδου, Λ-Π Δροσοπούλου, Α.Τσάκαλος, Ι. Γλυνού, Ε.Ζαφειροπούλου, Δέσποινα Ανταράκη, Μ. Καμπερογιάννη, Γ. Γκαντέρης, Ε. Βαγιάκου για το 10^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατρικής Βιοπαθολογίας- Αθήνα Απρίλιος 2018

«Συχνότητα απομόνωσης και έλεγχος ευαισθησίας βακτηρίων απομονωθέντων από καλλιέργειες εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY) από ασθενείς της Νευροχειρουργικής Κλινικής (ΝΧ) με εξωκουλιακή παροχέτευση (EVD), σε τριτοβάθμιο νοσοκομείο της Αθήνας κατά την περίοδο 2011-2013», στα πλαίσια του 7^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Κλινικής Μικροβιολογίας, Αθήνα 2015

«Ανοσοϊστοχημική ταυτοποίηση κακοήθων νεοπλασμάτων αγνώστου πρωτοπαθούς εστίας», ως διπλωματική εργασία στα πλαίσια του Μ.Δ.Ε. «Εφαρμογές της Βιολογίας στην Ιατρική»

“Colistin susceptibility to *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* strains with four different methods. Agree to disagree” for the 28th ECCMID

Δημοσιεύσεις

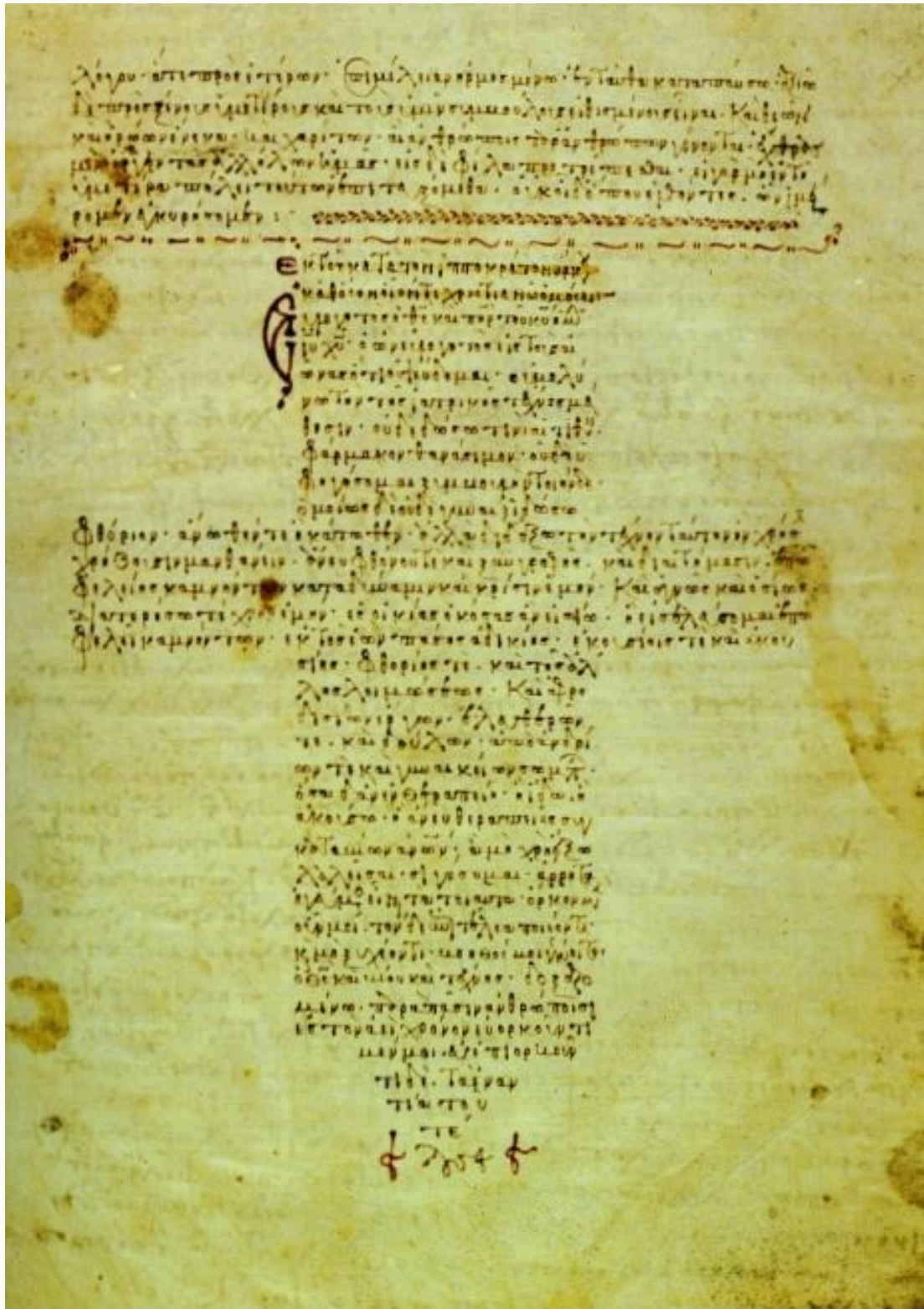
“Immunohistochemical Investigation of the role of Foxp3+ T regulatory cells in patients with Inflammatory Bowel Disease complicated with infectious intestinal presence of Cytomegalovirus”

Despoina Antaraki , Georgios Kakiopoulos , Sophia Pappa, Alike Liakea , Georgia-Heleni Thomopoulou, Eirini Thimara, Andreas C.

Lazaris

στο Journal of Surgical and Molecular Pathology, Vol 5, No 1 (2019)

Ὄρκος του Ιπποκράτη



Κείμενο όρκου

Όμνυμι Απόλλωνα ιητρών, και Άσκληπιόν, και Υγείαν, και Πανάκειαν, και θεούς πάντας τε και πάσας, ἴστορας ποιεύμενος, έπιτελέα ποιήσιν κατά δύναμιν και κρίσιν έμήν όρκον τόνδε και συγγραφήν τήνδε.

Ήγήσασθαι μέν τόν διδάξαντά με τήν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν έμοῖσι, και βίου κοινώσασθαι, και χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, και γένος τὸ έξ ωύτέου άδελφοῖς ἴσον έπικρινέειν άρρεσι, και διδάξειν τήν τέχνην ταύτην, ἥν χρηρίζωσι μανθάνειν, άνευ μισθοῦ και συγγραφής, παραγγελίης τε και άκροήσιος και τής λοιπής άπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υιοῖσι τε έμοῖσι, και τοῖσι τοῦ έμέ διδάξαντος, και μαθηταῖσι συγγεγραμμένοισι τε και ώρκισμένοις νόμω ιητρικῶ, άλλω δέ ουδενί.

Διαιτήμασί τε χρήσομαι έπ' ώφελείη καμνόντων κατά δύναμιν και κρίσιν έμήν, έπί δηλήσει δέ και άδική είρξειν.

Ού δώσω δέ ουδέ φάρμακον ουδενί αίτηθείς θανάσιμον, ουδέ ύφηγήσομαι συμβουλίην τοιήνδε. Όμοίως δέ ουδέ γυναικι πεσσόν φθόριον δώσω. Άγνώς δέ και όσίως διατηρήσω βίον τόν έμόν και τέχνην τήν έμήν.

Ού τεμέω δέ ουδέ μήν λιθιῶντας, έκχωρήσω δέ έργάτησιν άνδράσι πρήξιος τήσδε.

Ές οικίας δέ όκόσας άν έσίω, έσελεύσομαι έπ' ώφελείη καμνόντων, έκτός έών πάσης άδικής έκουσίης και φθορίης, τής τε άλλης και άφροδισίων έργων έπί τε γυναικειών σωμάτων και άνδρώων, έλευθέρων τε και δούλων.

Ά δ' άν έν θεραπειή η ἴδω, η άκούσω, η και άνευ θεραπηής κατά βίον άνθρώπων, ά μη χρή ποτε έκλαλέεσθαι έξω, σιγήσομαι, άρρήτα ηγεύμενος είναι τά τοιαῦτα.

Όρκον μέν οὔν μοι τόνδε έπιτελέα ποιέοντι, και μη συγχεόντι, είη έπαύρασθαι και βίου και τέχνης δοξαζομένω παρά πᾶσιν άνθρώποις ές τόν αιεί χρόνον. παραβαίνοντι δέ και έπιορκούντι, τάναντία τουτέων.

Απόδοση στα νέα ελληνικά

Ορκίζομαι στο θεό Απόλλωνα τον ιατρό και στο θεό Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και επικαλούμενος τη μαρτυρία όλων των θεών ότι θα εκτελέσω κατά τη δύναμη και την κρίση μου τον όρκο αυτόν και τη συμφωνία αυτή.

Να θεωρώ τον διδάσκαλό μου της ιατρικής τέχνης ίσο με τους γονείς μου και την κοινωνία του βίου μου. Και όταν χρειάζεται χρήματα να μοιράζομαι μαζί του τα δικά μου. Να θεωρώ την οικογένειά του αδέλφια μου και να τους διδάσκω αυτήν την τέχνη αν θέλουν να την μάθουν χωρίς δίδακτρα ή άλλη συμφωνία.

Να μεταδίδω τους κανόνες ηθικής, την προφορική διδασκαλία και όλες τις άλλες ιατρικές γνώσεις στους γιους μου, στους γιους του δασκάλου μου και στους εγγεγραμμένους μαθητές που πήραν τον ιατρικό όρκο, αλλά σε κανέναν άλλο.

Θα χρησιμοποιώ τη θεραπεία για να βοηθήσω τους ασθενείς κατά τη δύναμη και την κρίση μου, αλλά ποτέ για να βλάψω ή να αδικήσω. Ούτε θα δίνω θανατηφόρο φάρμακο σε κάποιον που θα μου το ζητήσει, ούτε θα του κάνω μια τέτοια υπόδειξη.

Παρομοίως, δεν θα εμπιστευτώ σε έγκυο μέσο που προκαλεί έκτρωση. Θα διατηρώ αγνή και άσπιλη και τη ζωή και την τέχνη μου. Δεν θα χρησιμοποιώ νυστέρι ούτε σε αυτούς που πάσχουν από λιθίαση, αλλά θα παραχωρώ την εργασία αυτή στους ειδικούς της τέχνης.

Σε όσα σπίτια πηγαίνω, θα μπαίνω για να βοηθήσω τους ασθενείς και θα απέχω από οποιαδήποτε εσκεμμένη βλάβη και φθορά, και ιδίως από γενετήσιες πράξεις με άνδρες και γυναίκες, ελεύθερους και δούλους. Και όσα τυχόν βλέπω ή ακούω κατά τη διάρκεια της θεραπείας ή και πέρα από τις επαγγελματικές μου ασχολίες στην καθημερινή μου ζωή, αυτά που δεν πρέπει να μαθευτούν παραέξω δεν θα τα κοινοποιώ, θεωρώντας τα θέματα αυτά μυστικά.

Αν τηρώ τον όρκο αυτό και δεν τον παραβώ, ας χαίρω πάντοτε υπολήψεως ανάμεσα στους ανθρώπους για τη ζωή και για την τέχνη μου. Αν όμως τον παραβώ και επιορκήσω, ας πάθω τα αντίθετα.

Πρόλογος

Οι ασθενείς με Ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου αποτελούν μια ιδιότυπη ομάδα ασθενών με μερικό ανοσολογικό έλλειμμα, των οποίων η ιδιαιτερότητα της ανοσιακής αντίδρασης σε λοιμώδη ερεθίσματα καλύπτεται ακόμη από ένα σκοτεινό αδιερεύνητο εν πολλοίς πέπλο.

Ξεκινώντας την έρευνα σε αυτούς ασθενείς, σαφώς επηρεασμένη από τους νοσούντες της οικογένειάς μου από ελκώδη κολίτιδα και νόσο Crohn, περιπλανήθηκα στο λαβύρινθο της αχανούς βιβλιογραφίας μελετώντας την ανοσολογική άμυνα έναντι ιών στο εντερικό τους επιθήλιο. Καταλήγοντας προβληματισμένη καθώς αντικρουόμενα βιβλιογραφικά συμπεράσματα ξετυλίγονταν μπροστά μου, εκτίμησα ακόμα περισσότερο τη φωτισμένη καθοδήγηση του εξαιρετικού μου επιβλέποντα Καθηγητή κ. Ανδρέα Χ. Λάζαρη σε κάθε στάδιο της έρευνας. Η ολοκλήρωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής θα ήταν αδύνατη χωρίς τον ευφυή αναπροσανατολισμό, την ηθική συμπαράσταση και την πρακτική συμβουλή του σε κάθε «αδιέξοδο» που αντιμετώπισα ως άπειρη ερευνήτρια.

Ευχαριστίες οφείλω και στα υπόλοιπα μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, την κ. Θωμοπούλου και την κ. Θυμαρά, για το ενδιαφέρον τους στα πλαίσια της συνεργασίας μας.

Στους γονείς και τα αδέρφια μου οφείλω κάτι περισσότερο από ευγνωμοσύνη, αφού αποτέλεσαν το έναυσμα, το στήριγμα και τη δημιουργική έμπνευσή μου για την ολοκλήρωση της παρούσας έρευνας. Μακάρι τα συμπεράσματά της να βάλουν ένα πολύ μικρό λιθαράκι στην αντιμετώπιση λοιμώξεων από ασθενείς με ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις εντερικές νόσους.

Στη διάρκεια της έρευνας παρά τον κόπο, διαπίστωνα ξανά και ξανά ότι η γνώση είναι αληθινά μαγευτική και όσο πιο επίμονα και βαθύτερα την αναζητά κανείς, τόσο πιο πολλές συγκινήσεις του επιφυλάσσει. Ένα αγιογραφικό χωρίο λέει «Γνώσεσθε τήν ἀλήθειαν, καί ἡ ἀλήθεια ἐλευθερώσει ὑμᾶς», η αναζήτηση της γνώσης, της αλήθειας είναι έμφυτο χαρακτηριστικό του ανθρώπου και του δίνει χαρά, του χαρίζει ένα βήμα προς την ελευθερία.

Ωστόσο, η γλυκιά αίσθηση της μικρότητας που μπορεί να μας αποφέρει η επαφή με το μεγαλείο της γνώσης αποτελεί ίσως το ομορφότερο δώρο της έρευνας. Όσο αυξάνεται η γνώση τόσο μεγαλώνει ο χώρος του αγνώστου που αντιλαμβανόμαστε ότι υπάρχει, καταλαβαίνουμε ότι αυτά που αγνοούμε είναι πολύ περισσότερα από αυτά που μπορούμε να χαρτογραφήσουμε, αλλά κι αυτό είναι ένα δώρο, να νιώθεις χωμένος μέσα στην απέραντη αγκαλιά της θεϊκής παρουσίας, όπου πλέον η αποκάλυψη είναι πολύ ανώτερη από κάθε ανακάλυψη.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΠΑΧΥ ΕΝΤΕΡΟ

Φυσιολογικά

Ανατομία

Το παχύ έντερο διακρίνεται στο τυφλό, το ανιόν κόλον, το εγκάρσιο και το κατιόν κόλον. Το σιγμοειδές ξεκινάει από το χείλος της πυέλου και βρίσκεται εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας, ενώ μεταπίπτει στο ορθό περίπου στο ύψος του τρίτου ιερού σπονδύλου. Περίπου στα μέσα του μήκους του ορθού που είναι 15 cm, το ορθό διαπερνά τους πυελικού μυς οπότε και γίνεται εξωπεριτοναϊκό. Η ανάκαμψη του περιτοναίου από το ορθό στο πυελικό έδαφος δημιουργεί ένα σάκο που ονομάζεται θύλακος του Douglas.

Αγγειακό δίκτυο

Η αρτηριακή παροχή του εντέρου από το εγγύς τμήμα της νήστιδας μέχρι την ηπατική καμπή του παχέος εντέρου προέρχεται από την άνω μεσεντέρια αρτηρία. Η κάτω μεσεντέρια αρτηρία αιματώνει το υπόλοιπο παχύ έντερο μέχρι το ορθό. Κάθε αρτηρία προοδευτικά διαιρείται καθώς πλησιάζει το έντερο σχηματίζοντας ένα δίκτυο πολλαπλών αναστομωτικών τόξων. Οι αναστομώσεις αυτές συνδέουν τη μεσεντέρια κυκλοφορία με τον κοιλιακό αρτηριακό άξονα και το αιδοϊκό πλέγμα στα περιφερικά τμήματα. Η παροχέτευση της λέμφου ουσιαστικά ακολουθεί το αγγειακό δίκτυο, χωρίς την παρουσία αναστομωτικών τόξων.

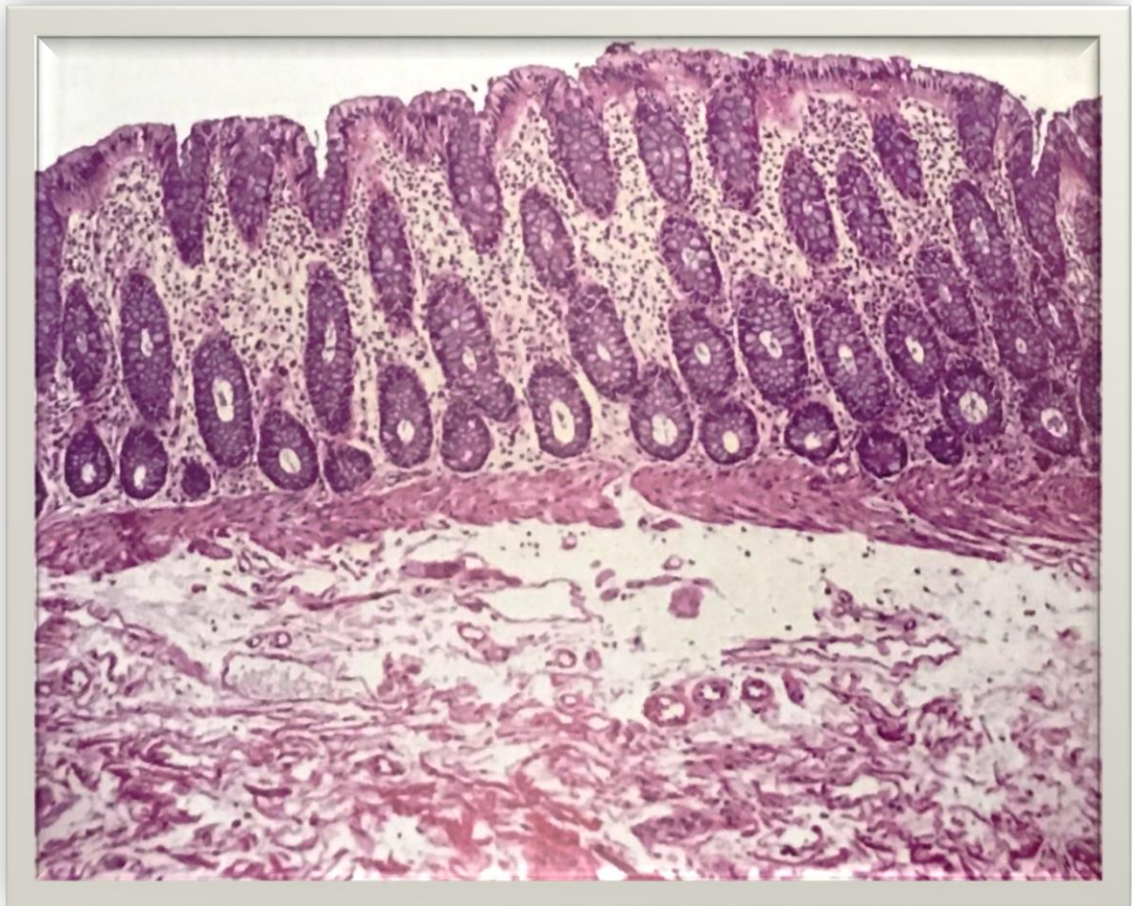
Το ανώτερο ορθό αιματώνεται από τον άνω αιμορροϊδικό κλάδο της κάτω μεσεντερίου αρτηρίας. Το κατώτερο τμήμα του αιματώνεται από τους αιμορροϊδικούς κλάδους της έσω λαγόνιας ή έσω αιδοϊκής αρτηρίας. Η φλεβική παροχέτευση έχει την ίδια κατανομή και συνδέεται με ένα αναστομωτικό δίκτυο με τις άνω και κάτω αιμορροϊδικές φλέβες, παρέχοντας μια σύνδεση μεταξύ της πυλαίας και της συστηματικής κυκλοφορίας. Εφόσον το έντερο είναι ένα οπισθοπεριτοναϊκό όργανο στην περιοχή του ανιόντος και του κατιόντος κόλου, δέχεται ένα σημαντικό ποσοστό αιμάτωσης από το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα που λειτουργεί επικουρικά, ενώ εμφανίζει και λεμφική παροχέτευση προς την κατεύθυνση αυτή.

Βλεννογόνος

Ολοκληρώνοντας την απορροφητική λειτουργία του, το λεπτό έντερο αφήνει πλέον στον αυλό ένα υλικό με μεγάλη συγκέντρωση σε υγρά. Η λειτουργία του παχέος εντέρου είναι να απορροφηθούν το ενδοαυλικό νερό και οι ηλεκτρολύτες. Σε αντίθεση με το βλεννογόνο του λεπτού εντέρου, στο παχύ έντερο ο βλεννογόμος δεν περιέχει λάχνες και είναι επίπεδος. Ο βλεννογόμος αποτελείται από άφθονες κρύπτες που εκτείνονται μέχρι τη βλεννογόνια μυική στιβάδα. Το επιφανειακό επιθήλιο αποτελείται από απορροφητικά κυλινδρικά κύτταρα, τα οποία έχουν μικρότερου μήκους και λιγότερες μικρολάχνες από αυτές του λεπτού εντέρου και καλυκοειδή κύτταρα.

Οι κρύπτες περιέχουν άφθονα καλικοειδή κύτταρα, ενδοκρινή κύτταρα και αρχέγονα κύτταρα. Κύτταρα Paneth υπάρχουν σπάνια στις κρύπτες του τυφλού και του ανιόντος κόλου. Ο εντερικός βλεννογόνος ειδικά στην περιοχή του τυφλού αποικίζεται από ενδογενή βακτήρια, ειδικά από μη παθογόνα στελέχη του *E.coli* και μικροοργανισμούς όπως *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia* και *Klebsiella*. Τα στοιχεία της ενδογενούς χλωρίδας μπορεί να αντικατασταθούν από εξωγενή βακτήρια, όπως τα παθογόνα στελέχη του *E.coli* τα οποία προκαλούν βλάβη στο βλεννογόνο.

Η αναγεννητική δυνατότητα του εντερικού επιθηλίου είναι αξιοθαύμαστη. Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός περιορίζεται στις κρύπτες ενώ η διαφοροποίηση και η μετανάστευση τους προς τον αυλό είναι σημαντική για την αποκατάσταση των ελλειμμάτων που δημιουργούνται από τη γήρανση των επιθηλιακών κυττάρων ή τον τραυματισμό τους. Στο λεπτό έντερο τα κύτταρα μεταναστεύουν από τις κρύπτες προς την κορυφή των λαχνών από όπου στη συνέχεια αποπίπτουν προς τον αυλό. Αυτό το ταξίδι υπό φυσιολογικές συνθήκες διαρκεί περίπου 96 με 144 ημέρες και έχει ως αποτέλεσμα την πλήρη αναγέννηση του επιθηλίου κάθε 4 με 6 ημέρες. Στο παχύ έντερο η αναγέννηση διαρκεί 3 με 8 ημέρες. Η ταχεία αναγέννηση του επιθηλίου του εντέρου του παρέχει μια σημαντική δυνατότητα προς επιδιόρθωση αλλά επίσης το καθιστά ιδιαίτερα ευαίσθητο σε παράγοντες που επηρεάζουν το διπλασιασμό του κυττάρου, όπως η ακτινοβολία και η χημειοθεραπεία κάποιου κακοήθους νεοπλασματος.



Εικόνα 1. Ιστολογία φυσιολογικού παχέος εντέρου, στο οποίο ο βλεννογόνος είναι επίπεδος και περιέχει άφθονες κάθετα προσανατολισμένες κρύπτες. (Robbins and Cotran, Παθολογοανατομική βάση νοσημάτων με σημεία παθολογίας, σελ.1108) (1)

Ενδοκρινή κύτταρα

Μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων του στομάχου, των λαχνών του λεπτού εντέρου και των κρυπτών του λεπτού και του παχέος εντέρου αναγνωρίζονται διάσπαρτα ενδοκρινή κύτταρα. Παρόμοια κύτταρα υπάρχουν στα επιθήλια του παγκρέατος, των χοληφόρων, του πνεύμονα, του θυρεοειδούς και της ουρήθρας. Τα ενδοκρινή κύτταρα του γαστρεντερικού έχουν ιδιαίτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά. Στα περισσότερα κύτταρα το κυτταρόπλασμα έχει άφθονα ηωσινόφιλα κοκκία, τα οποία εκκρίνουν προϊόντα. Το μεγαλύτερο τμήμα του κυττάρου είναι τοποθετημένο στη βάση του επιθηλίου και ο πυρήνας βρίσκεται προς το αυλικό τμήμα των κυτταροπλασματικών κοκκίων.

Τα κύτταρα αυτά παράγουν μια μεγάλη ποικιλία πεπτιδίων ανάλογα με τον κυτταρικό υπότυπό τους. Τα εκκριτικά κοκκία απελευθερώνονται προς τη βασική επιφάνεια των ενδοκρινών κυττάρων ή προς το βασικό τμήμα της πλάγιας επιφάνειάς τους. Κορυφαία έκκριση προς τον αυλό δεν έχει παρατηρηθεί. Τα διάφορα εκκριτικά προϊόντα, μερικά από τα οποία υπάρχουν επίσης και στο αυτόνομο νευρικό πλέγμα, λειτουργούν ως χημικοί μεταγωγείς σήματος και ρυθμίζουν τη φυσιολογική πεπτική λειτουργία με ένα συνδυασμό ενδοκρινών, παρακρινών και νευροκρινών μηχανισμών. Κάθε τύπος ενδοκρινούς κυττάρου ακολουθεί την κατανομή που υπαγορεύεται από τις φυσιολογικές ανάγκες του εκάστοτε τμήματος του γαστρεντερικού.

Ανοσοποιητικό σύστημα του εντέρου

Ο άνθρωπος εκτίθεται σε ένα μεγάλο αριθμό περιβαλλοντικών αντιγόνων μέσω του γαστρεντερικού συστήματος. Η επιφάνεια του γαστρεντερικού σωλήνα μέσω της οποίας τα αντιγόνα της πέψης μπορεί να εισέρχονται είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή του δέρματος και των πνευμόνων, Το ανοσοποιητικό σύστημα πρέπει να ισορροπεί στην ανοχή των μη παθογόνων προσληφθέντων θρεπτικών ουσιών της τροφής και στην ενεργό άμυνα έναντι πιθανών μικροβιακών παραγόντων. Η δυσλειτουργία αυτής της ρυθμιστικής μηχανής μπορεί να προκαλέσει μια λανθάνουσα χρόνια νόσο και σε μερικές περιπτώσεις σοβαρές οξείες καταστάσεις απειλητικές για τη ζωή.

Κατά μήκος του λεπτού και του παχέος εντέρου υπάρχουν οζίδια λεμφικού ιστού τα οποία είναι τοποθετημένα είτε στο βλεννογόνο ή μεταξύ του βλεννογόνου και του υποβλεννογονίου χιτώνα (1). Τα λεμφικά αυτά οζίδια διαταράσσουν την επιφάνεια του επιθηλίου προκαλώντας μια εικόνα που αφορά περισσότερο σε ευρείες υπεργέρσεις παρά σε λάχνες. Στην περιοχή του ειλεού τα λεμφικά οζίδια συρρέουν μεταξύ τους και σχηματίζουν τις μακροσκοπικά ορατές πλάκες Peyer. Το καλυπτικό επιθήλιο ύπερθεν των λεμφικών οζιδίων περιέχει τόσο απορροφητικά κύτταρα όσο και κύτταρα Μ (μεμβρανώδη κύτταρα), τα οποία υπάρχουν μόνο στις περιοχές αυτές του λεπτού και του παχέος εντέρου. Τα κύτταρα Μ μπορούν να μεταφέρουν τα αντιγονικά μακρομόρια από τον αυλό προς τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα που βρίσκονται κάτω από το

επιφανειακό επιθήλιο. Στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα ανήκουν τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα.

Κατά μήκος του εντέρου τα T λεμφοκύτταρα εντοπίζονται διάσπαρτα εντός του επιφανειακού επιθηλίου, συνήθως στις βασικές πλάγιες επιφάνειες των κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά ονομάζονται ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα και είναι CD8+ κυτταροτοξικά κύτταρα. Το χόριο περιέχει βοηθητικά CD4+ κύτταρα, ενεργοποιημένα B λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα. Τα πλασματοκύτταρα του χορίου εκκρίνουν διμερείς IgA, IgG και IgM ανοσοσφαιρίνες που εισέρχονται στη σπλαγγική κυκλοφορία. Η IgA μεταφέρεται μέσω των εντεροκυττάρων ή των ηπατοκυττάρων για να εκκριθεί στη χολή. Και με τους δυο αυτούς μηχανισμούς εκκρίνεται η ανοσοσφαιρίνη IgA στον εντερικό αυλό. Τα λεμφικά οζίδια του εντέρου, τα λεμφοκύτταρα του βλεννογόνου και τα μεμονωμένα λεμφοζίδια στη σκωληκοειδή -απόφυση συνιστούν το λεμφικό ιστό που συνοδεύει το βλεννογόνο (MALT).

B. ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Νόσοι μικροβιακής αιτιολογίας

Τα εντερικά νοσήματα μικροβιακής προέλευσης χαρακτηρίζονται κυρίως από διάρροια και σε μερικές περιπτώσεις από ελκωτικές και φλεγμονώδεις αλλοιώσεις στο λεπτό και στο παχύ έντερο. Η λοιμώδης εντεροκολίτιδα είναι μια παγκόσμια νόσος που προκαλεί περίπου 12000 θανάτους την ημέρα στις αναπτυσσόμενες χώρες και συνιστά το αίτιο για τους μισούς θανάτους που παρατηρούνται σε ηλικία κάτω των 5 ετών παγκοσμίως (2).

Ιογενής γαστρεντερίτιδα

Παρά το γεγονός ότι οι εντερικοί ιοί είναι γενετικά και μορφολογικά διαφορετικοί μεταξύ τους, οι αλλοιώσεις που προκαλούν στο έντερο είναι παρόμοιες. Ο βλεννογόνος του λεπτού εντέρου συνήθως εμφανίζει μείωση του μήκους των λαχνών και διήθηση του χορίου από λεμφοκύτταρα. Μπορεί να συνυπάρχει κενοτοπίωση και απώλεια των μικρολαχνών των επιφανειακών επιθηλιακών κυττάρων, ενώ οι κρύπτες είναι υπερτροφικές. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αναγνωρίζονται τα σωματίδια του ιού εντός των επιθηλιακών κυττάρων. Στα βρέφη ο ροταϊός μπορεί να προκαλέσει επιπέδωση του βλεννογόνου που θυμίζει κοιλιοκάκη.

Ιός	Γονιδίωμα	Μέγεθος (nm)	% παιδικής εντεροκο-λίτιδας στις ΗΠΑ		Τρόπος μετάδοσης
			Ηλικία	Ηλικία	
Ροταϊός (ομάδα A)	dsRNA	70	60	6-24 μήνες	Από άτομο σε άτομο, τρόφιμα, νερό
Caliciviruses Ιοί τύπου Norwalk Κλασικοί ιοί	ssRNA	35-40	20	Παιδί ή ενήλικος	Από άτομο σε άτομο, νερό, κρύα τρόφιμα, ακατέργαστα όστρακα
Εντερικοί αδενοϊοί	dsDNA	80	8	Παιδιά <2 ετών	Από άτομο σε άτομο
Αστροϊοί	ssRNA	28	4	Παιδί	Από άτομο σε άτομο, νερό, ακατέργαστα όστρακα

Στοιχεία από Goodgame RW: Viral causes of diarrhea. Gastroenterol Clin North Am 30:779, 2001.
ds: διπλής έλικας SS: μονής έλικας.

Εικόνα 2. Κοινί ιοί του γαστρεντερικού συστήματος (Στοιχεία από Goodgame RW: Viral causes of diarrhea. Gastroenterol Clin North Am 30: 779, 2001)

Βακτηριακή εντεροκολίτιδα

Δεδομένου του μεγάλου αριθμού των βακτηριακών παθογόνων, η παθολογοανατομική εικόνα της λοίμωξης του εντέρου από βακτήρια ποικίλλει. Σημαντική διάρροια, η οποία σε μερικές περιπτώσεις είναι μοιραία, μπορεί να εμφανιστεί χωρίς σημαντική παθολογοανατομική βλάβη, όπως στη χολέρα από το δονάκιο της χολέρας. Εναλλακτικά η παρουσία σημαντικής ιστολογικής εικόνας, όπως στη λοίμωξη από *Cl. difficile* είναι σημαντική για τη διάγνωση της ψευδομεμβρανώδους κολίτιδας. Οι περισσότερες βακτηριακές λοιμώξεις συνοδεύονται από μη ειδική βλάβη του καλυπτικού επιθηλίου, μείωση της ωρίμανσης του επιθηλίου με αυξημένο μιτωτικό δείκτη (αναγεννητικού τύπου ατυπία), υπεραιμία και οίδημα του χορίου και ποικίλου βαθμού ουδετεροφιλική διήθηση του χορίου και του επιθηλίου. Στο λεπτό έντερο μπορεί να υπάρχει ήπια ατροφία των λαχνών. Στο παχύ έντερο η αρχιτεκτονική συνήθως διατηρείται. Με την ανάρρωση συνήθως εξαφανίζονται η ουδετεροφιλική διήθηση και η καταστροφή του επιθηλίου, ενώ παραμένουν η αναγεννητική ατυπία του επιθηλίου και η λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση του χορίου. Εναλλακτικά η προοδευτική καταστροφή του επιθηλίου οδηγεί σε διάβρωση, εξέλκωση και πυκνή φλεγμονώδη διήθηση του υποβλεννογόνιου χιτώνα.

Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά συγκεκριμένων λοιμώξεων είναι τα εξής:

- Η *Shigella* συνήθως προσβάλλει το περιφερικό κόλον, με υπεραιμία και οίδημα και αύξηση του μεγέθους των λεμφοζιδίων του βλεννογόνου,

δημιουργώντας μακροσκοπικά ορατά οζίδια. Μέσα σε 24 ώρες η παρουσία οξεία φλεγμονώδους διήθησης προκαλεί ένα εστιακό και στη συνέχεια συνεχές εξίδρωμα. Σε αυτή τη φάση ο βλεννογόνος είναι μαλθακής σύστασης και εύθρυπτος, ενώ αναγνωρίζονται ακανόνιστου σχήματος εξελκώσεις. Η σοβαρή λοίμωξη προκαλεί διάβρωση μεγάλων περιοχών του τοιχώματος του εντέρου. Η φάση επούλωσης χαρακτηρίζεται από σχηματισμό κοκκιώδους ιστού και από αναγέννηση του επιθηλίου.

- Η *Salmonella* (πολλαπλά είδη συμπεριλαμβανομένων των *S.typhimurium* και *S.paratyphi*) προσβάλλει πρωτίστως τον ειλεό και το παχύ έντερο, προκαλώντας ατροφία των λαχνών, αγγειακή συμφόρηση και μονοπυρηνική φλεγμονώδη διήθηση. Η προσβολή των πλακών Peyer προκαλεί οίδημα, συμφόρηση και τελικά εξέλκωση του βλεννογόνου με παρουσία γραμμοειδών ελκών. Στη λοίμωξη από *S. typhi*, η βακτηριαιμία και συστηματική διασπορά του μικροβίου προκαλεί πολλαπλασιασμό των φαγοκυττάρων και διόγκωση του δικτυοενδοθηλιακού και του λεμφικού συστήματος σε όλο το σώμα. Οι πλάκες Peyer στον τελικό ειλεό εμφανίζουν υπέγερση που μπορεί να φτάσει τα 8cm σε διάμετρο με διόγκωση και των επιχώριων μεσεντέριων λεμφαδένων. Η προσβολή του βλεννογόνου και η διόγκωση του λεμφικού ιστού προκαλούν την εμφάνιση εξελκώσεων ωοειδούς σχήματος, ο επιμήκης άξονας των οποίων είναι παράλληλος με τον άξονα του εντέρου. Η ιστολογική εξέταση αναδεικνύει την παρουσία μακροφάγων που περιέχουν βακτήρια, ερυθροκύτταρα και πυρηνική σκόνη. Μαζί με τα φαγοκύτταρα αναγνωρίζονται λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα, ενώ ουδετερόφιλα αναγνωρίζονται στις περιοχές πλησίον του εξελκωμένου βλεννογόνου. Ο σπλήνας είναι διογκωμένος και μαλθακής σύστασης και εμφανίζει έναν ομοιόμορφα ωχρής χροιάς ερυθρό πολφό, ιστιοκυττάρωση των λεμφοκόλπων και πολλαπλασιασμό του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος. Το ήπαρ εμφανίζει μικρές διάσπαρτες εστίες παρεγχυματικής νέκρωσης στις οποίες τα ηπατοκύτταρα αντικαθίστανται από μια άθροιση μονοπύρηνων φαγοκυττάρων που ονομάζεται κοκκίωμα του τύφου. Τα οζίδια αυτά αναγνωρίζονται επίσης και στο μυελό και τους λεμφαδένες. Ο αποικισμός της χοληδόχου κύστης που μπορεί να συνοδεύεται από την παρουσία λίθων προκαλεί χρόνια φορεία του μικροβίου.
- Η λοίμωξη από *Campylobacter jejuni* και άλλα είδη μπορεί να προσβάλλει ολόκληρο το έντερο από τη νήστιδα μέχρι τον πρωκτό. Το λεπτό έντερο εμφανίζει μείωση της αναλογίας λαχνών προς κρύπτες. Στη διηθητική λοίμωξη του παχέος εντέρου ο βλεννογόνος στην πρωκτοσκόπηση είναι εύθρυπτος με επιφανειακή διάβρωση. Ιστολογικά, αναγνωρίζονται πολλά επιφανειακά έλκη, φλεγμονώδης διήθηση του βλεννογόνου και φλεγμονώδες εξίδρωμα. Σε μερικές περιπτώσεις αναγνωρίζονται κρυπτικά αποστημάτια και εξελκώσεις του βλεννογόνου που θυμίζουν ελκώδη κολίτιδα.

- Η *Yersinia enterocolitica* και η *Y.pseudotuberculosis* προσβάλλουν τον τελικό ειλεό, τη σκωληκοειδή απόφυση και το παχύ έντερο. Προκαλούν αιμορραγική διήθηση του βλεννογόνου και εξέλκωση, πάχυνση του τοιχώματος του εντέρου, υπερτροφία των πλακών Peyer και των μεσεντερικών λεμφαδένων με παρουσία νεκρωτικών κοκκιωμάτων και συστηματική διασπορά με περιτονίτιδα, φαρυγγίτιδα και περικαρδίτιδα.
- Το δονάκιο της χολέρας (*V. cholerae*) προσβάλλει το λεπτό έντερο και ειδικά το εγγύς τμήμα του. Ο βλεννογόνος παραμένει σε γενικές γραμμές άθικτος και οι κρύπτες εμφανίζουν βλεννοπενία.
- *Clostridium perfringens* και *Clostridium difficile*. Η λοίμωξη από *Cl. perfringens* είναι περίπου παρόμοια με τη λοίμωξη από το δονάκιο της χολέρας με τη διαφορά ότι συνυπάρχει ήπια επιθηλιακή βλάβη. Ορισμένα στελέχη προκαλούν νεκρωτική εντεροκολίτιδα μεγάλης βαρύτητας (NEC) με παρουσία διάτρησης. Η ψευδομεμβρανώδης κολίτιδα από *Cl. difficile* οφείλει το όνομά της στην παρουσία προσκολλημένων πλακών που αποτελούνται από ινιδοπυώδες νεκρωτικό υλικό και βλέννη λόγω βλάβης του βλεννογόνου του εντέρου. Δεν πρόκειται για αληθείς «μεμβράνες» καθώς δεν έχουμε επιθηλιακό στρώμα. Ο σχηματισμός ψευδομεμβρανών δε σχετίζεται αποκλειστικά με τη λοίμωξη από *Cl. difficile*. Μπορεί να αναγνωριστεί μετά από σοβαρή βλάβη του βλεννογόνου, όπως στην ισχαιμική κολίτιδα, στη συστροφή του εντέρου και στις νεκρωτικές λοιμώξεις (λοίμωξη από σταφυλόκοκκο, *Shigella*, μύκητες και στη NEC). Στην κολίτιδα που προκαλείται από την τοξίνη του *Cl. difficile* αυτό που προκαλεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον είναι η ιστολογική εικόνα της βλάβης. Το καλυπτικό επιθήλιο έχει απογυμνωθεί και το επιπολής χόριο περιέχει πυκνή ουδετεροφιλική διήθηση και σπάνιους θρόμβους ινικής εντός των τριχοειδών αγγείων. Οι επιπολής προσβεβλημένες κρύπτες διατείνονται λόγω της παρουσίας ενός πυώδους εξιδρώματος, το οποίο διαρρηγνύει τις κρύπτες και προσκολλάται στο κατεστραμμένο επιθήλιο σχηματίζοντας μια ψευδομεμβράνη.
- Το εντεροπαθογόνο *E.coli*: Τουλάχιστον τέσσερις διαφορετικοί τύποι του παθογόνου βακτηρίου *E.coli* που προκαλούν σημαντική νόσο έχουν αναγνωριστεί- το εντεροτοξινογόνο (ETEC), το εντεροαιμορραγικό (EHEC), το εντεροδιεισδυτικό (EiEC) και το εντεροπροσκολλητικό (το κυρίως εντεροπαθογόνο, EPEC). Στη νότια Αμερική, πιο συνήθης είναι ο εντεροαιμορραγικός ορότυπος του βακτηρίου O157:H7.66. Ο EHEC τύπος αποτελεί συστατικό της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου σε αρκετά ζώα. Οι άνθρωποι συνήθως μολύνονται από μολυσμένο κρέας. Αυτά τα βακτήρια παράγουν τοξίνες που θυμίζουν Shiga, οι οποίες καταστρέφουν τα εντεροκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων. Εκτός από

κοιλιακό άλγος και διάρροια, μερικοί ασθενείς και ειδικά τα παιδιά εμφανίζουν απειλητικό για τη ζωή αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο, το ποίο χαρακτηρίζεται από την κλασική τριάδα αιμολυτικής αναιμίας, νεφρικής ανεπάρκειας και θρομβοπενίας.

Όργανισμός	Παθογόνος μηχανισμός	Πηγή	Κλινικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα
<i>Escherichia coli</i>			Ταξιδιωτική διάρροια, που περιλαμβάνει: Υδατώδης διάρροια
• ETEC	Τοξίνη όπως στη χολέρα, καμιά εισβολή	Τρόφιμα, νερό	
• EHEC	Τοξίνη όπως στη σιγκέλωση, καμιά εισβολή	Μη καλά μαγειρεμένα προϊόντα βόειου κρέατος	Αιμορραγική κολίτιδα, αιμολυτικό-ουραιμικό σύνδρομο
• EPEC	Σύνδεση, καταστροφή των εντεροκυττάρων, καμιά εισβολή	Τρόφιμα απογαλάκτισης, νερό	Υδατώδη διάρροια, νήπια και μικρά παιδιά
• EIEC	Εισβολή, τοπική μετάδοση	Τυρί, νερό, από άτομο σε άτομο	Πυρετός, πόνος, διάρροια, δυσεντερία
Σαλμονέλα	Εισβολή, δυνατότητα μετακίνησης, λεμφοειδής φλεγμονή, διάδοση	Γάλα, βόειο κρέας, αυγά, πουλερικά	Πυρετός, πόνος, διάρροια ή δυσεντερία, βακτηριαιμία, μόλυνση
<i>Shigella</i>	Εισβολή, τοπική μετάδοση	Από άτομο σε άτομο	Πυρετός, πόνος, διάρροια, δυσεντερία, επιδημία
<i>Campylobacter</i>	Τοξίνες, εισβολή	Γάλα, πουλερικά, ζωική επαφή	Πυρετός, πόνος, διάρροια, δυσεντερία
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Εισβολή, δυνατότητα διακίνησης, λεμφοειδής φλεγμονή, διάδοση	Γάλα, χοιρινό κρέας	Πυρετός, πόνος, διάρροια, μεσεντέρια λεμφαδενίτιδα
Δονάκιο χολέρας, και άλλα δονάκια	Εντεροτοξίνη, καμιά εισβολή	Νερό, όστρακα, από άτομο σε άτομο	Υδατώδης διάρροια, χολέρα, πανδημία
<i>Clostridium difficile</i>	Κυτταροτοξίνη, τοπική εισβολή	Νοσοκομειακή μετάδοση	Πυρετός, πόνος, αιματηρή διάρροια, μετά από την αντιβιοτική χρήση
<i>Clostridium perfringens</i>	Εντεροτοξίνη, καμιά εισβολή	Κρέας, πουλερικά, ψάρια	Υδατώδης διάρροια
Φυματίωση	Εισβολή, διατοίχωματικές φλεγμονώδεις διηθήσεις με νέκρωση	Μολυσμένο γάλα, κατάποση των οργανισμών που εμπεριέχονται στα πτύελα	Χρόνιο κοιλιακό άλγος επιπλοκές, δυσασπρόφηση διάτρηση, συρίγγια, αιμορραγία

Εικόνα 3. Σημαντικές αιτίες βακτηριακής εντεροκολίτιδας (Robbins, Cotran, Παθολογοανατομική βάση νοσημάτων με στοιχεία παθογένειας, σελ.1116) (4)

Παρασιτική εντεροκολίτιδα

Παρόλο που οι ιοί και τα βακτήρια είναι τα κύρια παθογόνα, τα παράσιτα και τα πρωτόζωα προσβάλλουν πάνω από το μισό πληθυσμό του κόσμου σε χρόνια ή υποτροπιάζουσα βάση. Θα αναφερθούμε στις σημαντικότερες εντερικές παρασιτώσεις.

- Η αμοιβαδίαση πιο συχνά προσβάλλει το τυφλό και το ανιόν κόλον και ακολουθείται από το σιγμοειδές, το ορθό και τη σκωληκοειδή απόφυση. Στις σοβαρές περιπτώσεις ωστόσο προσβάλλεται όλο το έντερο. Η αμοιβάδα μπορεί να μιμείται μορφολογικά τα μακροφάγα λόγω του γεγονότος ότι έχει παρόμοιο μέγεθος και μεγάλο αριθμό κενοτοπίων. Τα παράσιτα ωστόσο έχουν μικρότερο πυρήνα που περιέχει μεγάλο πυρηνόσωμα. Η αμοιβάδα διεισδύει μέσω του εντερικού επιθηλίου και «φωλιάζει» στο βλεννογόνο και τον υποβλεννογόνο,

προκαλώντας πυκνή διήθησή του από ουδετερόφιλα. Δεν εισέρχεται στη βλεννογόνια μυική στιβάδα και μετακινείται πλαγίως με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός έλκους με στενό αυχένα και ευρεία βάση. Αυτά τα έλκη συνήθως περιέχουν φλεγμονώδη κύτταρα και εμφανίζουν εκτεταμένη ρευστοποιό νέκρωση. Με την πάροδο του χρόνου ο υπερκείμενος βλεννογόνος χάνει την αιματική του ροή και αποπίπτει. Ο βλεννογόνος μεταξύ των ελκών είναι συνήθως φυσιολογικός ή εμφανίζει ελάχιστη φλεγμονώδη διήθηση. Σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να σχηματιστεί σχισμή λόγω του σχηματισμού κοκκιώδους ιστού. Περίπου στο 40% των ασθενών με αμοιβαδική δυσεντερία τα παράσιτα εισέρχονται στα σπλαχνικά αγγεία και μεταφέρονται στο ήπαρ σχηματίζοντας συνήθως μεμονωμένα και σπανίως πολλαπλά αποστήματα μεγέθους συνήθως πάνω από 10cm. Τα αμοιβαδικά ηπατικά αποστήματα εμφανίζουν ελάχιστη φλεγμονώδη διήθηση στα όριά τους και επαλείφονται από ένα στρώμα ινικής. Λόγω της αιμορραγίας τα αποστήματα συνήθως περιέχουν ένα σοκολατοειδές, άοσμο, παστώδες περιεχόμενο. Η δευτεροπαθής επιλοίμωξη των αποστημάτων μπορεί να τα μετατρέψει σε πυώδη.

- Στη λοίμωξη από *Giardia lamblia*, που αποτελεί το πιο συχνό παθογόνο παράσιτο στον άνθρωπο, οι τροφοζωίτες στα επιχρίσματα κοπράνων έχουν σχήμα αχλαδιού και είναι διπύρηνες. Σε βιοψίες δωδεκαδακτύλου συχνά αναγνωρίζονται δρεπανοειδείς τροφοζωίτες, οι οποίοι είναι προσκολλημένοι στη λαχνωτή επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων. Καθώς η *Giardia* δεν εισέρχεται στο βλεννογόνο, η ιστολογική εικόνα του λεπτού εντέρου μπορεί να είναι σχεδόν φυσιολογική. Ωστόσο, αρκετοί ασθενείς εμφανίζουν άμβλυση των λαχνών και μικτού τύπου φλεγμονώδη διήθηση του χορίου. Τα όρια των επιφανειακών επιθηλιακών κυττάρων είναι ακανόνιστα και σε μερικές περιπτώσεις υπάρχει σαφής ατροφία των λαχνών, μια εικόνα που θυμίζει κοιλιοκάκη.

Αγγειακές διαταραχές

Ισχαιμική νόσος του εντέρου

Η δριμύτητα της αγγειακής απόφραξης και το χρονικό πλαίσιο κατά τη διάρκεια του οποίου αναπτύσσεται είναι σημαντικοί αναγνωριστικοί παράγοντες της μορφολογίας της ισχαιμικής νόσου του εντέρου. Θα αναφερθούμε πρώτα στις οξείες αλλοιώσεις.

- Διατοιχωματικό έμφρακτο.
Το μικρό εντερικό έμφρακτο μετά από αιφνίδια και συνολική απόφραξη της μεσεντέριας αρτηριακής ροής αίματος μπορεί να προσβάλλει μόνο ένα μικρό τμήμα, αλλά συχνότερα προσβάλλει ένα σημαντικό τμήμα του εντέρου. Η σπληνική καμπή του παχέος εντέρου διατρέχει το μέγιστο κίνδυνο ισχαιμικής βλάβης επειδή είναι το σημείο διαχωρισμού μεταξύ της διανομής της άνω και κάτω μεσεντέριας αρτηρίας, αλλά οποιοδήποτε τμήμα του παχέος εντέρου μπορεί να επηρεαστεί. Στη μεσεντέρια φλεβική απόφραξη η ανάστροφη πορεία του θρόμβου μπορεί να οδηγήσει στην εκτενή προσβολή του σπλάγχνου. Ανεξάρτητα από το εάν προσβάλλεται η αρτηριακή ή φλεβική μοίρα, το

έμφρακτο εμφανίζεται αιμορραγικό λόγω της επανακυκλοφορίας αίματος στην προσβεβλημένη περιοχή. Στα πρώτα στάδια το έντερο εμφανίζεται έντονα συμπεφορημένο με μελανόφαιη ως πορφυροκόκκινη χροιά με εστίες εκχυμώσεων του υπορογόνιου και του υποβλεννογόνιου. Με το χρόνο το τοίχωμα γίνεται οιδηματώδες, εύθρυπτο και αιμορραγικό. Ο αυλός περιέχει συνήθως αιματηρή βλέννη ή αίμα. Στα αρτηριακά έμβολα υπάρχει συνήθως σαφής διαχωρισμός της ισχαιμικής περιοχής από το φυσιολογικό έντερο αλλά στα φλεβικά υπάρχει βαθμιαία εξασθένηση της κυάνωσης προς το παρακείμενο φυσιολογικό έντερο, γεγονός που δεν επιτρέπει το σαφή διαχωρισμό της πάσχουσας περιοχής. Ιστολογικά υπάρχει οίδημα, διάμεση αιμορραγία και νέκρωση του βλεννογόνου. Τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα του μυϊκού χιτώνα, ιδιαίτερα οι πυρήνες, είναι δυσδιάκριτα. Μέσα σε 1 έως 4 ημέρες, τα εντερικά βακτηρίδια προκαλούν γάγγραινα και μερικές φορές διάτρηση του εντέρου. Μπορεί να υπάρξει ήπια φλεγμονώδης διήθηση.

➤ Βλεννογονικό και τοιχωματικό έμφρακτο.

Το βλεννογονικό και τοιχωματικό έμφρακτο μπορεί να εμφανιστεί σε οποιοδήποτε επίπεδο του γαστρεντερικού σωλήνα από το στόμαχο έως τον πρωκτό. Οι αλλοιώσεις μπορεί να είναι πολυεστιακές ή συνεχείς και ευρέως κατανεμημένες. Οι προσβεβλημένες περιοχές του εντέρου μπορεί να είναι πορφυρές εξαιτίας της αιμορραγικής διήθησης. Εντούτοις, στην ορογονική επιφάνεια δεν υπάρχει αιμορραγία ή φλεγμονώδης διήθηση. Κατά τη διάνοξη του εντέρου υπάρχει αιμορραγική οιδηματώδης πάχυνση του βλεννογόνου, ο οποίος μπορεί να διαπεράσει πιο βαθιά στη στιβάδα του υποβλεννογόνιου και του μυϊκού χιτώνα. Ακόμη μπορεί να υπάρχει και επιφανειακό έλκος. Στην ηπιότερη μορφή ισχαιμικής βλάβης, το επιφανειακό επιθήλιο του εντέρου ή οι άκρες των λαχνών του λεπτού εντέρου μπορεί να είναι νεκρωτικά. Δεν υπάρχει φλεγμονώδης διήθηση και μπορεί να μόνο να υπάρχει ήπια αγγειακή διαστολή. Με την πλήρη νέκρωση του βλεννογόνου αναγνωρίζεται μείωση του αριθμού των κρυπτών. Όταν η νόσος είναι σοβαρή υπάρχει εκτενής αιμορραγία και νέκρωση και των υπολοίπων στιβάδων του εντέρου. Κατά μήκος του παρακείμενου βιώσιμου εντέρου αναγνωρίζεται οξεία και χρόνια φλεγμονή. Η βακτηριακή επιλοίμωξη και ο σχηματισμός των εντεροτοξικών βακτηριακών προϊόντων μπορεί να προκαλέσουν το σχηματισμό ψευδομεμβρανών, ιδιαίτερα στο παχύ έντερο. Κατά συνέπεια, οι βλεννογονικές αλλοιώσεις μπορούν να μιμηθούν την εντεροκολίτιδα μη αγγειακής αιτιολογίας.

➤ Χρόνια ισχαιμία.

Με τη χρόνια αγγειακή ανεπάρκεια σε μια περιοχή του εντέρου μπορεί να αναπτυχθούν χρόνια φλεγμονώδης διήθηση και έλκος, που θυμίζουν την οξεία εντεροκολίτιδα από άλλες αιτίες ή ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου. Η χρόνια φλεγμονώδης διήθηση και η ίνωση του υποβλεννογόνιου προκαλούν στένωση. Αν και οι στενώσεις του παχέος εντέρου χαρακτηριστικά εμφανίζονται στην περιοχή της σπληνικής καμπής, τόσο η οξεία όσο και η χρόνια ισχαιμία του βλεννογόνου είναι εμφανώς τμηματική.

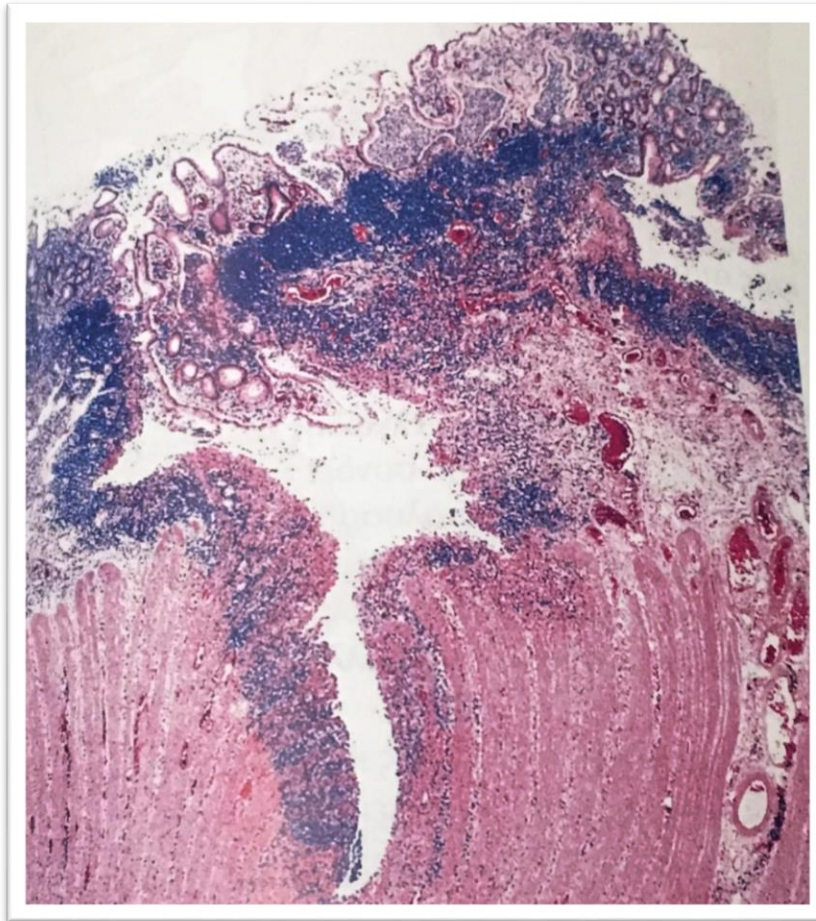
Ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου

Νόσος Crohn

Όταν έχει αναπτυχθεί η νόσος χαρακτηρίζεται από 1) σαφώς αφορισμένη διατοιχωματική προσβολή του εντέρου από μία φλεγμονώδη διαδικασία με αλλοιώσεις στο βλεννογόνο, 2) παρουσία μη τυροειδοποιούμενων κοκκιωμάτων και 3) σχηματισμό σχισμών και συριγγίων.

Στη νόσο Crohn υπάρχει μακροσκοπική προσβολή του λεπτού εντέρου περίπου στο 40% των περιπτώσεων, του λεπτού και του παχέος εντέρου στο 30% και του παχέος εντέρου στο 30%. Η νόσος Crohn μπορεί να προσβάλλει το δωδεκαδάκτυλο, το στόμαχο, τον οισοφάγο, ακόμη και τη στοματική κοιλότητα, αλλά οι εντοπίσεις αυτές είναι σχετικά σπάνιες. Στα τμήματα του εντέρου που νοσούν ο ορογόνος εμφανίζεται κοκκιώδης και λευκόφαιος ενώ το περιεντερικό λίπος φαίνεται να τυλίγει το προσβεβλημένο τμήμα του εντέρου (έρπον λίπος). Το μεσεντέριο του προσβεβλημένου τμήματος επίσης είναι παχυσμένο, οιδηματώδες και σε μερικές περιπτώσεις ινωτικό. Το εντερικό τοίχωμα εμφανίζεται επίσης πεπαχυσμένο λόγω της παρουσίας οιδήματος, φλεγμονής, ίνωσης και υπερτροφίας του μυϊκού τοιχώματος. Αποτέλεσμα είναι η στένωση του αυλού του εντέρου. Στην απλή ακτινογραφία με βαριούχο γέυμα συχνά αναγνωρίζεται το «σημείο του σκοινιού», λόγω της στένωσης του αυλού του εντέρου. Στενώσεις μπορεί να υπάρχουν σε όλο το μήκος του εντέρου, αλλά συνήθως είναι λιγότερο σοβαρές. Μια κλασική αλλοίωση της νόσου Crohn είναι ο σαφής αφορισμός των προσβεβλημένων τμημάτων του εντέρου από τα γειτονικά φυσιολογικά τμήματα. Όταν προσβάλλονται πολλαπλά τμήματα του εντέρου τα ενδιάμεσα τμήματα είναι φυσιολογικά («skip lesions»).

Ένα χαρακτηριστικό σημείο της πρώιμης προσβολής της νόσου είναι η παρουσία εστιακής εξέγκωσης του βλεννογόνου (αφθώδη έλκη), οιδήματος και απώλειας της φυσιολογικής αρχιτεκτονικής του εντέρου. Με την πρόοδο της νόσου τα έλκη του βλεννογόνου συρρέουν προς το σχηματισμό γραμμοειδών ελκών τα οποία τείνουν να προσανατολίζονται παράλληλα με τον άξονα του εντέρου. Καθώς ο γειτονικός βλεννογόνος παραμένει ανέπαφος, ο βλεννογόνος λαμβάνει μια εικόνα που θυμίζει πλακόστρωτο. Μεταξύ των πτυχών του βλεννογόνου αναπτύσσονται σχισμές που συχνά διαπερνούν βαθιά το τοίχωμα του εντέρου οδηγώντας στο σχηματισμό συμφύσεων και ορογονίτιδας του εντέρου. Η περαιτέρω επέκταση των σχισμών οδηγεί στο σχηματισμό συριγγίων είτε σε ένα γειτονικό όργανο είτε με το δέρμα ή ακόμα και με μια τυφλή κοιλότητα. Ακόμα μπορούν να αναπτυχθούν ελεύθερες διατρήσεις προς την περιτοναϊκή κοιλότητα ή εντοπισμένα αποστήματα.

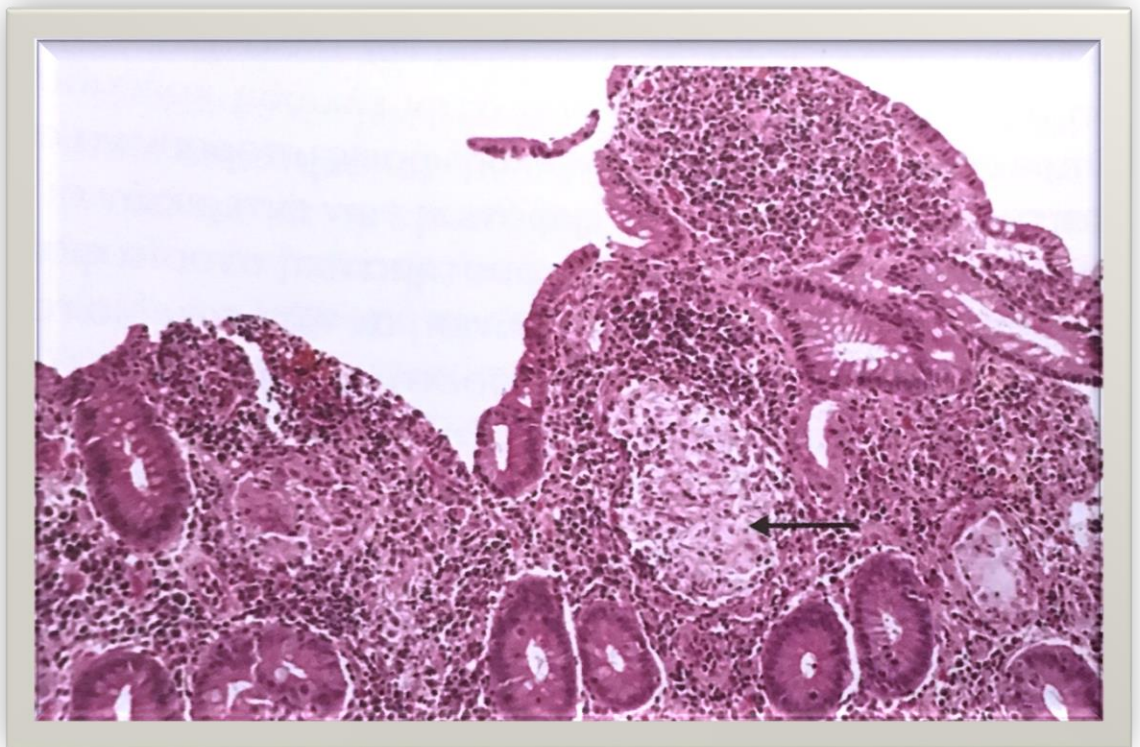


Εικόνα 4. Νόσος Crohn του παχέος εντέρου: παρατηρείται μια βαθιά σχισμή που επεκτείνεται στο μυϊκό τοίχωμα, ένα δεύτερο αβαθές έλκος και τη σχετική διατήρηση του παρακείμενου βλεννογόνου. Η παρουσία της άφθονης λευκοκυτταρικής διήθησης είναι εμφανής στην περιοχή μετάβασης του βλεννογόνου προς τον υποβλεννογόνο χιτώνα. (4)

Τα χαρακτηριστικά ιστολογικά γνωρίσματα της νόσου Crohn είναι:

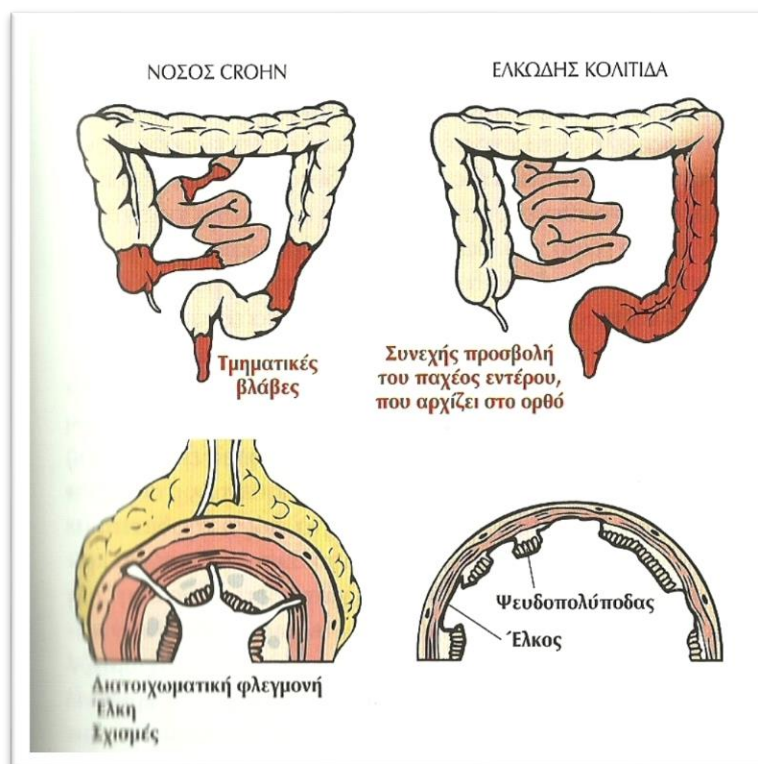
- Φλεγμονή του βλεννογόνου. Η πιο πρώιμη βλάβη είναι η εστιακή ουδετεροφιλική διήθηση του επιθηλίου που επικαλύπτει τα λεμφοζήδια του βλεννογόνου. Δεδομένου ότι η ασθένεια γίνεται χρόνια, τα ουδετερόφιλα διεισδύουν σε μεμονωμένες κρύπτες, ενώ όταν ένας ικανοποιητικός αριθμός ουδετεροφίλων διηθήσει το επιθήλιο των κρυπτών (και στο λεπτό και στο παχύ έντερο) σχηματίζεται ένα κρυπτικό αποστήματιο που καταλήγει συνήθως σε καταστροφή της κρύπτης.
- Χρόνια φλεγμονή του βλεννογόνου. Το κύριο χαρακτηριστικό των φλεγμονωδών νοσημάτων του εντέρου, νόσου Crohn και ελκώδους κολίτιδας είναι η χρόνια φλεγμονώδης διήθηση. Η διαταραχή της αρχιτεκτονικής στο λεπτό έντερο είναι εμφανής ως άμβλυση των λαχνών και στο παχύ ως διακλάδωση των κρυπτών. Ο βαθμός της διαταραχής της αρχιτεκτονικής στη νόσο Crohn είναι συνήθως μικρότερος από αυτόν που παρατηρείται στην ελκώδη κολίτιδα. Η καταστροφή των κρυπτών προκαλεί προοδευτική ατροφία, ειδικά στο παχύ έντερο. Ο βλεννογόνος μπορεί να εμφανίζει μετάπλαση με τη μορφή γαστρικών αδένων πυλωρικού τύπου ή την ανάπτυξη κυττάρων Paneth στο παχύ έντερο, όπου είναι κανονικά απόντα (μετάπλαση κυττάρων Paneth).

- Έλκος. Το έλκος είναι η συνηθισμένη έκβαση της σοβαρού βαθμού ενεργού νόσου. Το έλκος μπορεί να είναι επιφανειακό, μπορεί να προσβάλλει τον παρακείμενο βλεννογόνο ή μπορεί να διαπεράσει τα εν τω βάθει στρώματα ιστού. Υπάρχει συχνά μια απότομη μετάβαση μεταξύ του προσβεβλημένου στον παρακείμενο φυσιολογικό βλεννογόνο.
- Διατοιχωματική φλεγμονή που έχει επιπτώσεις σε όλους τους χιτώνες του τοιχώματος του εντέρου. Τα χρόνια φλεγμονώδη κύτταρα διηθούν τον προσβεβλημένο βλεννογόνο και σε μικρότερη έκταση όλους τους χιτώνες του τοιχώματος του εντέρου. Λεμφοζίδια συνήθως αναγνωρίζονται σε όλο το τοίχωμα του εντέρου.
- Μη νεκρωτικά κοκκιώματα. Περίπου στις μισές από τις περιπτώσεις μπορεί να είναι παρόντα σαρκοειδικού τύπου κοκκιώματα σε όλους τους χιτώνες του τοιχώματος του εντέρου, τόσο μέσα στις περιοχές της ενεργού νόσου, όσο στις παρακείμενες περιοχές του εντέρου. Κοκκιώματα έχουν τεκμηριωθεί σε όλο το γαστρεντερικό σωλήνα, από το στόμα μέχρι το ορθό, στους ασθενείς με εντοπιζόμενη νόσο Crohn. Αντιθέτως, η απουσία κοκκιωμάτων δεν αποκλείει τη διάγνωση νόσου Crohn.



Εικόνα 5. Νόσος Crohn του παχέος εντέρου. Μη νεκρωτικά κοκκιώματα στην περιοχή του χορίου και του βλεννογόνου του παχέος εντέρου (βέλος). (4)

- Άλλες αλλαγές του τοιχώματος του εντέρου. Στα προσβεβλημένα τμήματα το μυϊκό τοίχωμα του εντέρου υφίσταται πάχυνση. Η ίνωση του υποβλεννογονίου, του μυϊκού χιτώνα και του βλεννογόνου οδηγεί τελικά στο σχηματισμό στένωσης. Λιγότερο κοινά ευρήματα είναι η λεμφαγγειεκτασία του βλεννογόνου και του υποβλεννογονίου, η υπερτροφία των νευρικών ινών και η εντοπισμένη αγγειίτιδα.



Εικόνα 6. Σύγκριση της κατανομής της νόσου Crohn και της ελκώδους κολίτιδας, καθώς επίσης και των διαφορετικών χαρακτηριστικών των ελκών και της πάχυνσης του τοιχώματος του εντέρου που εμφανίζονται. (4)

Ελκώδης κολίτιδα

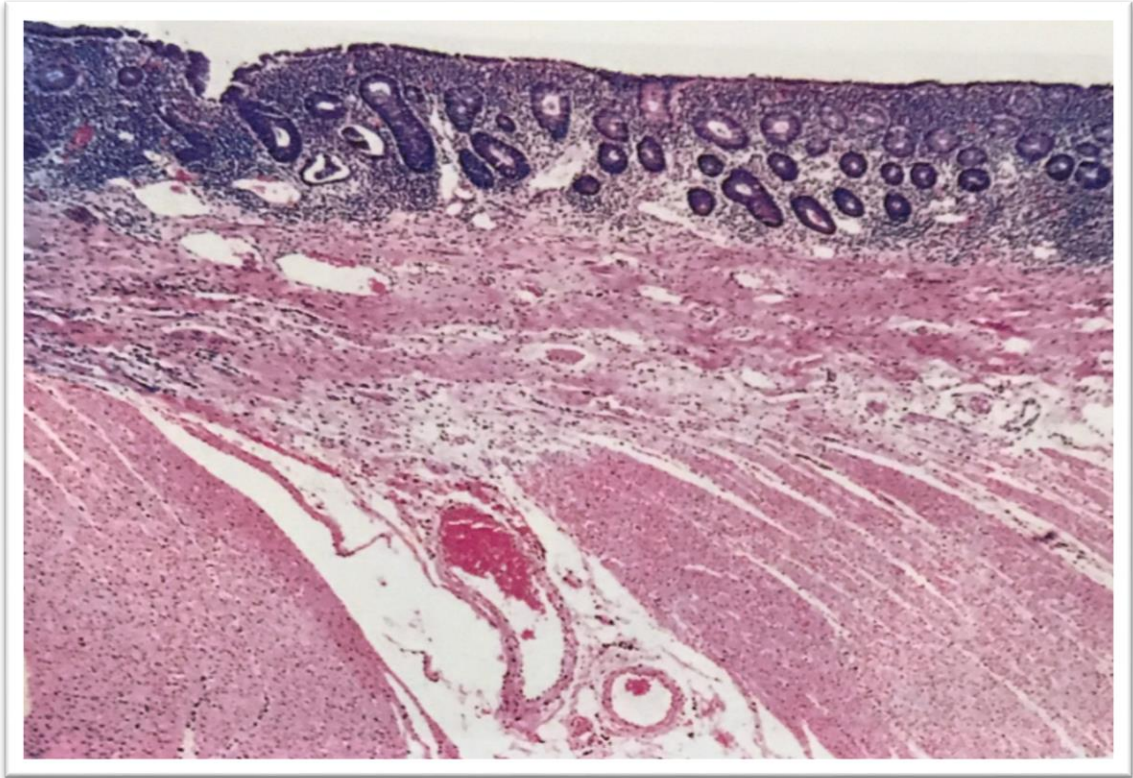
Η ελκώδης κολίτιδα είναι μια ελκωτική φλεγμονώδης νόσος που περιορίζεται στο παχύ έντερο και προσβάλλει μόνο τον βλεννογόνο και τον υποβλεννογόνο χιτώνα εκτός από τις πιο βαριές περιπτώσεις. Αντίθετα από τη νόσο Crohn, η ελκώδης κολίτιδα προσβάλλει με συνεχές πρότυπο από το ορθό και κεντρικότερα. Στις πιο βαριές περιπτώσεις μπορεί να προσβάλλει ολόκληρο το έντερο («πανκολίτιδα»). Χαρακτηριστικό είναι ότι καλοσχηματισμένα κοκκιώματα είναι απόντα. Είναι μια νόσος που δεν εμφανίζει την τμηματική προσβολή της νόσου Crohn.

Στο 10% των ασθενών με πανκολίτιδα μπορεί να προσβληθεί ο τελικός ειλεός (ειλεΐτιδα από διάρροια). Αυτό οφείλεται πιθανώς στην ανεπάρκεια της ειλεοκολικής βαλβίδας, με συνέπεια την παλινδρόμηση του φλεγμονώδους υλικού από το παχύ έντερο. Σε αντίθεση με τη νόσο του Crohn, η ειλεΐτιδα είναι συχνά διάχυτη και περιορίζεται σε 25cm από την

ειλεοκολική βαλβίδα. Η σκωληκοειδής απόφυση μπορεί να προσβληθεί και στη νόσο Crohn και στην ελκώδη κολίτιδα.

Κατά τη διάρκεια προσβολής του παχέος εντέρου ο βλεννογόνος μπορεί να εμφανίσει ευθρυπτότητα, μικροκοκκίωση, ερυθρότητα και εύκολη αιμορραγία. Με την πλήρως ανεπτυγμένη σοβαρή, ενεργό φλεγμονή μπορεί να αναπτυχθεί εκτενές και με ευρεία βάση έλκος του βλεννογόνου στο περιφερικό παχύ έντερο ή σε όλο το μήκος του. Οι απομονωμένες νησίδες αναγεννητικού βλεννογόνου προβάλλουν προς τα πάνω για να δημιουργήσουν ψευδοπολύποδες. Συχνά οι άκρες των ελκών διασυνδέονται για να δημιουργήσουν σήραγγες που καλύπτονται από τις βλεννογονικές γέφυρες. Όπως με τη νόσο Crohn, τα έλκη στην ελκώδη κολίτιδα ευθυγραμμίζονται συχνά κατά μήκος του άξονα του παχέος εντέρου, αλλά σπάνια εμφανίζονται τα γραμμικά ελικοειδή έλκη της νόσου Crohn. Με την αδρανή χρόνια νόσο ή με τη θεραπεία της ενεργού νόσου, προοδευτική ατροφία του βλεννογόνου οδηγεί σε επιπέδωση και μείωση της επιφάνειας του βλεννογόνου. Αντίθετα από τη νόσο του Crohn, δεν υπάρχει πάχυνση του τοιχώματος και η ορογονική επιφάνεια είναι συνήθως απολύτως φυσιολογική. Μόνο στις πιο βαριές περιπτώσεις προκαλείται τοξική βλάβη της μυϊκής στιβάδας και του νευρικού πλέγματος και προκαλείται διαταραχή της νευρομυϊκής λειτουργίας. Σε αυτή την περίπτωση το παχύ έντερο γίνεται οιδηματώδες και τελικά γαγγραινώδες (τοξικό megacolon).

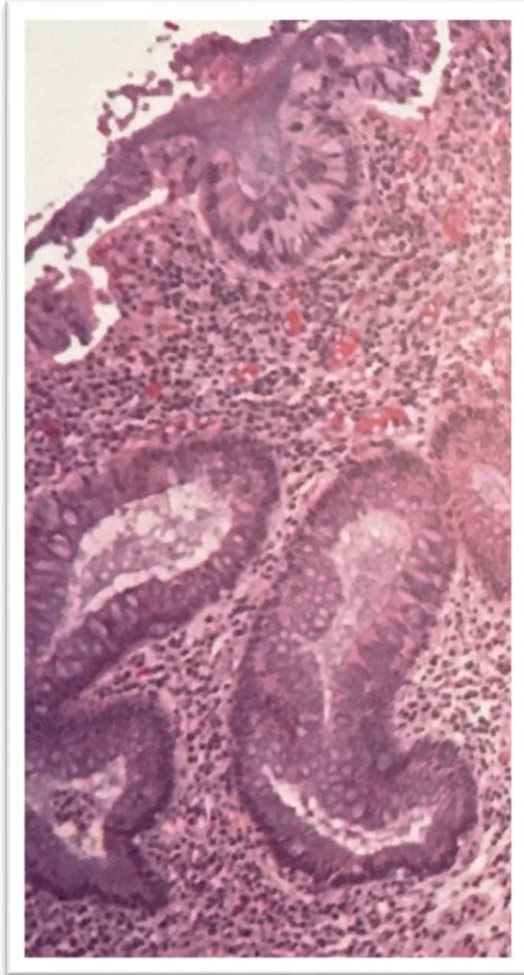
Οι βλεννογονικές αλλοιώσεις στην ελκώδη κολίτιδα είναι παρόμοιες με εκείνες που παρατηρούνται στο παχύ έντερο σε νόσο Crohn με χρόνια φλεγμονώδη διήθηση του βλεννογόνου και εξέλκωση. Κατ' αρχάς, η φλεγμονώδης διήθηση είναι διάχυτη, κυρίως μονοπυρηνική και εντοπίζεται εντός του χορίου. Η ουδετεροφιλική διήθηση του επιθηλίου των κρυπτών και του χορίου μπορεί να προκαλέσει τη συλλογή των ουδετεροφίλων εντός του αυλού των κρυπτών (κρυπτικά αποστημάτια). Τα αποστημάτια αυτά δεν είναι παθολογικά για την ελκώδη κολίτιδα και μπορεί να παρατηρηθούν και στη νόσο Crohn ή σε οποιαδήποτε άλλη ενεργό κολίτιδα. Αντίθετα από τη νόσο Crohn, δεν υπάρχουν κοκκιώματα, αν και η ρήξη των κρυπτικών αποστημάτων μπορεί να προκαλέσει μια αντίδραση ξένου σώματος. Δεύτερον, η περαιτέρω καταστροφή του βλεννογόνου οδηγεί στην εξέλκωση που επεκτείνεται στον υποβλεννογόνο χιτώνα και μερικές φορές αφήνει εκτεθειμένη τη βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα. Τρίτον, με την ύφεση της ενεργού νόσου, ο κοκκιώδης ιστός συμπληρώνει τους κρατήρες ελκών και ακολουθεί αναγέννηση του επιθηλίου. Υπολειμματικά στοιχεία της χρόνιας νόσου σε ύφεση είναι η ίνωση του χορίου, η διαταραχή της αρχιτεκτονικής του βλεννογόνου και η ατροφία.



Εικόνα 7. Ελκώδης κολίτιδα. Ιστολογική εικόνα μικρής μεγέθυνσης που παρουσιάζει διάχυτη ενεργό φλεγμονώδη διήθηση με ατροφία των κρυπτών και μέτρια ίνωση του χαλαρού υποστρώματος και διαταραχή της αρχιτεκτονικής των κρυπτών. (4)

Ένα κύριο χαρακτηριστικό της προσβολής του βλεννογόνου είναι ότι οι αλλοιώσεις είναι συνεχείς από το ορθό και επεκτείνονται κεντρικά. Στη νόσο Crohn η φλεγμονώδης διήθηση του βλεννογόνου του παχέος εντέρου μπορεί να είναι συνεχής, αλλά είναι πιο πιθανό να υπάρχει τμηματική προσβολή. Πρέπει να σημειωθεί ότι στην ελκώδη κολίτιδα σε ύφεση, στην οποία δεν υπάρχει ενεργός ουδετεροφιλική φλεγμονή, ο βλεννογόνος μπορεί να είναι φυσιολογικός ιστολογικά. Αυτό δεν αποκλείει τον κίνδυνο για την ανάπτυξη δυσπλασίας.

Ιδιαίτερα σημαντικό στην ελκώδη κολίτιδα είναι το φάσμα των επιθηλιακών αλλαγών που δηλώνουν δυσπλασία και πρόοδο σε καρκίνωμα. Η πυρηνική ατυπία και η απουσία διαφοροποίησης των επιθηλιακών κυττάρων μπορούν να είναι παρούσες στον προσβεβλημένο ή το φυσιολογικό βλεννογόνο. Η δυσπλασία του επιθηλίου αναφέρεται ως χαμηλόβαθμη ή υψηλόβαθμη. Τα κυτταρολογικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα είναι το κλειδί στην αξιολόγηση της δυσπλασίας. Η διάκριση μεταξύ της αναγεννητικής ατυπίας και της δυσπλασίας μπορεί να είναι πολύ δύσκολη και μερικές φορές αδύνατη. Οι παθολογοανατόμοι μπορούν να αναφέρουν τις άτυπες αλλοιώσεις του βλεννογόνου, οι οποίες όμως δεν επαρκούν για τη διάγνωση της δυσπλασίας (3). Οι δυσπλαστικές αλλοιώσεις μπορεί να έχουν τη μορφή πλάκας, πολυποειδούς βλάβης (αδενώματα) ή διηθητικού καρκινώματος και προέρχονται συνήθως από την εξέλιξη της επίπεδης δυσπλασίας. Πρέπει να σημειωθεί ότι οι ηλικιωμένοι ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα είναι επίσης σε κίνδυνο για την εμφάνιση σποραδικών αδενωμάτων. Η διάκριση μεταξύ της δυσπλασίας που συνδέεται με ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου και ενός συνυπάρχοντος τυχαίου αδενώματος μπορεί να είναι δύσκολη.



Εικόνα 8. Ελκώδης κολίτιδα. Ιστολογική εικόνα του βλεννογόνου στην οποία αναδεικνύεται η διάχυτη ενεργός φλεγμονή με παρουσία κρυπτικών αποστημάτων και διαταραχή της αρχιτεκτονικής των κρυπτών. (4)

Ο ρόλος της εντερικής χλωρίδας

Οι μελέτες σε ζωικά πειραματικά μοντέλα έχουν αναδείξει τη σημασία της εντερικής χλωρίδας στην παθογένεια της ιδιοπαθούς φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (4). Παρ' όλα αυτά, η προσπάθεια ανάδειξης ενός συγκεκριμένου μικροβίου ως του υποκείμενου αιτίου έχει αποδειχθεί μη καρποφόρα. Ακόμη δεν υπάρχει σαφής απόδειξη ότι η ελάττωση της εντερικής χλωρίδας μπορεί να προσφέρει ένα σημαντικό πλεονέκτημα στην πορεία των ιδιοπαθών φλεγμονωδών νόσων του εντέρου στους ανθρώπους. Τα μικρόβια μπορεί να

προκαλέσουν ανοσολογική απόκριση προσφέροντας αντιγόνα και προκαλώντας την παραγωγή κυτταροκινών, οι οποίες προκαλούν την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων. Οι διαταραχές του φραγμού του επιθηλίου του εντέρου επιτρέπουν στην εντερική χλωρίδα να βρει δίοδο προς το λεμφικό ιστό του βλεννογόνου και κατά αυτόν τον τρόπο ενεργοποιούν την ανοσολογική απάντηση.

Παθολογική T ανοσολογική απάντηση

Υποστηρίζεται ότι η εκσεσημασμένη τοπική ανοσολογική απάντηση στην ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου είναι αποτέλεσμα υπερβολικής ενεργοποίησης των T λεμφοκυττάρων και/ή ελαττωμένης ρύθμισης από τα ρυθμιστικά T λεμφοκύτταρα. Και οι δυο μηχανισμοί έχουν ανευρεθεί σε πειραματικά μοντέλα, ενώ οι αλλοιώσεις στον άνθρωπο αποτελούν σημαντική ένδειξη της T ανοσολογικής απάντησης.

Κατ' αυτόν τον τρόπο τα γονίδια υπερευαισθησίας, η εντερική χλωρίδα και ο ελαττωματικός έλεγχος της ανοσολογικής απάντησης φαίνεται να παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην έναρξη και πρόοδο της ιδιοπαθούς φλεγμονώδους νόσου του εντέρου. Ένα πολύ ενδιαφέρον αλλά αναπάντητο ερώτημα είναι εάν αυτά τα νοσήματα προκαλούνται από «αληθή» αυτοανοσία π.χ. εάν οι ανοσολογικές απαντήσεις στρέφονται ενάντια σε αυτοαντιγόνα του εντερικού επιθηλίου ή μόνο σε αντιγόνα των εντερικών μικροβίων. Ανεξάρτητα από την ειδικότητα της παθογενετικής ανοσολογικής απάντησης, αρκετά χαρακτηριστικά καθώς και ο ρόλος της είναι γνωστά.

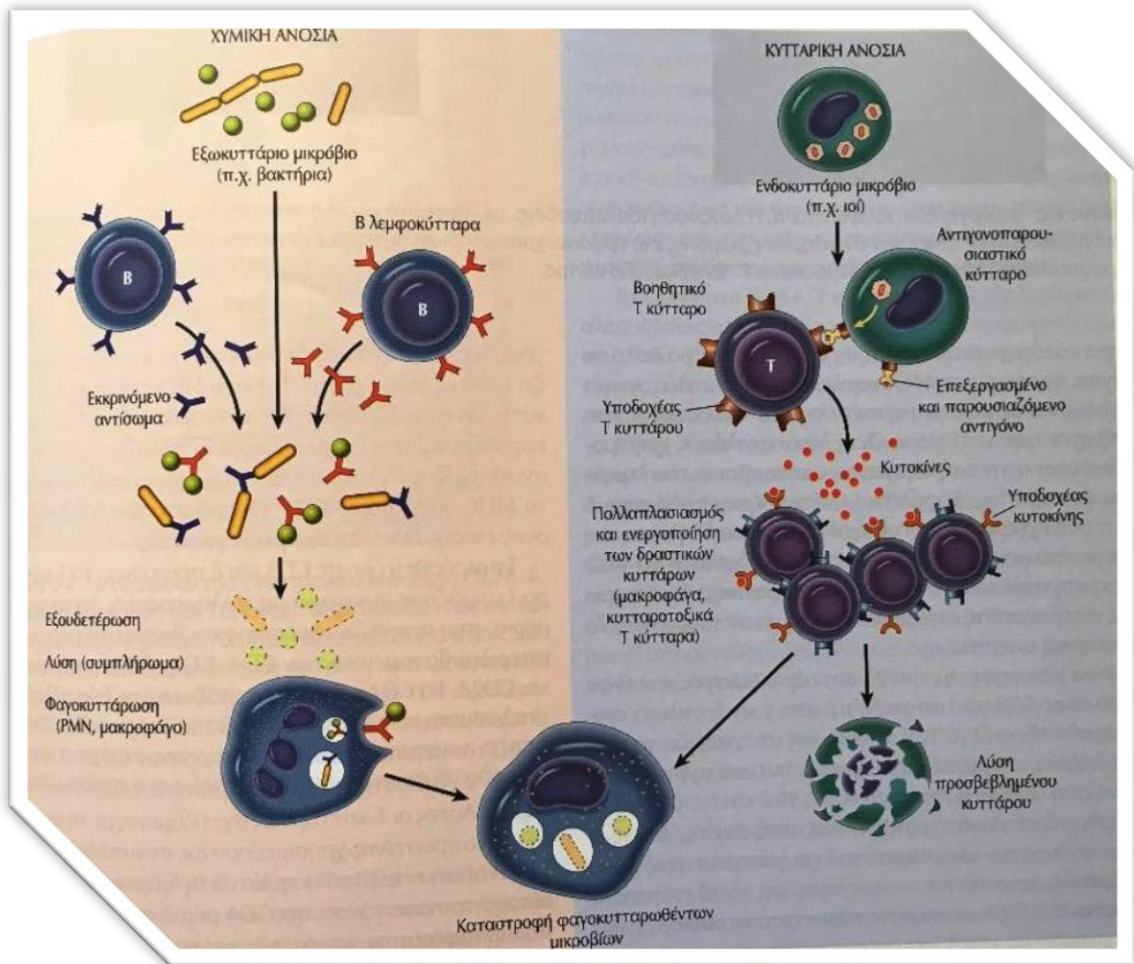
- Τόσο στη νόσο Crohn όσο και στην ελκώδη κολίτιδα αρχικά φαίνεται να ενοχοποιούνται τα T λεμφοκύτταρα και ειδικά τα CD4+ λεμφοκύτταρα και οι αλλοιώσεις που προκαλούνται από τα T λεμφοκύτταρα και τα προϊόντα τους. Παρόλο που αντισώματα κατά συγκεκριμένων αυτοαντιγόνων, όπως η τροπομυοσίνη έχουν ανιχνευθεί σε μερικούς ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα, δεν είναι ξεκάθαρο εάν αυτά τα αυτοαντισώματα έχουν κάποιο παθογενετικό ρόλο.
- Η νόσος Crohn φαίνεται να είναι αποτέλεσμα της χρόνιας καθυστερημένης αντίδρασης υπερευαισθησίας που προκαλείται από τα Th1 κύτταρα που παράγουν ιντερφερόνη-γ. Η φύση αυτής της φλεγμονώδους διήθησης, ειδικά με την παρουσία κοκκιωμάτων, είναι συμβατή με Th1 ανοσολογική απάντηση.
- Παρόλο που σε ζωικά πειραματικά μοντέλα υποστηρίζεται ότι η ελκώδης κολίτιδα προκαλείται από εκσεσημασμένη ενεργοποίηση των Th2 κυττάρων, στις αλλοιώσεις που παρατηρούνται στους ανθρώπους δεν έχει ανευρεθεί η χαρακτηριστική Th2 κυτταροκίνη που είναι η ιντερφερόνη 4. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι οι αλλοιώσεις αυτές προκαλούνται από άτυπη Th2 ανοσολογική απάντηση ή ότι δεν υπάρχει σταθερό πρότυπο ενεργοποίησης των T λεμφοκυττάρων ή επικρατής παραγωγή κυτταροκινών.

Γ. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Το ανοσολογικό σύστημα, αν και ζωτικής σημασίας, θα το παρομοίαζε κανείς με δίκικοπο μαχαίρι. Από τη μία πλευρά, οι καταστάσεις ανοσοανεπάρκειας κάνουν τον άνθρωπο εύκολο θύμα σε λοιμώξεις και πιθανά όγκους, ενώ από την άλλη ένα υπερδραστήριο ανοσολογικό σύστημα μπορεί να προκαλέσει θανατηφόρα νοσήματα, όπως στην περίπτωση μιας μείζονος αλλεργικής αντίδρασης. Επίσης, σε άλλη περίπτωση διαταραχής, το ανοσολογικό σύστημα μπορεί να χάσει τη φυσιολογική ικανότητά του να αναγνωρίσει το δικό του από το ξένο, με αποτέλεσμα ανοσολογικές αντιδράσεις εναντίον των κυττάρων και των ιστών του ιδίου του οργανισμού (αυτοανοσία).

1. Τύποι κυττάρων

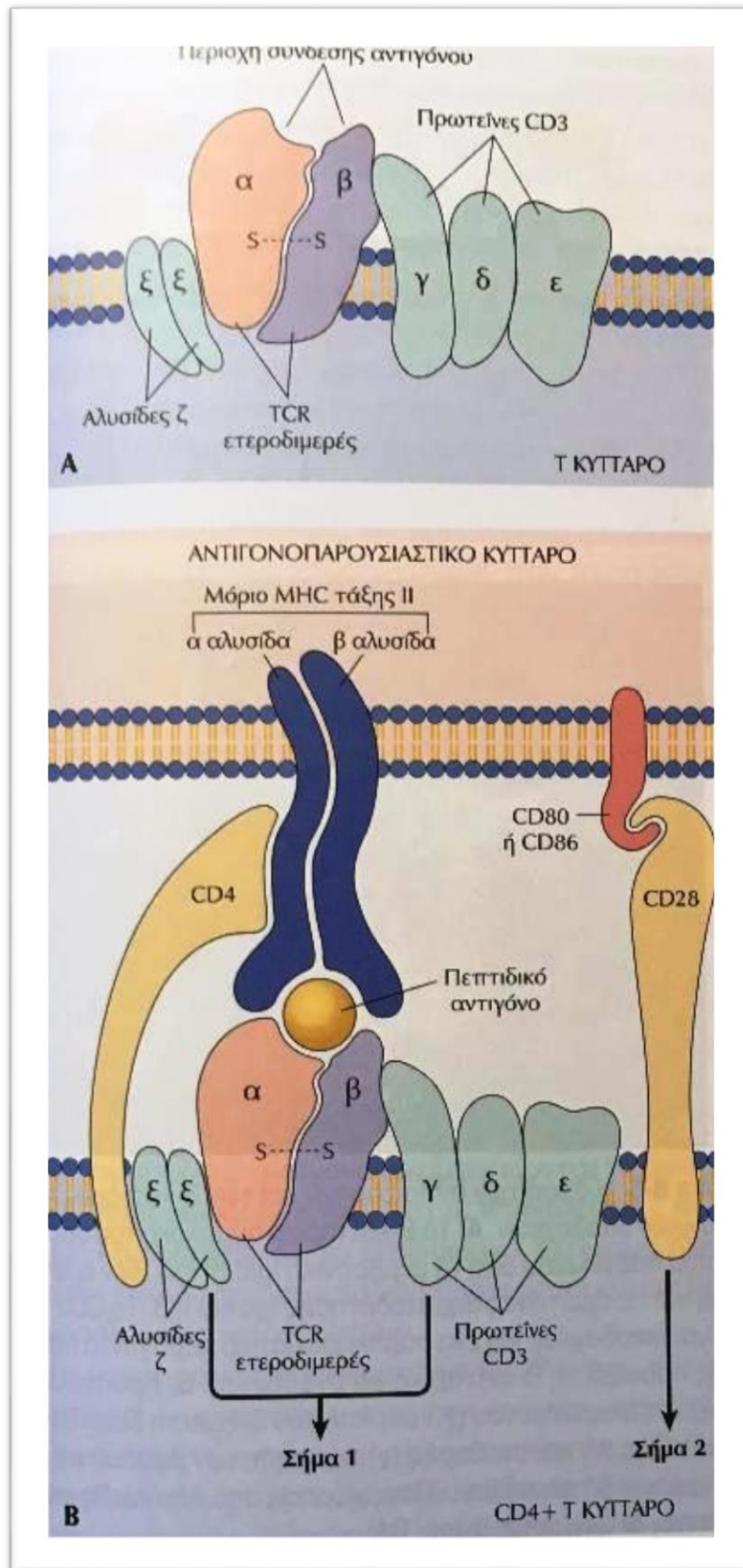
Υπάρχουν δυο κύριοι τύποι επίκτητης ανοσίας : η κυτταρική ανοσία, η οποία είναι υπεύθυνη για την άμυνα κατά των ενδοκυτταρικών μικροβίων και η χυμική ανοσία, η οποία προστατεύει από τα εξωκυττάρια μικρόβια και τις τοξίνες. Η κυτταρική ανοσία περιλαμβάνει τα Τ (προερχόμενα από το θύμο αδένα) λεμφοκύτταρα και η χυμική ανοσία περιλαμβάνει τη μεσολάβηση των Β (που προέρχονται από το μυελό των οστών) λεμφοκυττάρων και τα εκκρινόμενα προϊόντα τους, δηλαδή τα αντισώματα. Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί επίκτητης ανοσίας είναι ικανοί να προκαλέσουν βλάβη στον ξενιστή και επακόλουθη νόσο.



Εικόνα 9. Χυμική και κυτταρική ανοσία (4)

T λεμφοκύτταρα

Τα T λεμφοκύτταρα παράγονται από άωρες πρόδρομες μορφές στο θύμο αδέν. Ώριμα παρθένα T κύτταρα βρίσκονται στο αίμα όπου αποτελούν το 60% έως 70% των λεμφοκυττάρων και στις T-κυτταρικές περιφερικές ζώνες λεμφοειδών οργάνων, όπως οι παραφλοιώδεις ζώνες των λεμφαδένων και το περιαρτηριακό έλυτρο του σπλήνα. Ο διαχωρισμός των παρθένων T κυττάρων σε αυτές τις ανατομικές θέσεις γίνεται επειδή τα κύτταρα εκφράζουν υποδοχείς για χημειοτακτικές κυτοκίνες (chemokines) που παράγονται μόνο σε αυτές τις περιοχές των λεμφοειδών οργάνων. Κάθε T κύτταρο είναι γενετικά προγραμματισμένο να αναγνωρίζει ένα συγκεκριμένο αντιγόνο που δεσμεύεται σε έναν ειδικό T κυτταρικό υποδοχέα (TCR) (5). Σε περίπου 95% των T κυττάρων, οι TCR αποτελούνται από ένα δισουλφιδικό-δεσμευμένο ετεροδιμερές που αποτελείται από μια α και μια β πολυπεπτιδική αλυσίδα, η καθεμία εκ των οποίων διαθέτει μια μεταβλητή (αντιγονο-δεσμευτική) και μια σταθερή περιοχή. Το αβ TCR αναγνωρίζει τα πεπτιδικά αντιγόνα που παρουσιάζονται από μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων. (6)



Εικόνα 10. Το σύμπλοκο του T κυτταρικού υποδοχέα (TCR). Α. Σχηματική απεικόνιση των TCRα και TCRβ αλυσίδων που συνδέονται με το CD3 σύμπλοκο. Β. Αναγνώριση του MHC-σχετιζόμενου πεπτιδίου που εμφανίζεται σε ένα αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο (πάνω) από τον TCR. Οι TCR-σχετιζόμενες ζ αλυσίδες και το CD3 σύμπλοκο στέλνουν σήματα (σήμα 1) μετά την αντιγονική αναγνώριση και το CD28 στέλνει σήματα (σήμα 2) μετά την αναγνώριση των συνεπαγωγών (B7 μόρια). (4)

Τα Τ κύτταρα (σε αντίθεση με τα Β κύτταρα) δε μπορούν να ενεργοποιηθούν από διαλυτά αντιγόνα, ως εκ τούτου η παρουσίαση των συνδεόμενων με τη μεμβράνη αντιγόνων από αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα απαιτείται για την επαγωγή της κυτταρικής ανοσίας. Κάθε TCR είναι μη ομοιοπολικά συνδεδεμένο με μια ομάδα από πέντε πολυπεπτιδικές αλυσίδες, τρεις από τις οποίες αποτελούν το CD3 μοριακό σύμπλοκο και οι δύο είναι ένα διμερές της ζ αλυσίδας. (7) Το CD3 σύμπλοκο και οι ζ πρωτεΐνες είναι αμετάβλητα. Δε δεσμεύουν αντιγόνα αλλά συμμετέχουν στη μεταγωγή σημάτων στα Τ κύτταρα αφού ο TCR έχει δεσμεύσει το αντιγόνο. Οι Τ κυτταρικοί υποδοχείς είναι σε θέση να αναγνωρίζουν ένα πολύ μεγάλο αριθμό πεπτιδίων και κάθε Τ κύτταρο εκφράζει TCR μόρια συγκεκριμένης δομής και ειδικότητας. Η ποικιλομορφία των TCR δημιουργείται από τη σωματική αναδιάταξη των γονιδίων που κωδικοποιούν τις TCR αλυσίδες. Όπως θα περίμενε κανείς, κάθε σωματικό κύτταρο έχει TCR γονίδια από τη βλαστική σειρά. Αναδιατάξεις των γονιδίων αυτών σημειώνονται μόνο στα Τ κύτταρα κατά την ανάπτυξή τους στο θύμο και για αυτό το λόγο η παρουσία των TCR γονιδιακών αναδιατάξεων που αποδεικνύεται με μοριακή ανάλυση είναι ένας δείκτης των Τ προγονικών κυττάρων. Οι εν λόγω αναλύσεις χρησιμοποιούνται στην ταξινόμηση των κακοηθειών του λεμφικού συστήματος. Επιπλέον, επειδή κάθε Τ κύτταρο έχει μια μοναδική αναδιάταξη του DNA (και συνεπώς ένα μοναδικό TCR), έτσι είναι δυνατόν να γίνει διάκριση πολυκλωνικής (μη νεοπλασματικής) Τ κυτταρικής υπερπλασίας από μονοκλωνική (νεοπλασματική) Τ κυτταρική υπερπλασία.

Μια μειοψηφία ώριμων Τ κυττάρων εκφράζουν έναν άλλο τύπο TCR που αποτελείται από γ και δ πολυπεπτιδικές αλυσίδες. Ο γδ TCR υποδοχέας αναγνωρίζει πεπτίδια, λιπίδια και μικρά μόρια, χωρίς την απαίτηση για παρουσίαση από MHC πρωτεΐνες. Τα γδ Τ κύτταρα τείνουν να αθροίζονται στις επιθηλιακές επιφάνειες, όπως ο βλεννογόνος του αναπνευστικού και γαστρεντερικού συστήματος, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα κύτταρα αυτά είναι δείκτες που προστατεύουν από τα μικρόβια που επιχειρούν να εισέλθουν μέσω αυτών των επιθηλίων. Ωστόσο οι ακριβείς δράσεις των γδ Τ κυττάρων δεν είναι γνωστές.

Άλλο ένα μικρό υποσύνολο Τ κυττάρων εκφράζει δείκτες που βρίσκονται στα NK Τ κύτταρα. Τα NK Τ κύτταρα εκφράζουν μια πολύ περιορισμένη ποικιλία των TCR και αναγνωρίζουν γλυκολιπίδια που παρουσιάζονται από το MHC-δίκηνη μόριο CD1. Οι δράσεις των NK Τ κυττάρων επίσης δεν είναι επαρκώς γνωστές.

Επιπρόσθετα με τα CD3 και ζ πρωτεΐνες, τα Τ κύτταρα εκφράζουν μια σειρά μη πολυμορφικά, λειτουργικά μόρια, που ονομάζονται επίσης και βοηθητικά μόρια, συμπεριλαμβανομένων των CD4, CD8, CD2 ιντεγκρινών και CD28. Τα CD4 και CD8 εκφράζονται σε δυο αλληλοαποκλειόμενα σύνολα των αβ Τ κυττάρων. Το CD4 εκφράζεται περίπου στο 60% των ώριμων CD3+ Τ κυττάρων, ενώ το CD8 εκφράζεται περίπου στο 30% των Τ κυττάρων. Αυτές οι Τ κυτταρικές σχετιζόμενες με τη μεμβράνη γλυκοπρωτεΐνες χρησιμεύουν ως συνυποδοχείς στην Τ κυτταρική ενεργοποίηση. Κατά τη διάρκεια της παρουσίασης του αντιγόνου, τα CD4 μόρια συνδέονται με μη πολυμορφικές περιοχές της τάξης II των μορίων του MHC που εκφράζονται στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Σε αντίθεση, τα CD8 μόρια συνδέονται με τα μόρια του MHC τάξης I. Τα CD4 και CD8 απαιτούνται για την εκκίνηση των σημάτων που απαιτούνται για την ενεργοποίηση των Τ κυττάρων που αναγνωρίζουν τα αντιγόνα. Λόγω αυτής της απαίτησης για συνυποδοχείς, τα βοηθητικά CD4+ Τ κύτταρα μπορούν να αναγνωρίζουν και να ανταποκρίνονται στα

αντιγόνα μόνο στο πλαίσιο των μορίων της τάξης MHC II, ενώ τα CD8+ κυτταροτοξικά T κύτταρα αναγνωρίζουν κυτταρικά αντιγόνα μόνο σε συνδυασμό με τα μόρια της τάξης I του MHC.

Είναι πλέον γνωστό ότι τα T κύτταρα χρειάζονται δυο σήματα για την ενεργοποίησή τους. Το σήμα 1 παρέχεται όταν το TCR σχετίζεται με τα κατάλληλα MHC-συνδεδεμένα αντιγόνα και οι συνυποδοχείς CD4 και CD8 δεσμεύουν τα MHC μόρια. Το σήμα 2 παραδίδεται από την αλληλεπίδραση του CD28 μορίου στα T κύτταρα με τα συνεπαγωγικά μόρια B7-1 (CD80) και B7-2 (CD86) που εκφράζονται στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Η σημασία της συνεπαγωγής από αυτή την οδό αποδεικνύεται από το γεγονός ότι σε περίπτωση απουσίας του σήματος 2 τα T κύτταρα αδυνατούν να ανταποκριθούν, υφίστανται απόπτωση ή γίνονται ανενεργά. (8) (9) Όταν τα T κύτταρα ενεργοποιούνται από το αντιγόνο και τους συνεπαγωγείς, εκκρίνουν τοπικά πρωτεΐνες που ονομάζονται κυτοκίνες. Υπό την επίδραση μιας κυτοκίνης που ονομάζεται ιντερλευκίνη-2 (IL-2), τα T κύτταρα πολλαπλασιάζονται δημιουργώντας έτσι ένα μεγάλο αριθμό αντιγονοειδικών λεμφοκυττάρων. Ορισμένα από αυτά τα κύτταρα διαφοροποιούνται σε δραστικά κύτταρα και έχουν ως λειτουργία την εξάλειψη των αντιγόνων που άρχισαν την ανοσολογική απάντηση. Άλλα ενεργοποιημένα κύτταρα διαφοροποιούνται σε κύτταρα μνήμης που έχουν μακρά διάρκεια ζωής και μπορούν να ανταποκριθούν γρήγορα σε επαναλαμβανόμενες συναντήσεις με το αντιγόνο.

Τα CD4+ και CD8+ T κύτταρα εκτελούν ξεχωριστές αλλά κάπως αλληλοεπικαλυπτόμενες επαγωγικές δράσεις. (10) Τα CD4+ T κύτταρα μπορεί να θεωρηθούν ως ο κύριος ρυθμιστής –ο μαέστρος μιας συμφωνικής ορχήστρας. Με την έκκριση κυτοκινών τα CD4+ T κύτταρα επηρεάζουν τη λειτουργία σχεδόν όλων των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένων άλλων T κυττάρων, B κυττάρων, μακροφάγων και NK κυττάρων. Ο κεντρικός ρόλος των CD4+ T κυττάρων απεικονίζεται όταν ο ανθρώπινος ιός ανοσοανεπάρκειας καταστρέφει το ανοσοποιητικό σύστημα από επιλεκτική καταστροφή αυτού του T κυτταρικού υποσύνολου.

Τα τελευταία χρόνια, δυο λειτουργικά διακριτοί πληθυσμοί των CD4+ βοηθητικών κυττάρων έχουν αναγνωριστεί με βάση τις διάφορες κυτοκίνες που παράγουν. (11) Το T-βοηθητικό (Th1) υποσύνολο συνθέτει και εκκρίνει IL-2 και ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) αλλά όχι IL-4 και IL-5, ενώ τα Th2 κύτταρα παράγουν IL-4, IL-5 και IL-13, αλλά όχι IL-2 και IFN-γ. Η διάκριση αυτή είναι σημαντική διότι οι κυτοκίνες που εκκρίνονται από αυτά τα υποσύνολα έχουν διαφορετικές επιπτώσεις σε άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Το Th1 υποσύνολο συμμετέχει στη διευκόλυνση της επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας, στην ενεργοποίηση των μακροφάγων και στη σύνθεση αντισωμάτων που σχετίζονται με το συμπλήρωμα, όπως το αντίσωμα IgG2a σε ποντίκια. Όλες αυτές οι δράσεις είναι αποτέλεσμα των ενεργειών της IFN-γ. Το Th2 υποσύνολο ενισχύει τη σύνθεση άλλων αντισωμάτων, κυρίως IgE (μεσολάβηση IL-4 και IL-13) και την ενεργοποίηση των ηωσινοφίλων (μεσολάβηση IL-5).

Τα CD8+ T κύτταρα λειτουργούν κυρίως ως κυτταροτοξικά κύτταρα για να σκοτώσουν άλλα κύτταρα, αλλά όπως και τα CD4+ T κύτταρα μπορούν να εκκρίνουν κυτοκίνες, κυρίως του τύπου Th1.

Τα Β λεμφοκύτταρα αναπτύσσονται από τα άωρα πρόδρομα κύτταρα στο μυελό των οστών. Τα ώριμα Β κύτταρα αποτελούν το 10% με 20% του κυκλοφορούντος περιφερικού πληθυσμού λεμφοκυττάρων και είναι επίσης παρόντα στους περιφερικούς λεμφικούς ιστούς, όπως είναι οι λεμφαδένες, ο σπλήνας ή οι αμυγδαλές και τα εξωλεμφικά όργανα όπως ο γαστρεντερικός σωλήνας. Στους λεμφαδένες βρίσκονται στον επιφανειακό φλοιό. Στον σπλήνα βρίσκονται στο λευκό πολφό. Και στις δυο περιοχές αθροίζονται υπό μορφή λεμφοζιδίων, τα οποία κατά την ενεργοποίησή τους αναπτύσσουν βλαστικά κέντρα. Τα Β κύτταρα βρίσκονται στα λεμφοζίδια και στις ζώνες Β κυττάρων των λεμφικών οργάνων, επειδή τα κύτταρα εκφράζουν υποδοχείς για μια χημειοκίνη που παράγεται στα λεμφοζίδια. (12) (13)

Τα Β κύτταρα αναγνωρίζουν το αντιγόνο μέσω του Β κυτταρικού συμπλόκου αντιγονικού υποδοχέα. Η ανοσοσφαιρίνη Μ (IgM) και η IgD, που είναι παρούσες στην επιφάνεια όλων των παρθένων Β κυττάρων, αποτελούν το αντιγονοδεσμευτικό συστατικό του συμπλόκου του Β κυτταρικού υποδοχέα. Όπως με τα Τ κύτταρα, κάθε Β κυτταρικός υποδοχέας έχει μοναδική αντιγονική ειδικότητα, εν μέρει από τις σωματικές αναδιατάξεις των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών. Κατά συνέπεια, η παρουσία αναδιατάξεων των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών σε ένα λεμφικό κύτταρο χρησιμοποιείται ως μοριακός δείκτης των πρόδρομων Β κυττάρων.

Μετά από την αντιγονική επαγωγή, τα Β κύτταρα σχηματίζουν πλασματοκύτταρα που εκκρίνουν τις ανοσοσφαιρίνες οι οποίες είναι οι μεσολαβητές της χυμικής ανοσίας. Εκτός από μεμβρανική ανοσοσφαιρίνη, ο Β κυτταρικός υποδοχέας αντιγόνου περιέχει ένα περίπλοκο ετεροδιμερές των μη πολυμορφικών διαμεμβρανικών πρωτεϊνών Igα και Igβ. Παρόμοια με τις CD3 πρωτεΐνες του TCR, οι Igα και Igβ δε δεσμεύουν το αντιγόνο αλλά είναι απαραίτητες για τη μεταγωγή του σήματος μέσω των αντιγονικών υποδοχέων. Τα Β κύτταρα εκφράζουν επίσης διάφορα άλλα μη πολυμορφικά μόρια που είναι απαραίτητα για τη λειτουργία των Β κυττάρων. Αυτά περιλαμβάνουν υποδοχείς συμπληρώματος, Fc υποδοχείς και τα CD40. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο υποδοχέας 2 του συμπληρώματος (CD21) είναι και υποδοχέας του ιού Epstein-Barr (EBV) και κατά συνέπεια εύκολα ο EBV μολύνει τα Β κύτταρα.

Τα Β λεμφοκύτταρα μπορούν να ενεργοποιηθούν από πρωτεϊνικά και μη πρωτεϊνικά αντιγόνα. Το τελικό αποτέλεσμα της ενεργοποίησης των Β κυττάρων είναι η διαφοροποίησή τους σε κύτταρα που εκκρίνουν αντισώματα, αποκαλούμενα πλασματοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά βρίσκονται στα λεμφικά όργανα και στους βλεννογονικούς ιστούς, ενώ μερικά μπορούν να μεταναστεύσουν στο μυελό των οστών και να ζήσουν για πολλά έτη εκεί. Τα αντισώματα εισβάλλουν στις βλεννογονικές εκκρίσεις και το αίμα και είναι σε θέση να εντοπίσουν, να εξουδετερώσουν και να αποβάλουν τα αντιγόνα. Οι απαντήσεις των Β κυττάρων στα πρωτεϊνικά αντιγόνα απαιτούν τη βοήθεια των CD4+ κυττάρων. (14) Τα βοηθητικά Τ κύτταρα ενεργοποιούν τα Β κύτταρα με τη δέσμευση του CD40, ενός μέλους της οικογένειας των υποδοχέων του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF), και με την έκκριση των κυτοκινών. Τα ενεργοποιημένα Τ βοηθητικά κύτταρα εκφράζουν τον CD40 ligand, ο οποίος δεσμεύει συγκεκριμένα CD40 που εκφράζονται στα Β κύτταρα. (15) Αυτή η αλληλεπίδραση είναι ουσιαστική για την ωρίμανση των Β κυττάρων και την έκκριση των αντισωμάτων IgG, IgA και IgE. Οι ασθενείς

με μεταλλαγές στο CD40 ligand έχουν μια ασθένεια ανοσοανεπάρκειας που λέγεται φυλοσύνδετο σύνδρομο υπεργαμμασφαιριναιμίας. Διαφορετικές κυτοκίνες επάγουν τα B κύτταρα για να παράγουν διαφορετικές κατηγορίες αντισωμάτων, τα οποία εκτελούν διακριτές λειτουργίες.

Μακροφάγα

Τα μακροφάγα είναι ένα μέρος του μονοπύρηνου συστήματος φαγοκυττάρων. Διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο και στην επαγωγή και στη φάση εκτέλεσης των ανοσοαπαντήσεων.

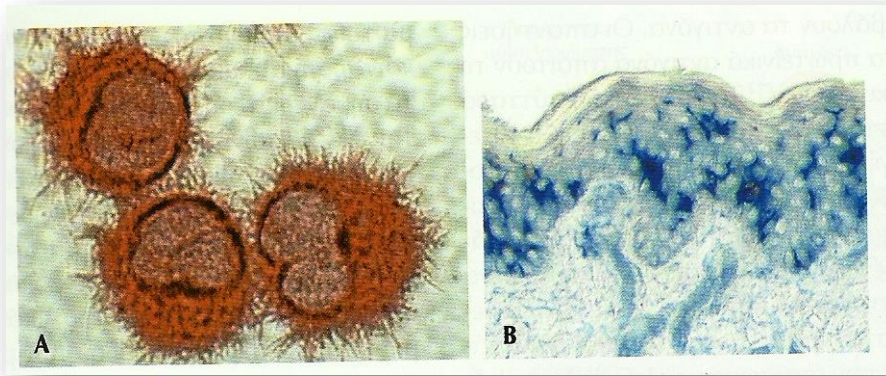
- Τα μακροφάγα που έχουν φαγοκυτταρώσει μικρόβια και πρωτεϊνικά αντιγόνα επεξεργάζονται τα αντιγόνα και παρουσιάζουν κλάσματα πεπτιδίων στα T κύτταρα. Κατά συνέπεια, τα μακροφάγα περιλαμβάνονται στην επαγωγή των μεταδιδόμενων μέσω κυττάρων ανοσολογικών απαντήσεων.
- Τα μακροφάγα είναι σημαντικά εκτελεστικά κύτταρα σε ορισμένες μορφές κυτταρικής ανοσίας, όπως η επιβραδυνόμενη αντίδραση υπερευαισθησίας. Ενεργοποιούνται από κυτοκίνες, ειδικότερα την IFN- γ που παράγεται από τα Th1 κύτταρα, υποσύνολο των CD4+ κυττάρων. Αυτή η ενεργοποίηση βελτιώνει τις μικροβιακές ιδιότητες των μακροφάγων και αυξάνει τη δυνατότητά τους να εξοντώσουν τα κύτταρα του όγκου.
- Τα μακροφάγα είναι επίσης σημαντικά στην εκτελεστική φάση της χυμικής ανοσίας. Ειδικότερα, φαγοκυτταρώνουν μικρόβια που είναι «καλυμμένα» από IgG ή C3b.

Δενδριτικά κύτταρα

Υπάρχουν δύο τύποι κυττάρων με δενδριτική μορφολογία που είναι λειτουργικά αρκετά διαφορετικοί. Και οι δύο έχουν πολυάριθμες λεπτές δενδριτικές κυτταροπλασματικές προεκβολές από τις οποίες παίρνουν το όνομά τους.

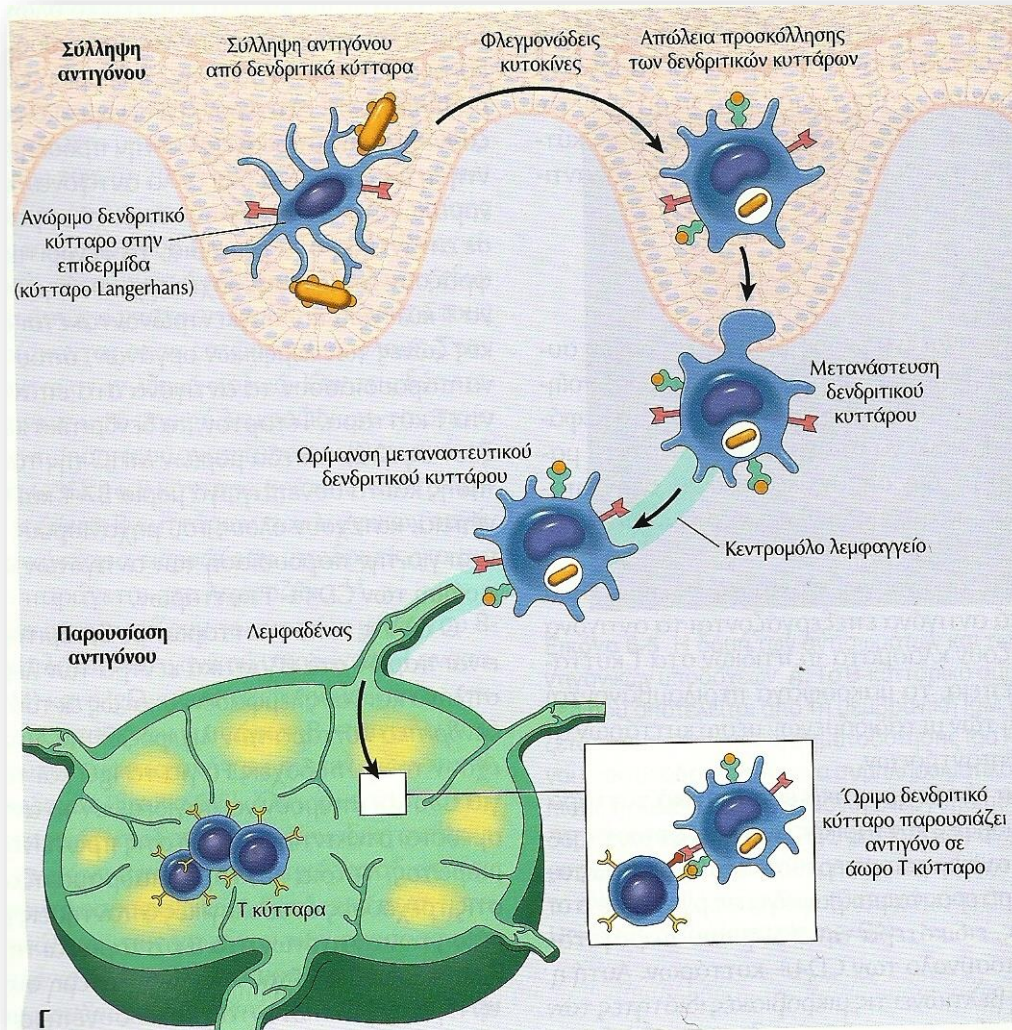
Ένας τύπος καλείται διαπλεκόμενα δενδριτικά κύτταρα ή απλώς δενδριτικά. (16) (17) Αυτά τα κύτταρα είναι τα σημαντικότερα αντιγονοπαραρσιαστικά κύτταρα για την έναρξη των πρώιμων ανοσολογικών απαντήσεων ενάντια στα πρωτεϊνικά αντιγόνα. Αρκετά χαρακτηριστικά γνωρίσματα των δενδριτικών κυττάρων κατέχουν βασικό ρόλο στην παρουσίαση αντιγόνων.

Κατ' αρχάς, αυτά τα κύτταρα βρίσκονται στη σωστή θέση για τη δέσμευση αντιγόνου, δηλαδή κάτω από τα επιθήλια, μια συνήθη περιοχή εισόδου των μικροβίων και των ξένων αντιγόνων και στο εσωτερικό όλων των ιστών όπου τα αντιγόνα μπορούν να παραχθούν. Τα άωρα δενδριτικά κύτταρα μέσα στην επιδερμίδα καλούνται κύτταρα Langerhans.



Εικόνα 11. Α. Η μορφολογία των δενδριτικών κυττάρων. Β. Η θέση των δενδριτικών κυττάρων (κύτταρα Langerhans) στην επιδερμίδα (19)

Δεύτερον, τα δενδριτικά κύτταρα εκφράζουν πολλούς υποδοχείς για την πρόσληψη και την απάντηση στα μικρόβια και άλλα αντιγόνα, συμπεριλαμβανομένων των TLR και των υποδοχέων μαννόζης. Τρίτον, σε απάντηση στα μικρόβια τα δενδριτικά κύτταρα εκφράζουν τον ίδιο υποδοχέα χημειοκίνης όπως τα παρθένα T κύτταρα και συγκεντρώνονται έτσι στις T κυτταρικές ζώνες των λεμφικών οργάνων, όπου παρουσιάζουν τα αντιγόνα στα επανακυκλοφορούντα T κύτταρα. Τέταρτον, τα δενδριτικά κύτταρα εκφράζουν υψηλά επίπεδα μορίων MHC της τάξης II καθώς επίσης και τα συνεπαγωγά μόρια B7-1 και B7-2. Κατά συνέπεια, κατέχουν όλους τους μηχανισμούς που απαιτούνται για την παρουσίαση των αντιγόνων και την ενεργοποίηση των CD4+ T κυττάρων.



Εικόνα 12. Ο ρόλος των δενδριτικών κυττάρων στη σύλληψη των μικροβιακών αντιγόνων από τα επιθήλια και στη μεταφορά τους στους περιφερικούς λεμφαδένες. (4)

Ο άλλος τύπος κυττάρων με δενδριτική μορφολογία είναι παρών στα βλαστικά κέντρα των λεμφοζιδίων στο σπλήνα και τους λεμφαδένες και ως εκ τούτου τα κύτταρα αυτά καλούνται δενδριτικά κύτταρα των λεμφοζιδίων. Αυτά τα κύτταρα έχουν τους υποδοχείς Fc για τα IgG και τους υποδοχείς για C3b και μπορούν να παγιδεύσουν το αντιγόνο που δεσμεύεται στα αντισώματα ή στις πρωτεΐνες του συμπληρώματος. Τέτοια κύτταρα διαδραματίζουν ένα ρόλο στις τρέχουσες ανοσολογικές απαντήσεις με την παρουσίαση των αντιγόνων στα B κύτταρα και την επιλογή των B κυττάρων που έχουν την υψηλότερη συγγένεια για το αντιγόνο, βελτιώνοντας την ποιότητα της χυμικής ανοσολογικής απάντησης. Τα δενδριτικά κύτταρα των λεμφοζιδίων διαδραματίζουν επίσης ένα ρόλο στην παθογένεση του επίκτητου συνδρόμου ανοσοανεπάρκειας (AIDS).

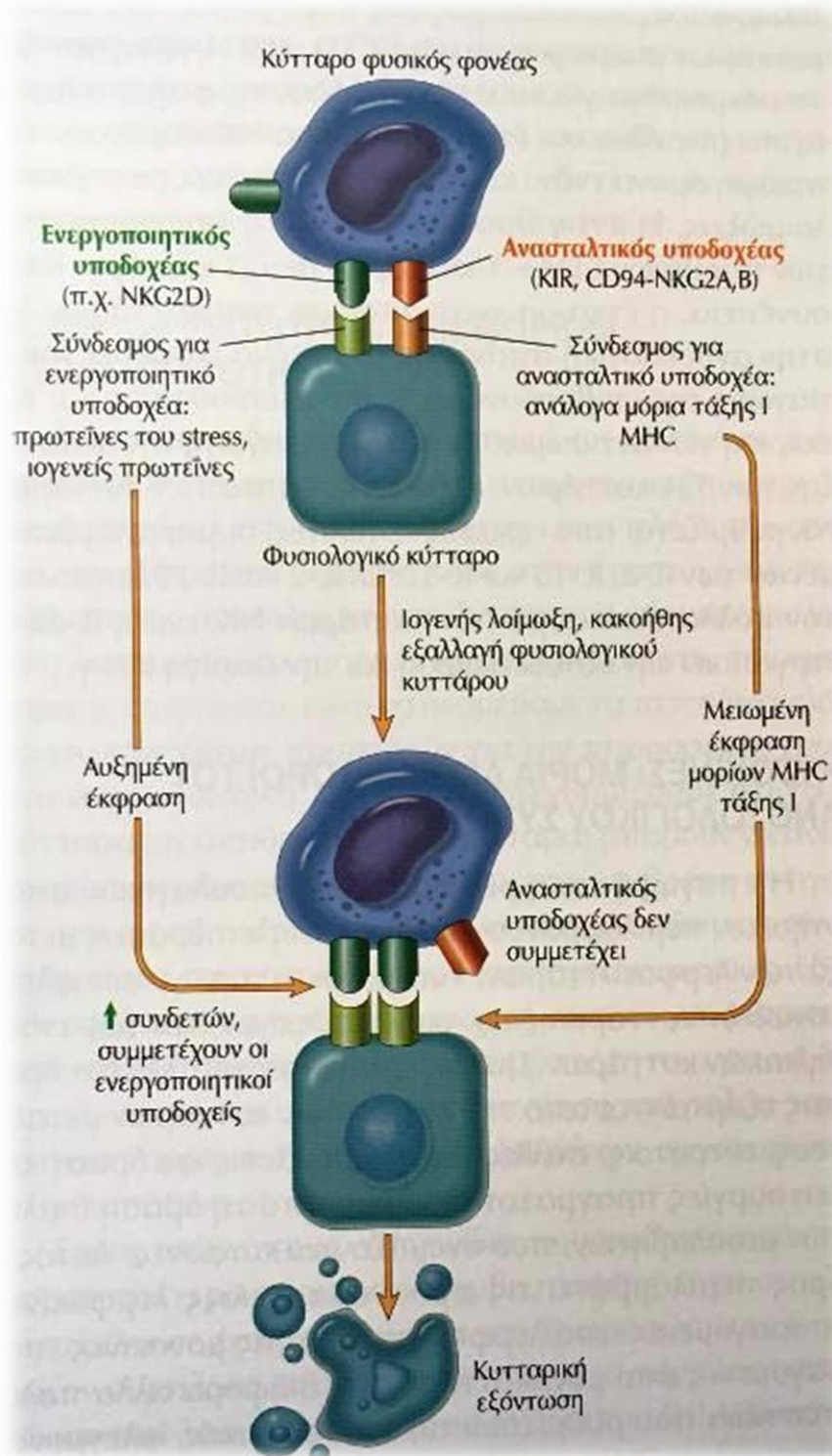
Κύτταρα Φυσικοί Φονείς (NK – Natural killer cells)

Τα NK κύτταρα αποτελούν περίπου το 10% με 15% των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος και δε φέρουν T κυτταρικούς υποδοχείς ή κυτταρικές ανοσοσφαιρίνες επιφάνειας. Μορφολογικά τα κύτταρα NK είναι κάπως μεγαλύτερα από τα μικρά λεμφοκύτταρα και περιέχουν άφθονα αζουρόφιλα κοκκία, ως εκ τούτου καλούνται επίσης μεγάλα κοκκιώδη λεμφοκύτταρα. Τα NK κύτταρα διαθέτουν μια εγγενή δυνατότητα να εξουδετερώνουν ποικίλα νεοπλασματικά κύτταρα, μολυσμένα κύτταρα από ιούς και μερικά φυσιολογικά κύτταρα χωρίς προηγούμενη ευαισθητοποίηση. (18) Αυτά τα κύτταρα είναι μέρος του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος και μπορούν να είναι η πρώτη αμυντική γραμμή εναντίον των ιογενών λοιμώξεων και ίσως μερικών όγκων. Τα NK κύτταρα δεν επαναδιατάσσουν τα γονίδια των T κυτταρικών υποδοχέων και είναι CD3 αρνητικά. Δυο μόρια κυτταρικής επιφάνειας, τα CD16 και CD56, χρησιμοποιούνται ευρέως για τον προσδιορισμό των NK κυττάρων. Ο CD16 είναι ο Fc υποδοχέας για την IgG και προσδίδει στα κύτταρα NK μια άλλη λειτουργία, τη δυνατότητα λύσης των IgG-επενδυμένων κυττάρων στόχων. Αυτό το φαινόμενο είναι γνωστό ως αντισωματοεξαρτώμενη κυτταροτοξικότητα.

Η λειτουργική δραστηριότητα των NK κυττάρων ρυθμίζεται από μια ισορροπία μεταξύ των σημάτων από τους υποδοχείς ενεργοποίησης και αναστολής. Οι υποδοχείς ενεργοποίησης υποκινούν την εξουδετέρωση των κυττάρων από τα NK με την αναγνώριση των παθολογικών μορίων στα κύτταρα στόχους, μερικά από τα οποία μπορεί να προέρχονται από ιικά προϊόντα.

Οι ανασταλτικοί υποδοχείς εμποδίζουν την ενεργοποίηση των NK κυττάρων μέσω της αναγνώρισης μορίων MHC της τάξης I. Οι ανασταλτικοί υποδοχείς που αναγνωρίζουν μόρια MHC τάξης I στα NK κύτταρα καλούνται φονικοί ανασταλτικοί υποδοχείς. Είναι βιοχημικά ευδιάκριτοι από τους T κυτταρικούς υποδοχείς. Θεωρείται ότι τα NK κύτταρα δεν εξουδετερώνουν τα φυσιολογικά κύτταρα επειδή όλα τα εμπύρνηνα φυσιολογικά κύτταρα εκφράζουν μόρια MHC τάξης I. (16) Εάν η ιογενής μόλυνση ή ο νεοπλασματικός μετασχηματισμός διαταράξει ή μειώσει την έκφραση των μορίων MHC της τάξης I, τα ανασταλτικά σήματα που φτάνουν στα NK κύτταρα διακόπτονται και αρχίζει η λύση.

Εντούτοις, μόνο η απουσία αναστολής δεν είναι αρκετή για την NK κυτταρική εξουδετέρωση και απαιτείται η πυροδότηση των υποδοχέων ενεργοποίησης από κοινού με την απελευθέρωση των ανασταλτικών υποδοχέων. Διάφοροι τύποι υποδοχέων ενεργοποίησης έχουν ανακαλυφθεί, συμπεριλαμβανομένων των μελών της οικογένειας NKG2D και μερικών δίκλων Ig υποδοχέων. Οι υποδοχείς NKG2D αναγνωρίζουν τις προκαλούμενες από stress πρωτεΐνες που εκφράζονται φυσιολογικά από μερικά μόνο κύτταρα στο επιθήλιο του εντέρου αλλά η έκφραση των οποίων αυξάνεται σε πολλά κύτταρα μετά από ιογενή μόλυνση ή νεοπλασματική εξαλλαγή. Άλλοι υποδοχείς ενεργοποίησης αναγνωρίζουν τις ικές πρωτεΐνες που είναι δομικά παρόμοιες με τα μόρια MHC τάξης I. Κατά συνέπεια, τα NK κύτταρα ενεργοποιούνται από την επαφή με τα ιογενώς μολυσμένα κύτταρα και τα νεοπλασματικά κύτταρα, που συχνά παρουσιάζουν σαφώς μειωμένα επίπεδα μορίων MHC τάξης I και επομένως δε δεσμεύουν τους ανασταλτικούς υποδοχείς.



Εικόνα 13. Σχηματική απεικόνιση NK-κυτταρικών υποδοχέων. Τα NK κύτταρα εκφράζουν τους υποδοχείς κυτταρικής ενεργοποίησης. Τα φυσιολογικά κύτταρα δε «σκοτώνονται» επειδή τα ανασταλτικά σήματα από τα φυσιολογικά μόρια MHC τάξης I αγνοούν τα σήματα ενεργοποίησης. Στα νεοπλασματικά κύτταρα ή τα μολυσμένα από ιούς υπάρχει αυξημένη έκφραση των συνδετών για υποδοχείς ενεργοποίησης και μειωμένη έκφραση των μορίων MHC που διακόπτουν τα ανασταλτικά σήματα επιτρέποντας την ενεργοποίηση των κυττάρων NK. (4)

Τα NK κύτταρα εκκρίνουν επίσης κυτοκίνες, όπως η IFN- γ , ο TNF και ο επαγωγικός παράγοντας των κοκκιοκυττάρων μακροφάγων (GM-CSF). Η IFN- γ ενεργοποιεί τα μακροφάγα για να καταστρέψουν τα φαγοκυτταρωθέντα μικρόβια και έτσι τα NK κύτταρα παρέχουν την πρώτη άμυνα ενάντια στις ενδοκυτταρικές μικροβιακές

λοιμώξεις. Η IFN- γ προωθεί επίσης τη διαφοροποίηση των παρθένων CD4+ T κυττάρων σε Th1 κύτταρα. Κατά συνέπεια, η έγκαιρη ενεργοποίηση των NK κυττάρων στην ανοσολογική απάντηση μπορεί να ευνοήσει την επαγωγή της επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας και την έκκριση των αντισωμάτων με την προαγωγή της ανάπτυξης των Th1 κυττάρων. Η δραστηριότητα των NK κυττάρων ρυθμίζεται από αρκετές κυτοκίνες, συμπεριλαμβανομένων των IL-2, IL-15 και IL-12. Οι IL-2 και IL-15 υποκινούν τον πολλαπλασιασμό των NK κυττάρων, ενώ η IL-12 ενεργοποιεί την εξουδετέρωση και την έκκριση IFN- γ .

2. Ανοσολογική ανοχή

Η ανοσολογική ανοχή είναι μια κατάσταση στην οποία το άτομο δεν είναι ικανό να αναπτύξει ανοσολογική απάντηση σε ένα συγκεκριμένο αντιγόνο. Η αυτοανοχή αναφέρεται στην έλλειψη ανταπόκρισης στα αντιγόνα ενός ατόμου και υπονοεί τη δυνατότητά μας να ζήσουμε σε αρμονία με τα κύτταρα και τους ιστούς μας. Διάφοροι μηχανισμοί έχουν αναφερθεί για να εξηγήσουν την κατάσταση ανοχής. Μπορούν να ταξινομηθούν ευρέως σε δυο ομάδες: η κεντρική ανοχή και η περιφερική ανοχή. (19) (20) (21) (22)

Κεντρική ανοχή

Αναφέρεται στο θάνατο (αναστολή) των αυτοδραστικών T και B λεμφοκυτταρικών κλώνων κατά τη διάρκεια ωρίμανσής τους στα κεντρικά λεμφικά όργανα, που είναι ο θύμος αδένας για τα T κύτταρα και ο μυελός των οστών για τα B. Η αναστολή της ανάπτυξης των ενδοθυμικών T κυττάρων έχει ερευνηθεί εκτενώς. Τα πειράματα με τα διαγενετικά ποντίκια παρέχουν άφθονα στοιχεία ότι τα T λεμφοκύτταρα που φέρουν υποδοχείς για τα αυτοαντιγόνα υποβάλλονται σε απόπτωση μέσα στο θύμο αδένά κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της T κυτταρικής ωρίμανσης. Προτείνεται ότι πολλά αυτόλογα πρωτεϊνικά αντιγόνα, συμπεριλαμβανομένων των αντιγόνων που περιορίζονται πιθανά στους περιφερικούς ιστούς, υποβάλλονται σε επεξεργασία και παρουσιάζονται από θυμικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα σε συνδυασμό με αυτό-MHC μόρια. (19)

Η αποκαλούμενη πρωτεΐνη AIRE (αυτοάνοσος ρυθμιστής) θεωρείται ότι υποκινεί την έκφραση πολλών «περιφερικών» αυτοαντιγόνων στο θύμο αδένά και είναι έτσι κρίσιμη για την αναστολή των ανώριμων αυτοαντιδραστικών T κυττάρων. (20) Μεταλλάξεις στο γονίδιο AIRE (είτε αυθόρμητες στους ανθρώπους είτε προκαλούμενες στα knockout ποντίκια) είναι η αιτία μιας αυτοάνοσης πολυενδοκρινοπάθειας. Τα αναπτυσσόμενα T κύτταρα που εκφράζουν υποδοχείς υψηλής συγγένειας για τέτοια αυτοαντιγόνα επιλέγονται αρνητικά ή αναστέλλονται και επομένως η περιφερική T κυτταρική δεξαμενή παρουσιάζει έλλειψη ή ανεπάρκεια στα αυτοδραστικά κύτταρα. Αυτό που προκαλεί την απόπτωση στους αυτοδραστικούς T κυτταρικούς κλώνους δεν είναι εξ ολοκλήρου σαφές. Μερικά άωρα T κύτταρα που αντιμετωπίζουν τα αυτοαντιγόνα στο θύμο αδένά εξελίσσονται σε ρυθμιστικά T κύτταρα.

Όπως με τα T κύτταρα, η κλωνική διαγραφή είναι επίσης ενεργός στα B κύτταρα. Κατά την ανάπτυξή τους τα B κύτταρα αντιμετωπίζουν ένα μεμβρανικά συνδεδεμένο αντιγόνο

μέσα στο μυελό των οστών και υποβάλλονται σε απόπτωση. Η κλωνική διαγραφή των αυτοδραστικών λεμφοκυττάρων, εντούτοις, είναι κάθε άλλο παρά ιδανική. Πολλά αυτοαντιγόνα μπορούν να μην είναι παρόντα στο θύμο αδένα και ως εκ τούτου τα T κύτταρα που φέρουν τους υποδοχείς για τέτοια αυτοαντιγόνα δραπετεύουν στην περιφέρεια. Παρόμοια διαφυγή υπάρχει και στα B κύτταρα. Τα B κύτταρα που φέρουν υποδοχείς για ποικίλα αυτοαντιγόνα, συμπεριλαμβανομένων της θυρεοσφαιρίνης, του κολλαγόνου και του DNA, μπορούν να βρεθούν στο περιφερικό αίμα υγιών ατόμων.

Περιφερική ανοχή

Τα αυτοαντιδραστικά T κύτταρα που δραπετεύουν από την ενδοθυμική αρνητική επιλογή μπορούν να προκαλέσουν ιστική βλάβη, εκτός αν ανασταλούν στους περιφερικούς ιστούς. Διάφοροι «συνοδευτικοί» μηχανισμοί που καταστέλλουν τέτοια αυτοδραστικά T κύτταρα είναι γνωστοί. (22) (21) Περιλαμβάνουν τα εξής:

1. Αδρανοποίηση.

Αναφέρεται στην παρατεταμένη ή αμετάκλητη λειτουργική αδρανοποίηση των λεμφοκυττάρων που προκαλείται από τη σύζευξη με τα αντιγόνα κάτω από ορισμένες συνθήκες. (23) Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η ενεργοποίηση των αντιγονο-ειδικών T κυττάρων απαιτεί δυο σήματα: αναγνώριση του αντιγονικού πεπτιδίου σε συνδυασμό με τα αυτό-MHC μόρια στην επιφάνεια του αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου και ενός συνόλου συνεπαγωγών σημάτων («δεύτερα σήματα») που παρέχονται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Για να αρχίσουν τα δεύτερα σήματα ορισμένα μόρια σχετιζόμενα με τα T κύτταρα, όπως το CD28, πρέπει να δεσμευτούν στους υποδοχείς τους (τα συνεπαγωγά B7-1 και B7-2) στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Αν το αντιγόνο παρουσιάζεται από κύτταρα που δεν έχουν συνεπαγωγά, ένα αρνητικό σήμα παραδίδεται και το κύτταρο γίνεται ανενεργό. Μόλις τα λεμφοκύτταρα γίνουν ανενεργά, δε μπορούν να ενεργοποιηθούν ακόμα κι αν το σχετικό αντιγόνο παρουσιάζεται από τα ικανά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (π.χ. δενδριτικά κύτταρα) που μπορούν να παραδώσουν τα συνεπαγωγά μόρια. Επειδή τα συνεπαγωγά μόρια δεν εκφράζονται ή εκφράζονται αδύναμα στους περισσότερους κανονικούς ιστούς, η συνάντηση των αυτοδραστικών T κυττάρων και των συγκεκριμένων αυτοαντιγόνων τους μπορεί να οδηγήσει σε απενεργοποίηση.

Σε μερικές καταστάσεις, τα T κύτταρα που αναγνωρίζουν τα αυτοαντιγόνα λαμβάνουν ένα ανασταλτικό σήμα από έναν υποδοχέα αποκαλούμενο CTLA-4 που δεσμεύει επίσης τα B7 μόρια. Τα ποντίκια στα οποία το γονίδιο για το CTLA-4 είναι απενεργοποιημένο αναπτύσσουν λεμφοϋπερπλασία και θανατηφόρα πολυσυστηματική αυτοάνοση νόσο με T λεμφοκυτταρικές διηθήσεις στους ιστούς. Οι πολυμορφισμοί στο γονίδιο CTLA-4 συνδέονται με μερικές αυτοάνοσες ενδοκρινείς ασθένειες στους ανθρώπους. Πώς τα T κύτταρα επιλέγουν να χρησιμοποιήσουν το CD28 για να αναγνωρίσουν τα B7 μόρια και να ενεργοποιηθούν ή τα CTLA-4 για να αναγνωρίσουν τα ίδια B7 μόρια και να γίνουν ανενεργή είναι μια ερώτηση στην οποία δεν υπάρχει σαφής απάντηση.

Η αδρανοποίηση έχει επιπτώσεις στα Β κύτταρα των ιστών επίσης. Θεωρείται ότι αν τα Β κύτταρα αντιμετωπίσουν το αντιγόνο εν τη απουσία των συγκεκριμένων Τ βοηθητικών κυττάρων, τα Β κύτταρα γίνονται ανίκανα να αποκριθούν στην επόμενη αντιγονική υποκίνηση και μπορεί να αποκλειστούν από τα λεμφοζίδια.

2. Καταστολή από τα Τ ρυθμιστικά κύτταρα.

Πρόσφατα στοιχεία από πειράματα σε ποντίκια ανέδειξαν το ρόλο ενός πληθυσμού κυττάρων που αποκαλούνται Τ ρυθμιστικά κύτταρα στην παρεμπόδιση των ανοσολογικών αντιδράσεων ενάντια στα αυτοαντιγόνα. (24) Τα Τ ρυθμιστικά κύτταρα μπορούν να αναπτυχθούν στο θύμο αδένω ως αποτέλεσμα της αναγνώρισης των αυτοαντιγόνων ή μπορεί η παραγωγή τους να προκληθεί στην περιφέρεια. Τα καλύτερα καθορισμένα Τ ρυθμιστικά κύτταρα είναι τα CD4+ κύτταρα που εκφράζουν το CD25, την αλυσίδα α του υποδοχέα IL-2, αλλά μερικά CD4+ κύτταρα που στερούνται του CD25 μπορεί να εξυπηρετήσουν την ίδια λειτουργία. Οι μηχανισμοί με τους οποίους αυτά τα ρυθμιστικά κύτταρα καταστέλλουν τις ανοσολογικές απαντήσεις είναι αρκετά αλλά όχι πλήρως καθορισμένοι.

Υπάρχουν στοιχεία ότι η περιφερική καταστολή της αυτοδραστικότητας μπορεί να πραγματοποιηθεί εν μέρει από την έκκριση κυτοκινών, όπως η IL-10 και ο TGF- β , οι οποίες εμποδίζουν την ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων και τη λειτουργικότητα των δραστικών παραγόντων. Ένας παράγοντας μεταγραφής της οικογένειας forkhead αποκαλούμενος Foxp3, στον οποίο θα αναφερθούμε εκτενέστερα σε επόμενη ενότητα, απαιτείται για την ανάπτυξη και τη λειτουργία των CD4+CD25+ Τ ρυθμιστικών κυττάρων. (25) Μεταλλάξεις στο Foxp3 οδηγούν σε σοβαρή αυτοανοσία στους ανθρώπους και τα ποντίκια. Στους ανθρώπους αυτές οι μεταλλάξεις είναι η αιτία μιας αυτοάνοσης ασθένειας που αποκαλείται φυλοσύνδετη ανοσολογική διαταραχή (πολυενδοκρinoπάθεια, εντεροπάθεια).

3. Κλωνική διαγραφή από την πρόκληση κυτταρικού θανάτου.

Τα CD4+ Τ κύτταρα που αναγνωρίζουν τα αυτοαντιγόνα μπορούν να λάβουν τα σήματα που προωθούν το θάνατό τους μέσω απόπτωσης. Αυτή η διαδικασία λέγεται πρόκληση κυτταρικού θανάτου. Ένας μηχανισμός της πρόκλησης κυτταρικού θανάτου των CD4+ Τ κυττάρων περιλαμβάνει το σύστημα των Fas-FasL συνδέτη. (26) (27) Τα λεμφοκύτταρα καθώς επίσης και πολλά άλλα κύτταρα εκφράζουν το Fas (CD95), ένα μέλος της οικογένειας των TNF-υποδοχέων. Ο FasL, μια μεμβρανική πρωτεΐνη που είναι δομικά ομόλογη με την κυτοκίνη TNF, εκφράζεται κυρίως στα ενεργοποιημένα Τ λεμφοκύτταρα. Η δέσμευση του Fas από τον FasL προκαλεί απόπτωση των ενεργοποιημένων Τ κυττάρων και μπορεί να υποκρύπτει την περιφερική διαγραφή των αυτοδραστικών Τ κυττάρων.

Θεωρείται ότι εκείνα τα αυτοαντιγόνα που είναι άφθονα στους περιφερικούς ιστούς προκαλούν την επαναλαμβανόμενη και επίμονη υποκίνηση των

αυτοαντιγονοειδικών κυττάρων T, που οδηγούν τελικά στην αποβολή τους μέσω της Fas-μεσολαβούμενης απόπτωσης.

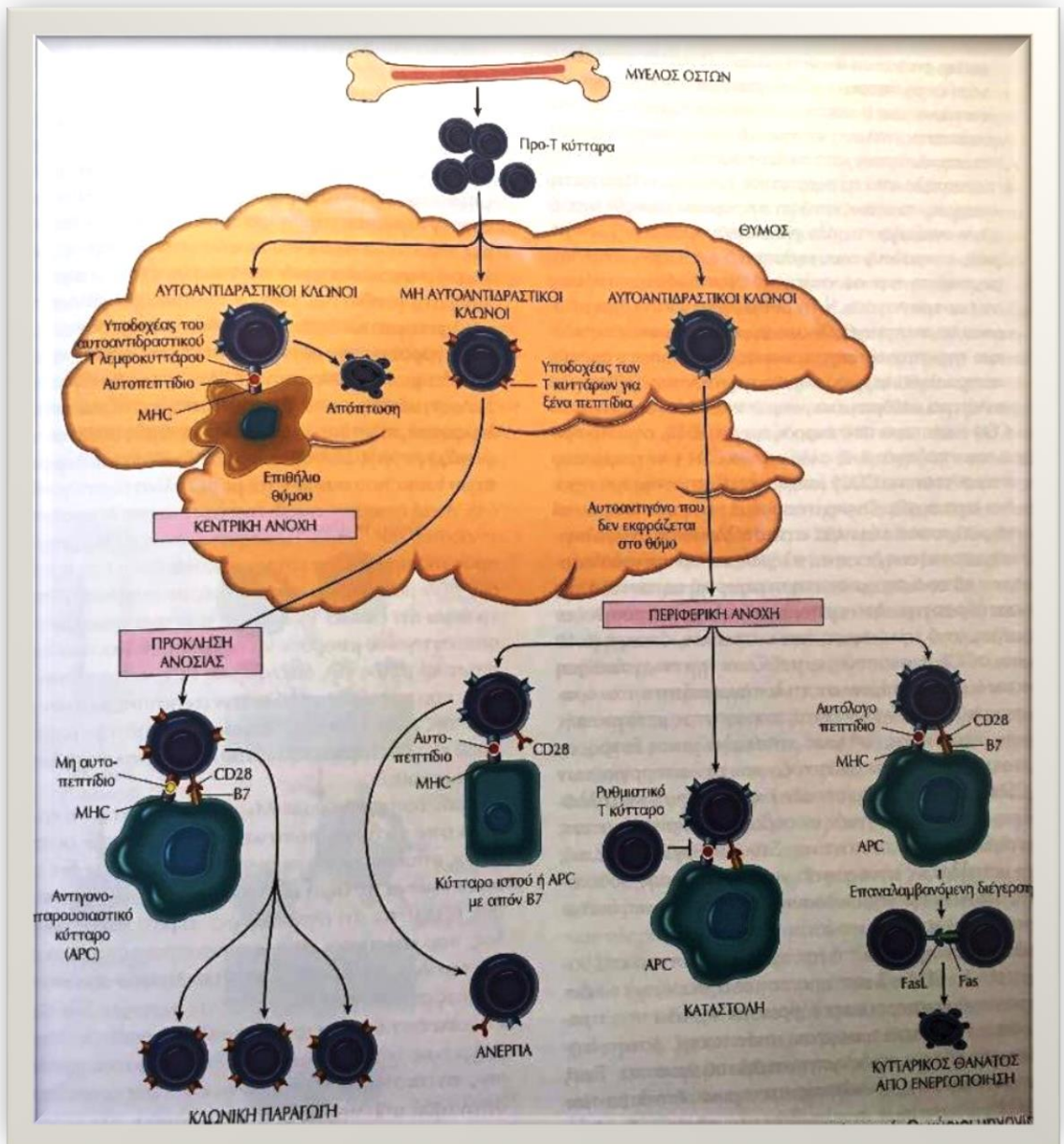
Τα αυτοαντιδραστικά B κύτταρα μπορούν επίσης να διαγραφούν από τον FasL μέσω των T κυττάρων που δεσμεύουν τον Fas στα B κύτταρα. Η σημασία αυτού του μηχανισμού στην περιφερική διαγραφή των αυτοδραστικών λεμφοκυττάρων φαίνεται ιδιαίτερα σε δυο σειρές ποντικών που είναι εκ φύσης «ελλιπή» σε Fas ή FasL. Τα αποκαλούμενα ποντίκια Irg έχουν μια μεταλλαγή στο γονίδιο Fas, ενώ τα ποντίκια gld γεννιούνται με ελαττωματικό FasL. Τα ποντίκια και των δυο σειρών αναπτύσσουν τη σοβαρή αυτοάνοση ασθένεια που μοιάζει με τον ανθρώπινο ΣΕΛ. (Σε αντίθεση με τον ΣΕΛ, αυτά τα ποντίκια εμφανίζουν επίσης λεμφοϋπερπλασία). Ένας μικρός αριθμός ασθενών εμφανίζει επίσης ΣΕΛ-ομοειδή αυτοανοσία και λεμφοϋπερπλασία που συνδέονται με μεταλλαγές στο γονίδιο FAS. Αυτή η ασθένεια καλείται αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο.

Πρόσφατα ένας άλλος μηχανισμός της πρόκλησης κυτταρικού θανάτου έχει προταθεί, πάλι βασισμένος στις μελέτες σε ποντίκια. Τίθεται το θέμα εάν τα T κύτταρα που αναγνωρίζουν τα αυτοαντιγόνα μπορούν να εκφράσουν ένα προ-αποπτωτικό μέλος της οικογένειας BCL, αποκαλούμενο BIM, που εμποδίζει το ρόλο των αντιαποπτωτικών μελών της οικογένειας. Η σημασία αυτού του μηχανισμού κυτταρικού θανάτου στην αυτοανοχή δεν έχει εδραιωθεί.

4. Απομόνωση αντιγόνων.

Μερικά αντιγόνα είναι κρυμμένα από το ανοσοποιητικό σύστημα επειδή οι ιστοί στους οποίους αυτά τα αντιγόνα βρίσκονται δεν επικοινωνούν με το αίμα και τη λέμφο. Τέτοιες περιπτώσεις θεωρείται ότι είναι ο όρχις, το μάτι και ο εγκέφαλος, που καλούνται επίσης ανοσοπρονομιακές περιοχές επειδή είναι δύσκολο να προκληθούν ανοσοαπαντήσεις στα αντιγόνα σε αυτές τις περιοχές. Εάν τα αντιγόνα αυτών των ιστών απελευθερωθούν, παραδείγματος χάριν σαν συνέπεια τραύματος ή μόλυνσης, το αποτέλεσμα μπορεί να είναι μια ανοσολογική απάντηση που προκαλεί παρατεταμένη φλεγμονή και ιστική βλάβη. Αυτός είναι ο προφανής μηχανισμός για τη μετατραυματική ορχίτιδα και τη ραγοειδίτιδα.

Η πρόληψη της αυτοανοσίας είναι τόσο ζωτικής σημασίας στην επιβίωση που διάφοροι μηχανισμοί έχουν εξελιχθεί για να μας προστατεύσουν από «τους προστάτες μας». Υπάρχουν πολλά στοιχεία στα πειραματόζωα τόσο για τους κεντρικούς όσο και για τους περιφερικούς μηχανισμούς, αλλά η ανάλογη σημασία τους στη διατήρηση της αυτοανοχής στους ανθρώπους δεν καθιερώνεται και μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τη φύση του αυτοαντιγόνου (π.χ. αφθονία, έκφραση στο θύμο αδένα).



Εικόνα 14. Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών που περιλαμβάνονται στην κεντρική και περιφερική ανοχή. Οι κύριοι μηχανισμοί της ανοχής στα CD4+ T κύτταρα παρουσιάζονται. APC: αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο (4)

3. Μηχανισμοί των αυτοάνοσων ασθενειών

Αν και θα ήταν ελκυστικό να εξηγήσει κανείς όλες τις αυτοάνοσες ασθένειες με έναν ενιαίο μηχανισμό, είναι σαφές ότι υπάρχουν διάφοροι τρόποι με τους οποίους η ανοχή μπορεί να παρακαμφθεί μετατρέποντας κατά συνέπεια μια προηγουμένως μη αντιδραστική κατάσταση σε αυτοαντιγονική. (28) (29) Περισσότερες από μια διαταραχές μπορεί να είναι παρούσες σε κάθε ασθένεια και οι διαταραχές ποικίλλουν από τη μια ασθένεια στην άλλη.

Η ανάπτυξη αυτοανοσίας συσχετίζεται με την κληρονόμηση των γονιδίων υπερευαισθησίας που μπορεί να επηρεάσει τη διατήρηση της αυτοανοχής και με περιβαλλοντικές αιτίες, ιδιαίτερα λοιμώξεις, οι οποίες προωθούν την ενεργοποίηση των αυτοαντιδραστικών λεμφοκυττάρων.

Ο ρόλος των γονιδίων ευαισθησίας

Οι περισσότερες αυτοάνοσες ασθένειες παρουσιάζουν ισχυρή γενετική προδιάθεση. (30) Μεταξύ των γονιδίων που είναι γνωστά ότι συνδέονται με την αυτοανοσία, καλύτερα καθορισμένα είναι τα γονίδια HLA. Παρά το γεγονός ότι αυτή η σχέση είναι καθιερωμένη, οι υποκείμενοι μηχανισμοί παραμένουν αδιευκρίνιστοι. Φαίνεται ότι η παρουσία ιδιαίτερων αλληλόμορφων MHC έχει επιπτώσεις στην αρνητική επιλογή των T κυττάρων, αλλά υπάρχουν λίγα πραγματικά στοιχεία για καθεμία πιθανότητα. Πρέπει να επισημανθεί ότι πολλά φυσιολογικά άτομα κληρονομούν αλληλόμορφα γονίδια MHC που είναι συνδεδεμένα με ασθένειες και τα φυσιολογικά μόρια MHC είναι ικανά για παρουσίαση των αυτοαντιγόνων. Επομένως, η παρουσία συγκεκριμένων αλληλόμορφων γονιδίων MHC δεν είναι από μόνη της η αιτία της αυτοανοσίας. Σε διάφορες αυτοάνοσες ασθένειες, όπως ο ΣΕΛ και ο τύπος I διαβήτη, πολλοί γενετικοί μη MHC επίτοποι έχουν αποδειχθεί να συνδέονται με την αυτοανοσία.

Η ιστορία του ΣΕΛ σε ένα πρότυπο ποντικών είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα, καθώς διαφορετικοί επίτοποι ευαισθησίας θεωρείται ότι συμβάλουν στη γενικευμένη ενεργοποίηση των B κυττάρων, στην παραγωγή αυτοαντισωμάτων anti-DNA και στη βαρύτητα της νεφρίτιδας. (31) Ένας μεγάλος περιορισμός σε αυτές τις μελέτες είναι ότι οι επίτοποι υπερευαισθησίας που είναι προσδιορισμένοι μέχρι τώρα συνήθως καταλαμβάνουν μεγάλα τμήματα του χρωμοσώματος και τα πραγματικά συνδεδεμένα με την ασθένεια γονίδια δεν είναι γνωστά. Τα σχετικά γονίδια σε τέτοιους επίτοπους μπορούν να αποκαλυφθούν με τις σύγχρονες μεθόδους χαρτογράφησης γονιδίων και της διαθεσιμότητας των πληροφοριών της γονιδιακής ακολουθίας.

Στα ποντίκια, οι μεταλλαγές διάφορων γνωστών γονιδίων έχουν επίδραση στην αυτοανοσία και πολλές από αυτές είναι αποκαλυπτικές ως προς τους παθογενετικούς μηχανισμούς. Έχουμε ήδη αναφερθεί στα ποντίκια με φυσική έλλειψη των Fas και FasL, που παρεμποδίζουν την πρόκληση κυτταρικού θανάτου και στα knock-out ποντίκια που στερούνται την AIRE (τον παράγοντα μεταγραφής που περιλαμβάνεται στη θυμική έκφραση των αυτοαντιγόνων) και του CTLA-4 (τον ανασταλτικό δέκτη που περιλαμβάνεται στα αδρανοποιημένα T κύτταρα).

Η IL-2 που είναι ένας παράγοντας αύξησης για τα T κύτταρα απαιτείται επίσης για την ανάπτυξη και τις λειτουργίες των T ρυθμιστικών κυττάρων και προάγει τη Fas-μεσολαβούμενη απόπτωση, εάν είναι παρούσα για παρατεταμένες περιόδους. Τα knock-out ποντίκια που στερούνται την IL-2 ή την αλυσίδα α ή β του υποδοχέα IL-2 αναπτύσσουν αυτοανοσία με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου, αντισώματα anti-DNA και αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία. Σε αυτά τα ποντίκια, η αυτοανοσία προκύπτει πιθανώς από μια αποτυχία της καταστολής από τα T ρυθμιστικά και μια αποτυχία της

ενεργοποίησης της πρόκλησης του κυτταρικού θανάτου, δύο από τους μηχανισμούς περιφερικής ανοχής. (32)

Τα Β κύτταρα εκφράζουν έναν Fc υποδοχέα που αναγνωρίζει τα αντισώματα IgG που δεσμεύονται στα αντιγόνα και αποκλείει την περαιτέρω παραγωγή αντισωμάτων (ένας αρνητικός ανατροφοδοτικός μηχανισμός). Η έλλειψη αυτού του δέκτη οδηγεί σε αυτοανοσία. (33)

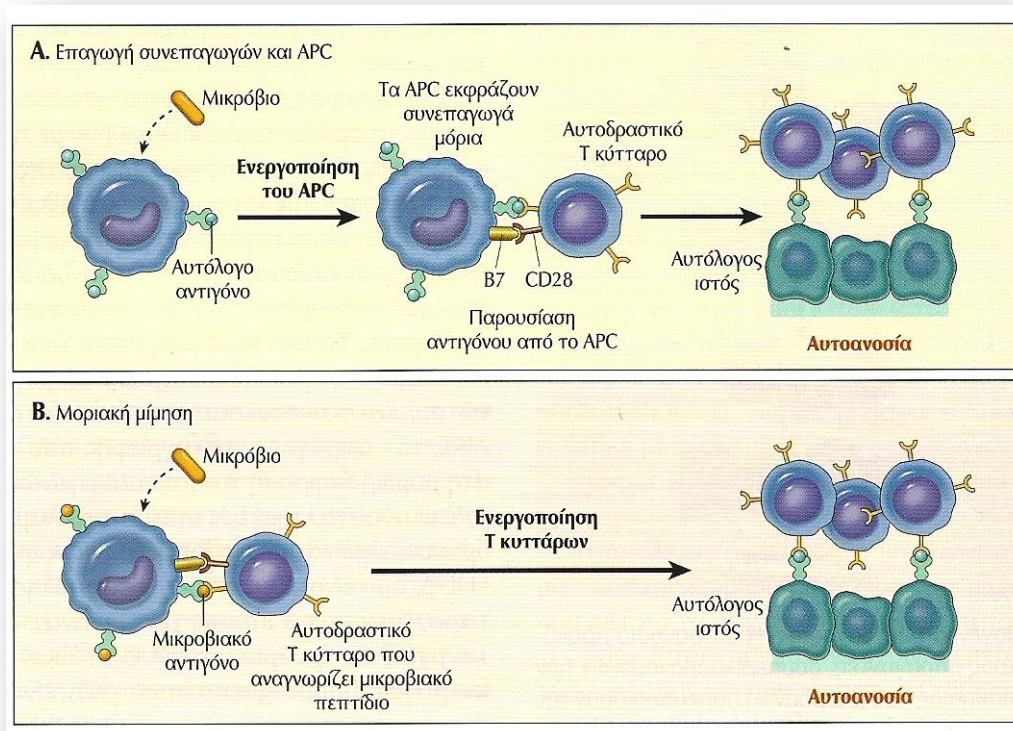
Μεταλλάξεις και πολυμορφισμοί στα Fas, AIRE, CTLA-4 και τα γονίδια Foxp3 είναι επίσης αίτια των ανθρώπινων αυτοάνοσων ασθενειών. Ωστόσο, οι περισσότερες ανθρώπινες αυτοάνοσες διαταραχές έχουν σύνθετα πολυγονιδιακά μοντέλα υπερευαισθησίας και δεν οφείλονται σε μεταλλάξεις ενός μόνο γονιδίου.

Ο ρόλος των λοιμώξεων

Πολλές αυτοάνοσες ασθένειες συνδέονται με λοιμώξεις που συχνά προηγούνται. Δύο μηχανισμοί έχουν τεθεί για να εξηγήσουν τη σύνδεση των λοιμώξεων με την αυτοανοσία. Κατ' αρχάς, οι λοιμώξεις μπορούν να επάγουν την έκφραση των επαγωγέων στην αντιγονοπαρουσίαση των κυττάρων. Εάν αυτά τα κύτταρα παρουσιάζουν τα αυτοαντιγόνα, το αποτέλεσμα μπορεί να είναι μια διακοπή της κλωνικής αδρανοποίησης και ενεργοποίηση των Τ κυττάρων ειδικών για τα αυτοαντιγόνα.

Δεύτερον, μερικά μικρόβια μπορούν να εκφράσουν τα αντιγόνα που έχουν τις ίδιες ακολουθίες αμινοξέος με τα αυτοαντιγόνα. Οι άνοσες απαντήσεις ενάντια στα μικροβιακά αντιγόνα μπορούν να οδηγήσουν στην ενεργοποίηση των αυτοαντιδραστικών λεμφοκυττάρων. Αυτό το φαινόμενο καλείται μοριακός μιμητισμός. Ένας σαφής παράδειγμα τέτοιου μιμητισμού είναι οι ρευματικές καρδιακές παθήσεις, στις οποίες τα αντισώματα ενάντια στις στρεπτοκοκκικές πρωτεΐνες αντιδρούν διασταυρούμενα με τις μυοκαρδιακές πρωτεΐνες και προκαλούν μυοκαρδίτιδα. Ένας ασθενέστερος μοριακός μιμητισμός μπορεί να παρατηρηθεί σε πολλές άλλες κλασικές αυτοάνοσες ασθένειες.

Τα μικρόβια μπορούν να προκαλέσουν άλλες διαταραχές που προωθούν τις αυτοάνοσες αντιδράσεις. Η ιστική βλάβη που είναι κοινή στις λοιμώξεις μπορεί να απελευθερώσει τα αυτοαντιγόνα και να τα τροποποιήσει δομικά, έτσι ώστε να είναι σε θέση να ενεργοποιήσουν τα Τ κύτταρα που δεν εμφανίζουν ανοχή σε αυτά τα νέα αλλαγμένα αντιγόνα. Οι λοιμώξεις μπορούν να προκαλέσουν την παραγωγή των κυτοκινών που στρατολογούν τα λεμφοκύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των ενδεχομένως αυτοαντιδραστικών λεμφοκυττάρων στις περιοχές των αυτοαντιγόνων.



Εικόνα 15. Ρόλος των λοιμώξεων στην αυτοανοσία. Οι λοιμώξεις μπορούν να προωθήσουν την ενεργοποίηση των αυτοδραστικών λεμφοκυττάρων με την πρόκληση της έκφρασης των συνεπαγωγέων (A) ή τα μικροβιακά αντιγόνα μπορούν να μμηθούν αυτοαντιγόνα και να ενεργοποιήσουν τα αυτοδραστικά λεμφοκύτταρα ως διασταυρούμενη αντίδραση (B). (4)

Μόλις προκληθεί μια αυτοάνοση ασθένεια τείνει να είναι προοδευτική, μερικές φορές με σποραδικές υποτροπές και υποστροφές. Ένας σημαντικός μηχανισμός για την εμμονή και την εξέλιξη της αυτοάνοσης ασθένειας είναι το φαινόμενο της διάδοσης του επιτόπου. Οι λοιμώξεις και ακόμη και η αρχική αυτοάνοση απάντηση μπορούν να απελευθερώσουν και να βλάψουν τα αυτοαντιγόνα και να εκθέσουν τους επιτόπους των αντιγόνων που κρύβονται φυσιολογικά από το ανοσοποιητικό σύστημα. Το αποτέλεσμα είναι να συνεχίζει η ενεργοποίηση νέων λεμφοκυττάρων που αναγνωρίζουν αυτούς τους προηγουμένως κρυμμένους επιτόπους, δεδομένου ότι αυτοί δεν εκφράστηκαν κανονικά και τα λεμφοκύτταρα δεν εμφάνισαν ανοχή σε αυτά. Κατά συνέπεια, ανεξάρτητα από την αρχική ώθηση μιας αυτοάνοσης απάντησης, η πρόοδος και η χρονιότητά της μπορούν να διατηρηθούν από τη συνεχή στρατολόγηση των αυτοδραστικών T κυττάρων. Η επαγωγή τέτοιων αυτοδραστικών T κυττάρων αναφέρεται ως διάδοση επιτόπων, επειδή η ανοσοαπάντηση «διαδίδεται» στους παράγοντες που δεν ήταν αρχικά αναγνωρίσιμοι.

4. Τα T ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα

Τα T ρυθμιστικά κύτταρα (Tregs) είναι ικανά να εμποδίσουν ανοσοπαθολογικές καταστάσεις ή αυτοάνοσα νοσήματα *in vivo*. Ειδικότερα, ο όρος ρυθμιστικό κύτταρο αναφέρεται στο κύτταρο που είναι ικανό να καταστείλει την ενεργοποίηση και πολλαπλασιασμό των T κυττάρων σε περιβάλλον φλεγμονής. Μια βασική υποομάδα των

Tregs προέρχεται από το θύμο αδένα, αν και κύτταρα με ταυτόσημο φαινότυπο μπορούν επίσης να αναπτυχθούν και στην περιφέρεια. Τα κύτταρα αυτά είναι απόλυτα εξαρτημένα από την IL-2 αναφορικά με την ανάπτυξη και την επιβίωσή τους, αλλά δε μπορούν να την παράγουν τα ίδια. Επίσης, γνωρίζουμε αρκετά μόρια που σχετίζονται με την ικανότητα των Tregs να καταστέλλουν ανοσολογικές αντιδράσεις, αλλά πολλά ακόμα σημεία όπως ο τρόπος μετανάστευσης ή ο τρόπος δράσης τους παραμένουν σκοτεινά και πεδίο εντατικής έρευνας, αφού οι θεραπευτικές τους ιδιότητες εμπεριέχουν ποικίλα πεδία από τις λοιμώξεις και τα νεοπλάσματα έως τα αυτοάνοσα νοσήματα και τις μεταμοσχεύσεις οργάνων.

Η θεωρία ενός ειδικού τύπου T λεμφοκυττάρων (T suppressors) με ειδικές ιδιότητες ώστε να καταστέλλουν (suppress) διάφορες ανοσολογικές αντιδράσεις ήταν ιδιαίτερα δημοφιλής στις προηγούμενες δεκαετίες. Ήταν από τότε γνωστό ότι πειραματόζωα στα οποία χορηγούνται μεγάλες δόσεις ανοσογόνου ήταν δυνατό να αναπτύξουν ανοχή (tolerance) στο ανοσογόνο και η ανοχή αυτή να μεταδοθεί και σε άλλα πειραματόζωα του ίδιου είδους με την έγχυση T λεμφοκυττάρων. (34) (35) Κατά τη θεωρία αυτή, η ανοχή οφειλόταν στην παρουσίαση του αντιγόνου στο πλαίσιο μιας υποθετικής πρωτεΐνης που κωδικοποιούνταν στην I-J υποπεριοχή του MHC συστήματος ιστοσυμβατότητας και μεταφερόταν μέσω διαλυτών παραγόντων προερχομένων από τα κατασταλτικά κύτταρα. Η θεωρία αυτή περιπλέχθηκε περαιτέρω αφού δεν κατάφερε να αποδειχθεί κανένας ειδικός τύπος κυττάρων ή γονίδιο που να εξηγεί τα φαινόμενα αυτά στα διάφορα πειραματικά μοντέλα με αποτέλεσμα να προταθούν διάφοροι τύποι κατασταλτικών και αντικατασταλτικών (contra-suppressors) λεμφοκυττάρων. (36)

Τελικά η θεωρία της ανοσορύθμισης μέσω κατασταλτικών κυττάρων κατέρρευσε για 4 λόγους:

A) η λεπτομερής χαρτογράφηση της MHC περιοχής απέδειξε την απουσία της I-J υποπεριοχής,

B) κανένας από τους μέχρι τότε δείκτες επιφανείας (markers) δεν ήταν ειδικός για αυτή την ομάδα κυττάρων,

Γ) πειραματικά μοντέλα με διαγονιδιακά (transgenic) ποντίκια σχετικά με τον υποδοχέα των T λεμφοκυττάρων (TCR) έδειξαν καταστροφή των αυτοαντιδρώντων T λεμφοκυττάρων στο θύμο μέσω της αρνητικής επιλογής (negative selection), κάνοντας μη αναγκαία τη θεωρητική ύπαρξη κατασταλτικών λεμφοκυττάρων,

Δ) τέλος, η ανακάλυψη των υποπληθυσμών των T βοηθητικών λεμφοκυττάρων (T helpers, CD4+ T cells) σε Th-1 και Th-2 έδωσε έδαφος για την ανάπτυξη νέων θεωριών για την ανοσολογική καταστολή μέσω της ανοσολογικής απόκλισης (Immune deviation), όπου τα Th-1 κύτταρα παράγουν κυρίως ιντερφερόνη γ (IFN-γ) και προάγουν την ενδοκυττάρια ανοσία, ενώ τα Th-2 παράγουν κυρίως IL-4, IL-5 και IL-13 και προάγουν τη χυμική ανοσία.

Μεταβολές στην ισορροπία μεταξύ αυτών των δυο κυτταρικών ομάδων θα μπορούσαν θεωρητικά να εξηγήσουν τα φαινόμενα καταστολής χωρίς την ανάγκη ύπαρξης ειδικής ομάδας κατασταλτικών κυττάρων. (37) Όλα αυτά είχαν σαν αποτέλεσμα να πέσει σε δυσμένεια ο όρος κατασταλτικά λεμφοκύτταρα και να απαλειφθεί από όλα τα συγγράμματα ανοσολογίας μέχρι το 1995, όταν ο Sakaguchi ανακάλυψε ότι η υψηλής

συγγένειας άλυσος του υποδοχέα της IL-2 (CD25) εκφραζόταν σε έναν υποπληθυσμό T λεμφοκυττάρων με ρυθμιστικές ικανότητες και μπορούσε να αποτελέσει δείκτη (marker) για αυτά τα κύτταρα. (38)

Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, περιφερικά T λεμφοκύτταρα με δείκτες CD5^{high} ή CD45RB^{low} προσέφεραν προστασία σε διάφορα μοντέλα αυτοανοσίας και η έκφραση του CD25 σχετιζόταν θετικά με αυτή του CD5^{high} και αρνητικά με του CD45RB^{low}. Όταν σπληνικά εκχυλίσματα από φυσιολογικούς ποντικούς εγχέονταν σε ποντικούς με ανεπάρκεια T λεμφοκυττάρων (T cell deficient nul/ nul mice), παρατηρήθηκε ότι όταν το εκχύλισμα δεν περιείχε CD25+ λεμφοκύτταρα οι ποντικοί εμφάνιζαν μια πολυοργανική αυτοάνοση διαταραχή, χαρακτηριζόμενη από γαστρίτιδα, ωφορίτιδα ή ορχίτιδα και σε μικρότερο βαθμό θυρεοειδίτιδα, αδρεναλίτιδα, ινσουλινίτιδα, αρθρίτιδα ή σπειραματονεφρίτιδα. Αντίθετα, η προσθήκη καθαρμένων CD4+CD25+κυττάρων μπορούσε να προλάβει την εμφάνιση των αυτοάνοσων αυτών φαινομένων.

Σε άλλο μοντέλο, η πρώιμη θυμεκτομή πριν την τρίτη ημέρα από τη γέννηση σε ποντικούς, όταν εμποδιζόταν η μετακίνηση των CD4+CD25+ κυττάρων από το θύμο στην περιφέρεια, οδηγούσε σε αυτοάνοση γαστρίτιδα, ενώ δεν παρατηρήθηκε το ίδιο φαινόμενο όταν η θυμεκτομή γινόταν σε μεταγενέστερο χρόνο, μετά τη μετανάστευση των κυττάρων αυτών από το θύμο στην περιφέρεια.

Περαιτέρω μελέτες έδειξαν τις ασυνήθιστες ικανότητες αυτού του υποπληθυσμού των CD4+CD25+ λεμφοκυττάρων. (39) (40) Πρώτον, ήταν ανεργικά (anergic) αφού δεν πολλαπλασιάζονταν μετά από διέγερση με anti-CD3 αντισώματα και ταυτόχρονη παρουσία των APCs σε αντίθεση με τα CD4+CD25- κύτταρα. Δεύτερον, παρουσίαζαν πανίσχυρη κατασταλτική ικανότητα έναντι των CD4+CD25-κυττάρων, αφού σε ανάμιξη με αυτά οδηγούσαν σε καταστολή του πολλαπλασιασμού τους. Στα πειράματα αυτά επίσης φάνηκε ότι για την εκδήλωση της καταστολής ήταν απαραίτητη η επαφή των κυττάρων (cell-cell contact). Τρίτον, η καταστολή δε σχετιζόταν με τους Th1 και Th2 υποπληθυσμούς, αφού αντισώματα έναντι των IL-4, IL-10 και TGF δεν είχαν κανένα αποτέλεσμα αναφορικά με την καταστολή. Τέταρτον, αν και τα κύτταρα αυτά εξέφραζαν την α άλυσος του υποδοχέα της IL-2 και η παρουσία της IL-2 ήταν θεμελιώδης για την επιβίωση και την ανάπτυξή τους, αυτά τα ίδια αδυνατούσαν να την παράγουν.

Τα αρχικά ευρήματα στους ποντικούς επιβεβαιώθηκαν και στους ανθρώπους (41) (42), αλλά δυστυχώς ο δείκτης CD25 δεν ήταν απόλυτα ειδικός για την ομάδα των Tregs, αφού η έκφραση του αυξανόταν και σε συμβατικά T λεμφοκύτταρα όταν αυτά ενεργοποιούνταν μέσω του TCR υποδοχέα τους. Παρ' όλους αυτούς τους περιορισμούς όμως, όλα τα παραπάνω έδειξαν για πρώτη φορά την ύπαρξη ενός ειδικού πληθυσμού T λεμφοκυττάρων με κατασταλτικές ιδιότητες, τα οποία ονομάστηκαν ρυθμιστικά (regulatory) αντί του παλαιού όρου κατασταλτικά (suppressors).

Ο ρόλος του FOXP3

Ο μεταγραφικός παράγοντας FOXP3 ανήκει στην οικογένεια των forkhead/winged helix μεταγραφικών παραγόντων, οι οποίοι ελέγχουν μια μεγάλη ποικιλία βιολογικών

διαδικασιών. Με γενετική χαρτογράφηση η θέση του είναι στο χρωμόσωμα Χρ11.23-Χρ13.3. Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι υψηλά επίπεδα FOXP3 ανευρίσκονται σχεδόν αποκλειστικά στα CD4+CD25+ λεμφοκύτταρα του θύμου και στα περιφερικά Τ λεμφοκύτταρα με αυτό το δείκτη. (43) (44)

Στους ποντικούς φαίνεται ότι ο FOXP3 εκφράζεται αποκλειστικά στα CD4+CD25^{bright} Τ λεμφοκύτταρα, αλλά η κατάσταση είναι πιο πολύπλοκη στον άνθρωπο. Εδώ φαίνεται ότι ο FOXP3 μπορεί να εκφράζεται και σε ενεργοποιημένα παρθενικά (naïve)CD4+CD25⁻ και CD8 Τ λεμφοκύτταρα. Επομένως, η ανεύρεσή του στα Τ λεμφοκύτταρα δεν αποδεικνύει πλήρως το ρυθμιστικό χαρακτήρα των κυττάρων και οι περισσότεροι μελετητές σήμερα τον συνδυάζουν με τους CTLA4, GITR, IL-10, CD127 και τον TGF-β για την επιβεβαίωση ότι τα υπό μελέτη κύτταρα είναι όντως ρυθμιστικά.

Ο ρόλος του μεταγραφικού παράγοντα FOXP3 στη διατήρηση της ομοιόστασης έχει αποδειχθεί από τη μελέτη οικογενειών που εκφράζουν πολυοργανικά αυτοάνοσα σύνδρομα. Μεταλλάξεις του FOXP3 οδηγούν σε ένα σύνδρομο ανοσολογικής δυσλειτουργίας, πολυενδοκρινοπάθειας και εντεροπάθειας με φυλοσύνδετη κληρονομικότητα (Immune dysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy and X-linked inheritance, IPEX Syndrome). Το σύνδρομο αυτό αφορά συνήθως άνδρες, ενώ οι γυναίκες είναι συνήθως φορείς και εκφράζεται με σακχαρώδη διαβήτη, διάρροια, έκζεμα, υποτροπιάζουσες λοιμώξεις και αιμολυτική αναιμία. Η μόνη μέχρι σήμερα αποτελεσματική θεραπεία είναι η μεταμόσχευση μυελού των οστών. (45)

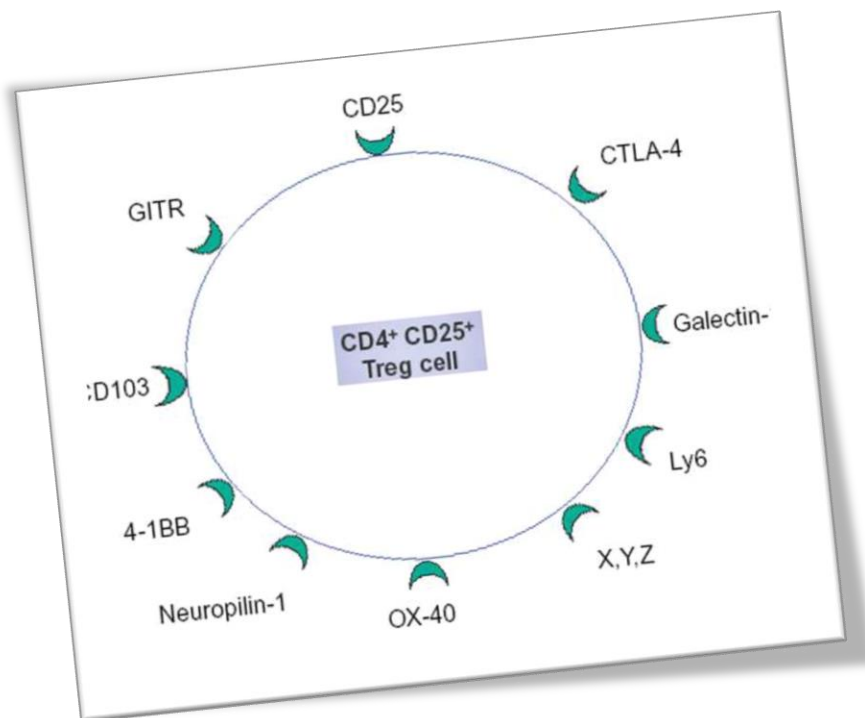
Πρόελευση των ρυθμιστικών Τ λεμφοκυττάρων

Τα περισσότερα Tregs προέρχονται από το θύμο αδέν. Οι Sakaguchi et al έδειξαν ότι θυμεκτομή σε ποντικούς πριν την τρίτη ημέρα από τη γέννηση οδηγεί σε αυτοάνοσα νοσήματα και κύρια γαστρίτιδα. Αυτό δείχνει ότι τα CD4+CD25⁺ κύτταρα δε μεταναστεύουν στην περιφέρεια πριν την τρίτη ημέρα. (46) Επίσης, έχει βρεθεί ότι είναι δυνατή η in vitro παραγωγή CD4+CD25⁺ κυττάρων από κυτταροκαλλιέργειες θυμικών κυττάρων τα οποία διατηρούν τις ρυθμιστικές τους ιδιότητες. (47)

Πιο πρόσφατα δεδομένα δείχνουν όμως ότι τα Tregs μπορεί να παράγονται και στην περιφέρεια. Η παραγωγή στο θύμο αδέν καθώς και η ισορροπία των Tregs και των T effectors στην περιφέρεια εξαρτάται από την έκφραση πολλών παραγόντων, όπως του FOXP3, GITR, CTLA-4, CD40, IL-2 και CD28. Σε πειραματικά μοντέλα έχει βρεθεί ότι η παραγωγή των ρυθμιστικών κυττάρων οφείλεται στην απουσία της συνδιέγερσης (costimulation) στα APCs ή στον τύπο του APCs (π.χ. Β λεμφοκύτταρο αντί DC). Σε περιπτώσεις όπου το αντιγόνο που αναγνωρίζεται από τον TCR είναι άγνωστο, είναι δυνατόν τα CD4+CD25⁻ κύτταρα να μετατραπούν σε CD4+CD25⁺FOXP3⁺. Η μετατροπή αυτή εξαρτάται σημαντικά από τη B7 συν-διέγερση. Τέλος, διέγερση συμβατικών (conventional) Τ λεμφοκυττάρων κάτω από ειδικές συνθήκες (υψηλή συγκέντρωση TGF-β) μπορεί να οδηγήσει σε μετατροπή σε CD4+CD25⁺FOXP3⁺. (48)

Η ύπαρξη των δύο αυτών διαφορετικών υποπληθυσμών ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων (θυμικά και περιφερικά) μοιραία γεννά το ερώτημα: «γιατί τα περιφερικά ρυθμιστικά

κύτταρα δεν προστατεύουν από αυτοάνοση γαστρίτιδα σε σπληνεκτομηθέντες ποντικούς;» Μια πιθανή εξήγηση ίσως είναι ότι τα περιφερικά ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα αποτελούν εντελώς διαφορετική ομάδα με κύριο σκοπό την καταστολή της φλεγμονώδους διαδικασίας σε ορισμένα κύτταρα παρά σε άλλα. Προς ενίσχυση της θεωρίας αυτής είναι το εύρημα ότι εκλεκτική καταστροφή τους με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι διαφορετικών δεικτών επιφανείας όπως CD25, CD62L, CD45RB, CD103 οδηγεί σε διαφορετικούς τύπους αυτοανοσίας. Για παράδειγμα, καταστροφή των CD25+ οδηγεί σε γαστρίτιδα, ενώ η καταστροφή των CD62L+ σε σακχαρώδη διαβήτη. (49)



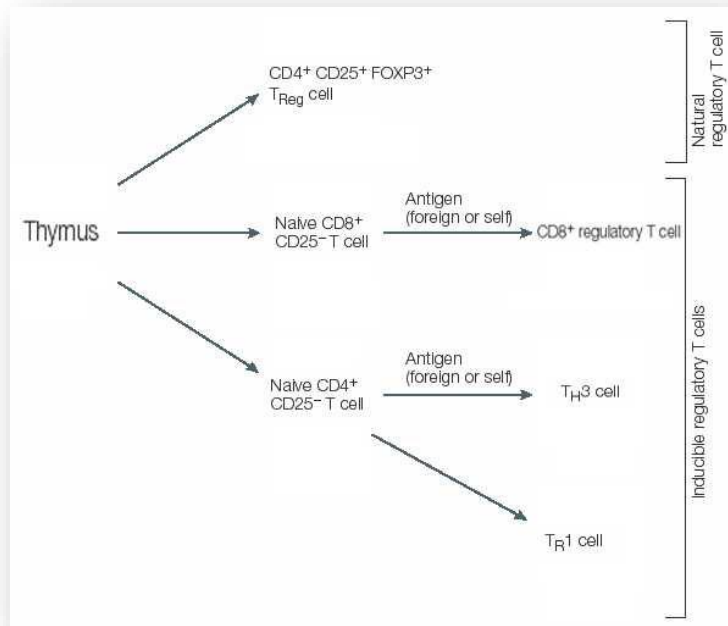
Εικόνα 16. Δείκτες επιφανείας (markers) ρυθμιστικών T λεμφοκυττάρων (προσαρμογή από Piccirillo C.A., Thornton A M. Trends in Immunology 2004;25(7):374-80)

Υποπληθυσμοί T ρυθμιστικών κυττάρων

Σήμερα είμαστε σε θέση να γνωρίζουμε μια μεγάλη ποικιλία Tregs, πέρα από τα κλασικά FOXP3+CD4+CD25+ T λεμφοκύτταρα. Σύμφωνα με τη μέχρι τώρα έρευνα, τα Tregs μπορούν να διαχωριστούν σε:

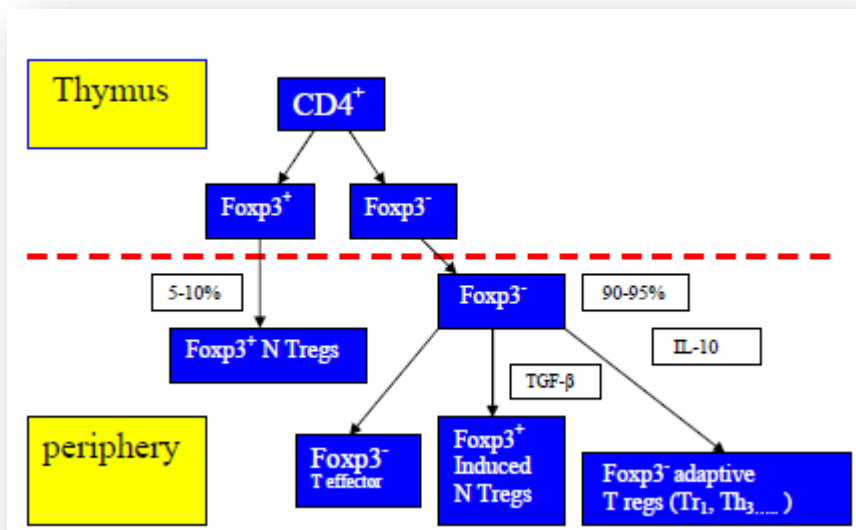
A) FOXP3+CD4+CD25+ T λεμφοκύτταρα (φυσικά παραγόμενα στο θύμο και επαγόμενα στην περιφέρεια), τα οποία δρουν μέσω κυτταρικής επαφής (cell-cell contact) in vitro.

B) σε διάφορους άλλους υποπληθυσμούς όπως: τα type 1 regulatory (Tr1) cells, τα Th3, τα CD8+CD28- T suppressors, τα Natural Killer T (NKT) cells και τα αβ T cell receptor (TCR)+CD3+CD4-CD8- double negative T ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα, τα οποία δρουν μέσω έκκρισης κατασταλτικών κυτταροκινών, όπως η IL-10 και ο TGF-β και τα οποία δεν εκφράζουν το μεταγραφικό παράγοντα FOXP3.



Εικόνα 17. Υποπληθυσμοί Τ ρυθμιστικών κυττάρων

Πρόσφατα, έχει προταθεί ότι ο δείκτης CD127 χαρακτηρίζει μια άλλη υποομάδα ρυθμιστικών κυττάρων, τα οποία όμως εκφράζουν λίγο ή σχεδόν καθόλου το συγκεκριμένο δείκτη (CD4+CD127 low cells). Τα κύτταρα αυτά παράγονται στην περιφέρεια από συμβατικά CD4+CD25- Τ λεμφοκύτταρα και μάλλον αποτελούν διαφοροποιημένα κύτταρα παρά διαφορετικές σειρές κυττάρων. Τα Tr1 χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους να παράγουν μεγάλες ποσότητες IL-10, ενώ τα Th3 από την παραγωγή TGF-β.



Εικόνα 18. Υποπληθυσμοί Tregs ανάλογα με την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα FOXP3. (Προσαρμογή από Rothstein DM. J. Am Soc Nephrol. 2006;17:2644)

Υποπληθυσμοί T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων

- FOXP3+CD4+CD25+ T λεμφοκύτταρα
- CD4+CD25+CD127^{low}
- Type1 regulatory (Tr1) cells
- Th3
- CD8+CD28- T suppressors
- Natural Killer T (NKT) cell
- αβ T-cell receptor (TCR)+CD3+CD4-CD8- double negative T cells

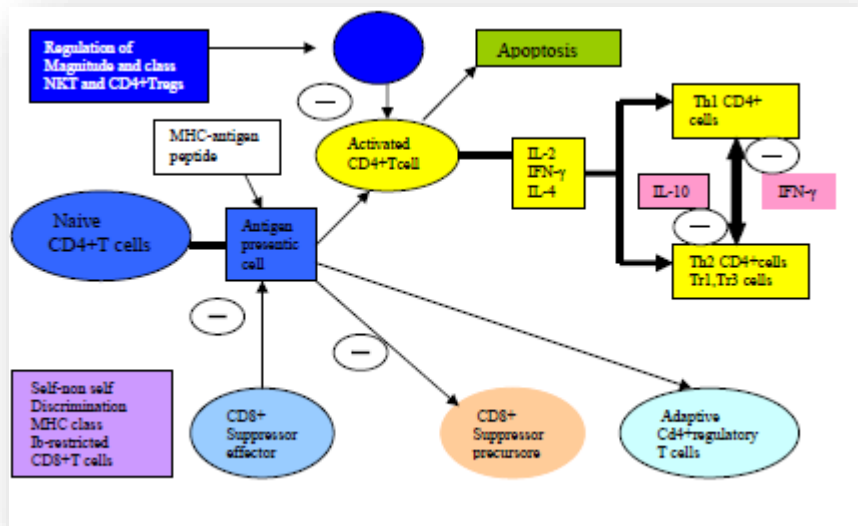
Μηχανισμός δράσης των ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων

Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο τα ρυθμιστικά T λεμφοκύτταρα καταστέλλουν την ανάπτυξη και τη λειτουργία των άλλων T λεμφοκυττάρων παραμένει μέχρι σήμερα όχι πλήρως διευκρινισμένος. Σε *in vitro* καταστάσεις φαίνεται να μην υπάρχει δράση κυτταροκινών, αλλά η καταστολή επιτυγχάνεται μέσω κυτταρικής επαφής. Στις *in vivo* καταστάσεις όμως η κατάσταση είναι πολύ πιο πολύπλοκη και εμπεριέχει διάφορους τύπους κυττάρων αλλά και κυτταροκίνες. Αναλόγως των περιπτώσεων, έχει προταθεί μηχανισμός δράσης κυτταροκινών (TGF-β και IL-10) καθώς και απευθείας κυτταρικός θάνατος των T effectors λεμφοκυττάρων ή των APCs από τα Tregs. Αν και σε αρχικές μελέτες η χορήγηση αντισωμάτων έναντι του TGF-β δεν ανέστειλε την καταστολή μέσω των Tregs, πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι τα Tregs όχι μόνο εκφράζουν τον TGF-β, αλλά και ότι αντί-TGF-β αντισώματα αναστέλλουν την καταστολή. Παρόλα αυτά σε *in vitro* μελέτες φαίνεται ότι CD4+CD25- και CD4+CD25+ κύτταρα από TGF β-/- ποντικούς είναι εξίσου ενεργά με τα φυσιολογικά T κύτταρα, όπως επίσης και τα T λεμφοκύτταρα με SMAD έλλειψη (απαραίτητη για τη φυσιολογική δράση του TGF-β). (50)

Το ίδιο αμφιλεγόμενα είναι και τα ευρήματα σχετικά με την ιντερλευκίνη-10. Ποντικοί με έλλειψη ιντερλευκίνης-10 παρουσιάζουν αυτόματα εντεροκολίτιδα. Μεμονωμένα *in situ* CD4+CD25+ κύτταρα μπορούν επίσης να την παράγουν αλλά δεν είναι και απαραίτητη για την καταστολή. Επίσης, *in vivo* αν και η ιντερλευκίνη-10 είναι απαραίτητη για την καταστολή της αυτοάνοσης κολίτιδας, δεν είναι απαραίτητη για την καταστολή της αυτοάνοσης γαστρίτιδας. (51)

Τέλος, πολύ πρόσφατες μελέτες βασιζόμενες σε διπλή φωτονιακή laser μικροσκόπηση υποδηλώνουν ότι ο κύριος μηχανισμός με τον οποίο δρουν τα Tregs επιτυγχάνεται με διακοπή της σύνδεσης των Th με τα APCs.

Η κατασταλτική δράση των Tregs, εκτός από τα T effectors, επεκτείνεται και σε άλλους τύπους κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως τα B λεμφοκύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα DC. (52) Επίσης, η φλεγμονή πυροδοτεί άμεσα την ενεργοποίηση των Tregs. (53)



Εικόνα 19. Τρόποι δράσης διαφορετικών τύπων ρυθμιστικών/κατασταλτικών λεμφοκυττάρων στην περιφέρεια (προσαρμογή από Jiang H et al N. Engl J Med 2006;354(11):1166-76).

Μόρια συνδιέγερσης

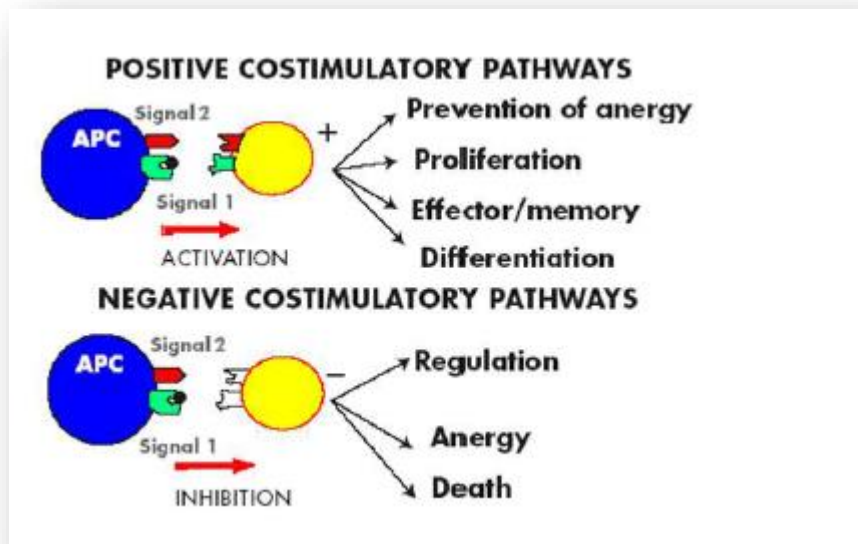
Το θεμελιώδες δόγμα της βιολογίας του T κυττάρου είναι ότι η διέγερση του TCR υποδοχέα (σήμα 1) δεν επαρκεί για την ενεργοποίηση των T κυττάρων και χρειάζεται και ένα επιπρόσθετο σήμα (σήμα 2) μέσω ενός μορίου συν-διέγερσης για να επιτευχθεί η πλήρης ενεργοποίησή τους. Επομένως, δεν πρέπει να μας εκπλήσσει η ανάγκη ύπαρξης μορίων συνδιέγερσης και για τα Tregs.

Τα Tregs εκφράζουν μια μεγάλη ποικιλία μορίων τα οποία μπορούν να μεταφέρουν σήματα συνδιέγερσης όπως CD28, CTLA-4, GITR, OX40, 4-1BB, LAG-3. Τα πιο καλά μελετημένα μέχρι σήμερα είναι τα CD28, CTLA-4 και GITR. Στα συμβατικά T λεμφοκύτταρα τα CD28 και CTLA-4 αποτελούν γνωστά μόρια συνδιέγερσης. Το σύμπλεγμα CD28/B7.1 δρα εδώ ευοδωτικά, ενώ η δράση του CTLA-4/B7.2 δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη.

Ο GITR ο οποίος είναι μέλος της οικογένειας των TNF υποδοχέων έχει και αυτός διπλό ρόλο, αφού έχει δείχθει ότι σε κάποιες περιπτώσεις διεγείρει τα CD4+CD25+FOXP3+ κύτταρα και σε κάποιες κάνει τα CD4+CD25- ανθεκτικά στη δράση τους.

Μια από τις τελευταίες ανακαλύψεις όσον αφορά τον μηχανισμό συνδιέγερσης των T λεμφοκυττάρων είναι ότι οι υποδοχείς συνδιέγερσης μπορούν να ενισχύσουν ή και να καταστείλουν την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων, τροποποιώντας με αυτό τον τρόπο την ανοσιακή ανάπτυξη. Προφανώς υπάρχουν θετικοί και αρνητικοί μηχανισμοί οι οποίοι αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και ευθύνονται για την ανοσιακή απάντηση. (54)

Η ανοσολογική ανοχή δεν εξαρτάται μόνο από την αναστολή των θετικών μηχανισμών των μορίων συνδιέγερσης η οποία προάγει την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων αλλά και από την ενίσχυση του αρνητικού μηχανισμού.



Εικόνα 20. Η διπλή λειτουργία των μορίων συνδιέγερσης (προσαρμογή από Najafian N. 2008 www.Nephrologygrounds.org)

Η σημασία της IL-2

Η IL-2 κλωνοποιήθηκε το 1983 ως αυτοκρινικός αυξητικός παράγοντας για τα Τ λεμφοκύτταρα *in vitro*. Προάγεται κυρίως από τα Τ λεμφοκύτταρα μετά από την ενεργοποίησή τους, συνδέεται με αυτά και μεταφέρει σήματα (signals) μέσω του συμπλέγματος του υποδοχέα της (*Interleukin-2 receptor*) προάγοντας την επιβίωση, ανάπτυξη και διαφοροποίησή τους. Το σύμπλεγμα του υποδοχέα περιλαμβάνει τρία τμήματα: την α αλυσίδα (IL-2α, CD25) για τη σύνδεση υψηλής συγγένειας, τη β αλυσίδα (IL-2Rβ, CD122) για την καταστολή της μετάδοσης σήματος για τις IL-2 και IL-15 και για την κοινή γ αλυσίδα (γc, CD132) για την καταστολή της μετάδοσης σήματος για την IL-2 και άλλες ιντερλευκίνες.

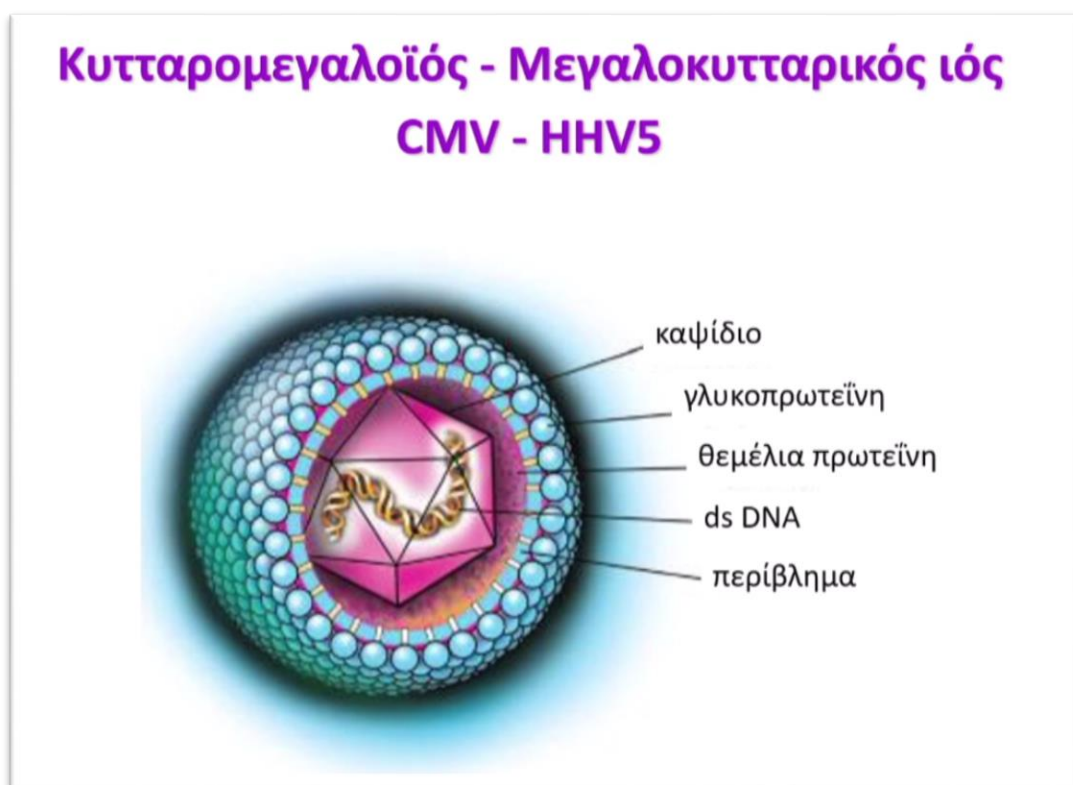
Η σύνδεση της IL-2 με τον IL-2Rα οδηγεί σε ενεργοποίηση της τριμερούς έχοντας ως αποτέλεσμα την καταστολή των STAT5, MARK, P13K μέσω ενεργοποίησης των κινασών JAK1, JAK3. Σε καταστάσεις φλεγμονής όπου υπάρχει επαρκής συνδιέγερση τα ενεργοποιημένα Τ λεμφοκύτταρα εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες IL-2 και αυξάνουν τον πολλαπλασιασμό τους μέσω του IL-2r. Με βάση τις γνωστές δράσεις της IL-2, ήταν αναμενόμενο ότι τα knock-out ποντίκια για αυτήν θα ήταν ανοσοανεπαρκή. Στην πράξη όμως (1993) διαπιστώθηκε ότι οι ποντικοί αυτοί είχαν σχετικά καλή απάντηση έναντι των ιών, αλλά παρουσίαζαν αυτοάνοση κολίτιδα. (55) Η πλήρης εξήγηση του φαινομένου δόθηκε πολύ αργότερα μέσω της θεμελιώδους σημασίας της IL-2 για τα Tregs λεμφοκύτταρα. Αυτή αποδείχθηκε σε ποντικούς με ανεπάρκεια σε IL-2, IL-2Rα, IL-2Rβ και STAT5, οι οποίοι παρουσίαζαν χαμηλό τίτλο Tregs και διάφορους τύπους αυτοανοσίας. Εξωγενής χορήγηση Tregs στους ποντικούς αυτούς είχε σαν αποτέλεσμα την αναστροφή της αυτοανοσίας. (56) Έχει τονιστεί ότι αν και η ύπαρξη της IL-2 είναι απαραίτητη για την παραγωγή των Tregs, επειδή τα κύτταρα αυτά δε δύνανται να την παράγουν, έχουν πολύ εύστοχα χαρακτηριστεί ως «ανοσολογικά παράσιτα».

ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

Κυτταρομεγαλοϊός

Ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV) - human herpesvirus 5 (HHV5) μορφολογικά και δομικά είναι ίδιος με τους άλλους ερπητοϊούς, διαφέρει όμως αντιγονικά. Έχει έναν μόνο ορότυπο. Ο αναπαραγωγικός κύκλος είναι όπως του HSV, επιτρεπτικά κύτταρα είναι οι ινοβλάστες και τα μακροφάγα και ο ιός εγκαθιστά λανθάνουσα λοίμωξη στα μονοπύρνα, στα κύτταρα στρώματος του μυελού των οστών, αλλά και αλλού.

Ο ιός μπορεί να προκαλέσει μια μεγάλη σειρά νοσολογικών καταστάσεων, ανάλογα με την ηλικία του ξενιστή και το σημαντικότερο την ανοσολογική του κατάσταση. Η κυριότερη γλυκοπρωτεΐνη του περιβλήματος (φακέλου) του CMV συνδέεται με τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (57), ενώ δεν είναι γνωστό αν ο ιός χρησιμοποιεί αυτόν και άλλους υποδοχείς για να εισέλθει σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων σε φυσικές λοιμώξεις.



Εικόνα 21. Δομή Κυτταρομεγαλοϊού

Ο άνθρωπος είναι ο φυσικός ξενιστής. Τα στελέχη των ζώων δε μολύνουν τους ανθρώπους. Ο ιός μεταδίδεται με το αίμα, με μεταμόσχευση οργάνων και με όλα τα εκκρίματα του σώματος (ούρα, σίελο, σπέρμα, τραχηλικές εκκρίσεις, μητρικό γάλα, δάκρυα).

Ο ιός αναπαράγεται στα επιθηλιακά κύτταρα, στα μακροφάγα και σε άλλα κύτταρα μεταδιδόμενος κυρίως από κύτταρο σε κύτταρο σε όλο το σώμα αποφεύγοντας έτσι τη χυμική ανοσιακή απάντηση. Σε λανθάνουσα κατάσταση παραμένει στα μονοπύρνα, στα T κύτταρα και σε κύτταρα διαφόρων οργάνων όπως μυελού, νεφρών και καρδιάς. Σε

κατάσταση ανοσοκαταστολής επανενεργοποιείται προκαλώντας συμπτωματική ή ασυμπτωματική λοίμωξη. Ο ιός επάγει παροδική ανοσοκαταστολή δυσχεραίνοντας τη λειτουργία των T κυττάρων. Ο ρόλος των αντισωμάτων στον έλεγχο της λοίμωξης είναι μικρός, η κυτταρική ανοσία είναι απαραίτητη για τον περιορισμό της λοίμωξης, ενώ πιθανά συμβάλλει και στην ανάπτυξη των συμπτωμάτων της.

Ο CMV μολύνει και παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση στα λευκά αιμοσφαίρια και μπορεί να ενεργοποιηθεί όταν η κυτταρική ανοσία είναι κατεσταλμένη. Ο CMV προκαλεί ασυμπτωματική λοίμωξη ή νόσο που μοιάζει με λοιμώδη μονοπυρήνωση σε υγιή άτομα, αλλά προκαλεί βαριές συστηματικές λοιμώξεις σε νεογνά και ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Όπως υποδηλώνει το όνομά του, ο κυτταρομεγαλοϊός προκαλεί διόγκωση των προσβεβλημένων κυττάρων. Τα μολυσμένα κύτταρα εμφανίζουν γιγαντισμό, τόσο ολόκληρου του κυττάρου, όσο και του πυρήνα του. Μέσα στον πυρήνα υπάρχει ένα μεγάλο έγκλειστο που περιβάλλεται από διαυγή άλω (δίκην οφθαλμού κουκουβάγιας).

Η μετάδοση του CMV μπορεί να γίνει με διάφορους μηχανισμούς, ανάλογα με την ηλικιακή ομάδα των ασθενών. (58) (59) Οι μηχανισμοί αυτοί είναι οι εξής:

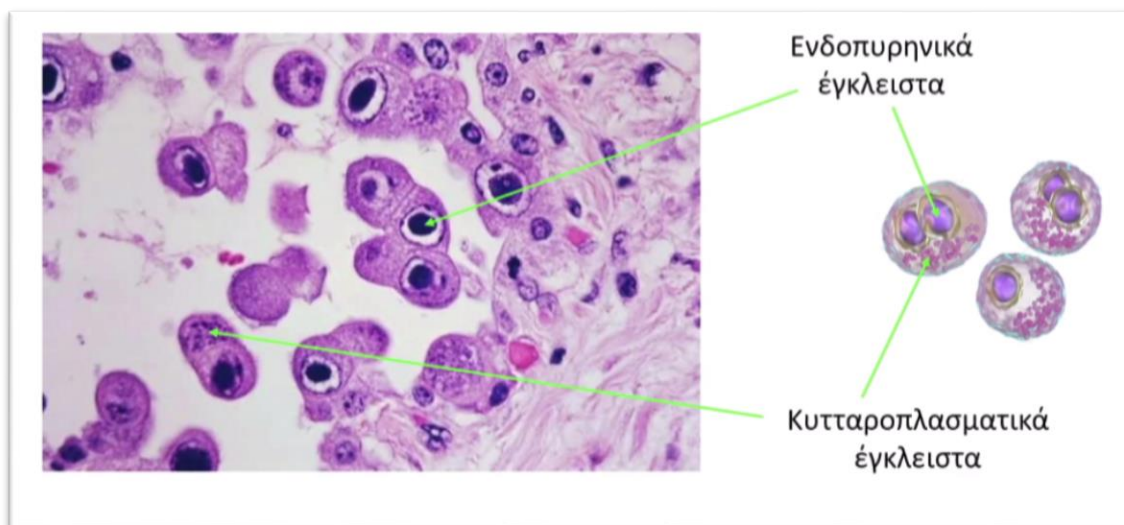
- Διαπλακουντιακή μετάδοση από πρόσφατη ή πρωτογενή λοίμωξη σε μητέρα που δεν έχει προστατευτικά αντισώματα («συγγενής CMV»)
- Μετάδοση του ιού μέσω των εκκρίσεων του τραχήλου της μήτρας ή του κόλπου κατά τον τοκετό ή αργότερα μέσω του μητρικού γάλακτος από μητέρα με ενεργό λοίμωξη («περιγεννητική CMV λοίμωξη»)
- Μετάδοση μέσω του σιέλου κατά την προσχολική ηλικία, ειδικά σε βρεφονηπιακούς και παιδικούς σταθμούς. Βρέφη και παιδιά που μολύνονται με τον τρόπο αυτό μεταδίδουν άμεσα τον ιό στους γονείς τους
- Η σεξουαλική μετάδοση είναι ο κυριότερος τρόπος μετάδοσης μετά την ηλικία των 15 ετών, αλλά ο ιός μπορεί επίσης να μεταδοθεί με τα αναπνευστικά σταγονίδια και μέσω της κοπρανοστοματικής οδού
- Ιατρογενής μετάδοση μπορεί να συμβεί σε οποιαδήποτε ηλικία μέσω της μεταμόσχευσης οργάνων ή της μετάγγισης αίματος.

Ο CMV μπορεί να προκαλέσει παροδική αλλά βαριά ανοσοκαταστολή. Ο CMV των ποντικών μπορεί να μολύνει τα δενδριτικά κύτταρα και να προκαλέσει διαταραχή της λειτουργίας και της ωρίμανσής τους, καθώς και της ικανότητάς τους να διεγείρουν τα T κύτταρα. Φαίνεται ότι ο ανθρώπινος CMV μπορεί επίσης να προσβάλλει τα δενδριτικά κύτταρα και να αλλοιώσει τη λειτουργία τους. (60)

Όπως οι άλλοι ερπητοϊοί, ο CMV μπορεί να αποφύγει την άμυνα του ξενιστή μειώνοντας τα μόρια MHC τάξης I και II και παράγοντας ομόλογα του υποδοχέα του TNF, της IL-10 και των υποδοχέων MHC τάξης I. (61) (62) (63) (64) Είναι ενδιαφέρον ότι ο CMV μπορεί να ενεργοποιήσει αλλά και να αποφύγει τα φυσικά κύτταρα φονείς επάγοντας υποκαταστάτες για την ενεργοποίηση υποδοχέων και πρωτεϊνών που μοιάζουν με τα μόρια τάξης I και συνδέονται με ανασταλτικούς υποδοχείς. Επομένως, ο CMV μπορεί όχι μόνο να αποφεύγει την άμυνα του ξενιστή, αλλά και να καταστέλλει ενεργά τους ανοσολογικούς μηχανισμούς του.

Μορφολογία

Η χαρακτηριστική διόγκωση των μολυσμένων κυττάρων μπορεί να αναγνωριστεί ιστολογικά. Τα προεξάρχοντα ενδοπυρηνικά βασεόφιλα έγκλειστα που καταλαμβάνουν περίπου το μισό πυρήνα διαχωρίζονται συνήθως από την πυρηνική μεμβράνη με μία διαυγή άλω.



Εικόνα 22. Έγκλειστα CMV δίκην οφθαλμού κουκουβάγιας

Μέσα στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων αυτών μπορούν επίσης να παρατηρηθούν μικρότερα βασεόφιλα έγκλειστα. Στους αδένες προσβάλλονται τα επιθηλιακά κύτταρα του παρεγχύματος, στον εγκέφαλο οι νευρώνες, στους πνεύμονες τα κυψελιδικά μακροφάγα και τα επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα και στους νεφρούς τα επιθηλιακά κύτταρα των σωληναρίων και τα ενδοθηλιακά κύτταρα των σπειραμάτων. Τα προσβεβλημένα κύτταρα εμφανίζονται πολύ διογκωμένα, πολλές φορές με διάμετρο έως 40μm, ενώ παρουσιάζουν κυτταρικό και πυρηνικό πολυμορφισμό. Η διάσπαρτη CMV λοίμωξη προκαλεί εστιακή νέκρωση με ελάχιστη φλεγμονή σε όλα σχεδόν τα όργανα.

Συγγενείς λοιμώξεις

Η ενδομήτρια λοίμωξη μπορεί να λάβει πολλές μορφές. Στο 95% περίπου των περιπτώσεων είναι ασυμπτωματική. Ωστόσο, μερικές φορές όταν ο ιός μεταδίδεται από μητέρα με πρωτογενή λοίμωξη (που δεν έχει προστατευτικές ανοσοσφαιρίνες), εκδηλώνεται η κλασική νόσος των μεγαλοκυτταρικών εγκλείστων (NME). Η NME μοιάζει με την εμβρυική ερυθροβλάστωση. Τα προσβεβλημένα βρέφη μπορεί να εμφανίζουν ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης, να είναι βαρέως πάσχοντα και να εκδηλώνουν ίκτερο, ηπατοσπληνομεγαλία, αναιμία, αιμορραγία λόγω θρομβοπενίας και εγκεφαλίτιδα. Σε θανατηφόρες περιπτώσεις, ο εγκέφαλος είναι μικρότερος από το φυσιολογικό (μικροκεφαλία) και μπορεί να περιέχει αποτιτανωμένες εστίες.

Τα βρέφη που επιβιώνουν εμφανίζουν συνήθως μόνιμες διαταραχές, όπως νοητική καθυστέρηση, απώλεια της ακοής και άλλες νευρολογικές βλάβες. Ωστόσο, η συγγενής λοίμωξη δεν είναι πάντοτε θανατηφόρος, αλλά μπορεί να εκδηλωθεί ως διάμεση

πνευμονίτιδα, ηπατίτιδα ή αιματολογική διαταραχή. Τα περισσότερα βρέφη με αυτή τη μορφή NME αναρρώνουν, αν και μερικά εμφανίζουν αργότερα νοητική υστέρηση. Σπάνια μια τελείως ασυμπτωματική λοίμωξη μπορεί να ακολουθείται μήνες ή χρόνια αργότερα από νευρολογικές επιπλοκές, όπως όψιμη νοητική υστέρηση και διαταραχές της ακοής.

Περιγεννητικές λοιμώξεις

Η λοίμωξη που αποκτάται κατά τον τοκετό ή από το μητρικό γάλα κατά το θηλασμό είναι ασυμπτωματική στη μεγάλη πλειοψηφία των περιπτώσεων, αν και σπάνια τα βρέφη μπορούν να εμφανίσουν διάμεση πνευμονίτιδα, αδυναμία φυσιολογικής ανάπτυξης, δερματικό εξάνθημα ή ηπατίτιδα.

Τα παιδιά αυτά έχουν επίκτητα μητρικά αντισώματα κατά του CMV, τα οποία μειώνουν τη βαρύτητα της νόσου. Παρά την απουσία συμπτωμάτων, πολλοί από τους ασθενείς αυτούς εξακολουθούν να απεκκρίνουν CMV στα ούρα ή το σίελο για μήνες ή χρόνια. Ήπιες διαταραχές της ακοής και της ευφυΐας αργότερα κατά τη διάρκεια της ζωής έχουν αναφερθεί σε μερικές μελέτες.

Μονοπυρήνωση από Κυτταρομεγαλοϊό

Σε υγιή μικρά παιδιά και ενήλικες η νόσος είναι σχεδόν πάντοτε ασυμπτωματική. Σε μελέτες σε όλο τον κόσμο, 50% έως 100% των ενηλίκων έχουν αντι-CMV αντισώματα στον ορό, τα οποία υποδηλώνουν προηγούμενη έκθεση στον ιό. Η συχνότερη κλινική εκδήλωση της CMV λοίμωξης σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς μετά τη νεογνική περίοδο είναι μια λοιμώδης νόσος που μοιάζει με τη μονοπυρήνωση και παρουσιάζεται με πυρετό, άτυπη λευκοκυττάρωση, λεμφαδενοπάθεια και ηπατοσπληνομεγαλία, συνοδευόμενες από παθολογικές δοκιμασίες της ηπατικής λειτουργίας, ενδεικτικές ήπιας ηπατίτιδας. Οι περισσότεροι ασθενείς αναρρώνουν πλήρως χωρίς επιπλοκές, αν και η απέκκριση του ιού σε σωματικά υγρά μπορεί να επιμένει για μήνες ή χρόνια.

Ανεξάρτητα από την παρουσία ή απουσία συμπτωμάτων μετά από λοίμωξη ένα άτομο που μολύνεται μια φορά από τον ιό γίνεται οροθετικό για όλη τη ζωή του. Ο ιός παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση μέσα στα λευκοκύτταρα, τα οποία συνιστούν και την κύρια δεξαμενή του.

CMV λοίμωξη σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα

Η λοίμωξη αυτή εκδηλώνεται συνήθως σε τρεις κατηγορίες ασθενών:

- *Λήπτες μοσχευμάτων συμπαγών οργάνων (καρδιάς, ήπατος, νεφρού) από οροθετικούς δότες.* Οι ασθενείς αυτοί λαμβάνουν κατά κανόνα ανοσοκατασταλτική θεραπεία και ο CMV προέρχεται συνήθως από το όργανο του

δότη, αλλά μπορεί επίσης να συμβεί ενεργοποίηση λανθάνουσας CMV λοίμωξης στον ξενιστή.

- *Λήπτες αλλογενών μοσχευμάτων μυελού των οστών.* Οι ασθενείς αυτοί είναι ανοσοκατεσταλμένοι, όχι μόνο λόγω της ανοσοκατασταλτικής αγωγής που λαμβάνουν, αλλά επίσης λόγω της κακής λειτουργίας του μυελού έως ότου ενσωματωθεί πλήρως. Στις περιπτώσεις αυτές, συμβαίνει συνήθως ενεργοποίηση λανθάνουσας CMV λοίμωξης στο λήπτη.
- *Ασθενείς με AIDS.* Αυτά τα ανοσοκατεσταλμένα άτομα παρουσιάζουν ενεργοποίηση λανθάνουσας λοίμωξης και επίσης μολύνονται από τους σεξουαλικούς τους συντρόφους. Ο CMV είναι το συχνότερο ευκαιριακό παθογόνο στους ασθενείς με AIDS.

Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις, σοβαρές απειλητικές για τη ζωή γενικευμένες CMV λοιμώξεις εντοπίζονται κυρίως στους πνεύμονες (πνευμονίτιδα), τη γαστρεντερική οδό (κολίτιδα) και τον αμφιβληστροειδή (αμφιβληστροειδίτιδα), ενώ το κεντρικό νευρικό σύστημα παραμένει συνήθως ανέπαφο. Στην πνευμονική λοίμωξη παρατηρείται διήθηση του διάμεσου ιστού από μονοπύρηννα κύτταρα με εστίες νέκρωσης συνοδευόμενη από τα τυπικά διογκωμένα κύτταρα με έγκλειστα. Η πνευμονίτιδα μπορεί να εξελιχθεί σε πλήρες σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας.

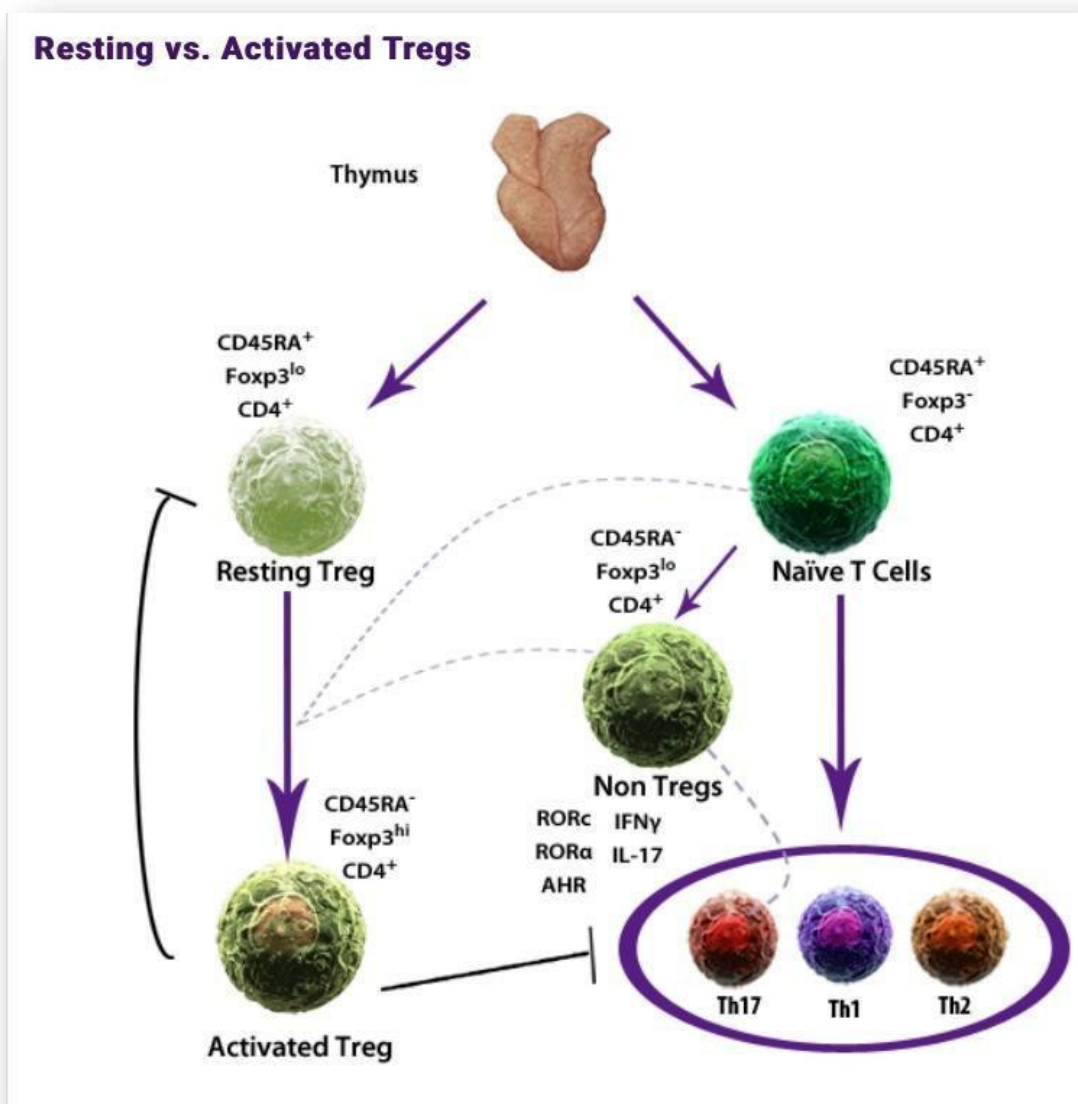
Νέκρωση και εξέλκωση του εντέρου μπορούν να συμβούν και να είναι εκτεταμένες οδηγώντας στο σχηματισμό ψευδομεμβρανών και σε εξαντλητική διάρροια. Η CMV αμφιβληστροειδίτιδα, μακράν η συχνότερη μορφή ευκαιριακής CMV νόσου, μπορεί να εκδηλωθεί είτε μόνη της είτε σε συνδυασμό με προσβολή των πνευμόνων και της γαστρεντερικής οδού.

Η διάγνωση των CMV λοιμώξεων στηρίζεται στην ανάδειξη των χαρακτηριστικών μορφολογικών αλλοιώσεων σε τεμάχια ιστού, στην καλλιέργεια του ιού, στην ανεύρεση αυξημένων αντισωμάτων κατά του ιού, στην ανίχνευση αντιγόνων του CMV και στην ποιοτική ή ποσοτική ανίχνευση CMV DNA με τη βοήθεια PCR. Οι μέθοδοι που βασίζονται στην PCR έχουν βοηθήσει σημαντικά στην παρακολούθηση των ασθενών μετά από μεταμόσχευση.

Ο ρόλος των Tregs παρουσία λοιμώδους παράγοντα

Δεδομένου ότι τα CD4⁺Foxp3⁺Tregs έχουν κεντρικό ρόλο στην ανοσολογική ανοχή (65) (66) (67) (68) (69) (70), το δυναμικό τέτοιων κυττάρων για τη θεραπεία ασθενειών διερευνάται ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια. Ως εκ τούτου, είναι απαραίτητο να γίνει κατανοητό πώς αυτά ανταποκρίνονται τόσο σε κατάσταση ηρεμίας όσο και σε φλεγμονώδεις εκδηλώσεις.

Αν και τα Tregs είναι γνωστά ως κύτταρα που δεν παράγουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, νεότερα δεδομένα δείχνουν ότι τα Foxp3⁺Tregs έχουν τη δυνατότητα να επαναπρογραμματιστούν σε T helper (Th) κύτταρα παράγοντας προφλεγμονώδεις κυτοκίνες σε ποντικούς όπως και σε ποικίλες ανθρώπινες νόσους. (71) (72) (73) (74) Οι Zhou et al περιέγραψαν για πρώτη φορά τη δυναμική της παθογένειας των επαναπρογραμματιζόμενων Tregs που χάνουν την Foxp3 σε μοντέλα ποντικών με Σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1. (75)



Εικόνα 23. Πορεία των ενεργοποιημένων Tregs (Από Biolegend.com)

Εκτός από τα επαναπρογραμματισμένα Tregs που χάνουν τη Foxp3, τα Th που εκφράζουν Foxp3 έχουν επίσης αναφερθεί ότι παράγουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες. Τα Th1 εκφράζουν εκτός από τη Foxp3, τον T κυτταροειδικό μεταγραφικό παράγοντα (T-bet) και την CXCR3. (76) Τα Th17 κύτταρα εκφράζουν τη Foxp3, τον σκέτο υποδοχέα του ρετινοϊκού οξέος ROR-γτ και την IL-17A. (77) Το είδος των effector Foxp3+ Tregs κυττάρων που παράγουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες ανευρίσκονται σε πολύ χαμηλά επίπεδα στους ιστούς, αλλά η παρουσία τους αυξάνεται κατά τη διάρκεια φλεγμονής. (78) (79)

Τα Tregs φέρουν εξειδικευμένες λειτουργίες σε πολλές λοιμώξεις. Έχουν μελετηθεί σε πολλές διαφορετικές λοιμώξεις προερχόμενες από μικρόβια, παράσιτα, ιούς και μύκητες. Σε οξεία λοίμωξη από *Toxoplasma gondii*, το παράσιτο ενεργοποιεί Th1 κύτταρα που επάγουν την έκφραση T-bet και IFN-γ από τα Tregs σε πειραματικά μοντέλα ποντικών. Το γεγονός αυτό συσχετίζεται με εξάντληση των επιπέδων της IL-2 και μείωση των επιπέδων των Tregs, που συνεπάγονται ανοσοπαθολογία και θάνατο σε πληθυσμούς ποντικών. Αυτά τα δεδομένα υποστηρίζουν την ιδέα ότι κατά τη διάρκεια μιας λοίμωξης το περιβάλλον των Th1 μπορεί να ανατρέψει τις ρυθμιστικές λειτουργίες και να γίνει αφιλόξενο για τα ίδια τα Tregs που επάγουν την παραγωγή Th1. (80)

Σε περιπτώσεις λοίμωξης από μύκητα *Candida* έχει παρατηρηθεί ένα Th17 μοντέλο αντιμετώπισης της λοίμωξης. Τα Th17-like Tregs αυξάνουν παροδικά στους μολυσμένους ποντικούς. (81) (82) Στην οροφαρυγγική καντιντίαση, η αύξηση παρατηρείται ειδικά στη βασική μεμβράνη της στοματικής κοιλότητας των ποντικών και στα ενδοεπιθηλιακά κύτταρα (MOIL) που απομονώνονται από τη γλώσσα και τον ουρανίσκο των μολυνθέντων ποντικών. (83) Λειτουργικά, είναι σαφές ότι η ανάπτυξη αυτών των Th-17 like Tregs κυττάρων δε συνεισφέρει στην παθολογία κατά τη διάρκεια της οξείας μυκητικής λοίμωξης από *Candida*.

Στην πραγματικότητα το σύνολο των Tregs έχουν διπλό αλλά προστατευτικό ρόλο αυξάνοντας την IL-17A και μειώνοντας τον TNF-α, με σκοπό τον απώτερο έλεγχο της λοίμωξης και τη μείωση της ανοσοπαθολογίας στους ποντικούς. (84) (85) Παραμένει μια μεγάλη πρόκληση το πώς αυτός ο πληθυσμός των Th17-like Tregs δρα σε κάθε επιμέρους στάδιο κατά τη διάρκεια των λοιμώξεων. (86)

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

A. Υλικό

Μελετήθηκαν εξηνταμία (61) περιπτώσεις ασθενών. Τα δείγματα συλλέχθηκαν από το Παθολογοανατομικό εργαστήριο του Γενικού Κρατικού Νοσοκομείου Αθηνών «Γ.Γεννηματάς» και από το 1^ο Εργαστήριο της Παθολογικής Ανατομικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών κατά τα έτη 2012-2016. Το υλικό προερχόταν από βιοψίες παχέος εντέρου των ασθενών που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια διαγνωστικού ενδοσκοπικού ελέγχου ή εξέτασης follow-up ήδη διαγνωσμένων ασθενών.

Οι 61 ασθενείς έφεραν τη διάγνωση Ιδιοπαθούς Φλεγμονώδους Νόσου Εντέρου (είτε Ελκώδους κολίτιδας είτε Νόσου Crohn).

Σε 31 από τις εξετασθείσες περιπτώσεις δεν ανιχνεύθηκε λοιμώδης παράγοντας στον εντερικό ιστό, ενώ στις υπόλοιπες 30 ανιχνεύθηκε η παρουσία κυτταρομεγαλοϊού (CMV).

B. Μέθοδοι

Χρησιμοποιήθηκαν οι κύβοι παραφίνης των ιστοτεμαχίων καθενός από τους 61 ασθενείς. Από κάθε κύβο παραφίνης κόπηκαν τομές πάχους 4μm.

Οι τομές που υπήρχαν στο αρχείο με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, καθώς και η ανοσοϊστοχημική χρώση με αντίσωμα έναντι του CMV αξιολογήθηκαν εκ νέου.

Για την ανοσοϊστοχημική χρώση χρησιμοποιήθηκε το αντίσωμα polyclonal rabbit Tinto Foxp3 από την εταιρεία Bio SB, USA.

Για τη διαδικασία της ανοσοϊστοχημείας ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα:

- Οι τομές παραφίνης τοποθετούνται σε ξηρό κλίβανο στους 56°C από την προηγούμενη ημέρα.
- Την επόμενη ημέρα μεταφέρονται σε υψηλό pH~9 (EDTA-Tris) στη συσκευή αποπαραφίνωσης και ενυδάτωσης (PT) για άνοιγμα των αντιγονικών θέσεων. Η διαδικασία διαρκεί 20min στην προθέρμανση στους 65°C, 15min θέρμανση στους 92°C και μετά 20min cooling period.
- Ακολουθεί έκπλυση των τομών με νερό βρύσης και μετά εμβάπτιση σε H₂O₂ για 10min.
- Ξεπλένουμε με άφθονο νερό και τοποθετούμε buffer (TSBT).
- Τοποθετούμε το αντίσωμα polyclonal rabbit Tinto Foxp3 (από τη Bio SB, USA) στις τομές για 1h.
- Ξεπλένουμε με TSBT επί τρεις φορές.

- Ακολουθεί το δευτερογενές στάδιο, όπου σχηματίζεται το πολυμερές σύμπλοκο. Προστίθεται το δευτερογενές αντίσωμα συνδεδεμένο με υπεροξειδάση για 45 min.
- Ξεπλένουμε με TSBT τρεις φορές.
- Προστίθεται το χρωμογόνο DAB για 5min.
- Πάλι ξεπλένουμε με TSBT τρεις φορές.
- Η αντίχρωση επιτυγχάνεται με προσθήκη αιματοξυλίνης για 60sec.
- Ξεπλένουμε με τρεχούμενο νερό.
- Τέλος, ακολουθεί προσθήκη ανιούσας οισοπνευμάτων και ξυλόλης και κάλυψη των τομών.

Για να εκτιμήσουμε το επίπεδο έκφρασης των κυττάρων που εξέφραζαν τη Foxp3, μετρήθηκε ο αριθμός των κυττάρων σε 10 οπτικά πεδία ανά τομή και υπολογίστηκε ο μέσος όρος σε κάθε δείγμα. Η μέτρηση έγινε με φακό μεγέθυνσης x200 σε εργαστηριακό μικροσκόπιο διερχόμενου φωτός με εστίαση στο άπειρο τύπου E200 LED Eclipse προέλευσης Ιαπωνίας και κατασκευής της εταιρείας Nikon.

Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στατιστικά με σκοπό να φανεί αν τα επίπεδα των κυττάρων που εκφράζουν τη Foxp3 συσχετίζονται με την παρουσία του CMV στους ασθενείς, με την ενεργότητα της Ιδιοπαθούς φλεγμονώδους εντερικής νόσου καθενός ασθενή και με την ποσότητα ηωσινοφίλων σε κάθε δείγμα.

Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με το R 3.5.0. Ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε το 5% ($\alpha=0,05$). Η εξέταση της σχέσης μεταξύ της μέσης τιμής οπτικών πεδίων και των άλλων παραμέτρων (παρουσία CMV, ενεργότητα ιδιοπαθούς εντερικής φλεγμονώδους νόσου, παρουσία ηωσινοφιλίας στο δείγμα) έγινε με τον έλεγχο t για ανεξάρτητα δείγματα (Student's independent sample t-test). Η εξέταση της σχέσης μεταξύ των παραγόντων παρουσία CMV, ενεργότητα ιδιοπαθούς εντερικής φλεγμονώδους νόσου και παρουσία ηωσινοφίλων έγινε με τον έλεγχο χ^2 του Pearson (Pearson's χ^2 test).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η μελέτη περιελάμβανε εξηνταμία (61) περιπτώσεις ασθενών με ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου (ελκώδη κολίτιδα ή νόσο Crohn). Σε 30 από αυτές συνυπήρχε CMV ως παθογόνος λοιμώδης παράγοντας, ενώ στις υπόλοιπες 31 περιπτώσεις δεν ανιχνεύθηκε παρουσία κάποιου παθογόνου λοιμώδους παράγοντα.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα ιστολογικά δείγματα λήφθηκαν από εντερικές βιοψίες, κυρίως παχέος εντέρου, κατά τη διάρκεια διαγνωστικής ή follow up ενδοσκόπησης.

Ενεργότητα Ιδιοπαθών φλεγμονωδών εντερικών νόσων

Όσον αφορά στην ενεργότητα των ιδιοπαθών φλεγμονωδών εντερικών νόσων, σε 41 από τα δείγματα των ασθενών ανιχνεύθηκαν στοιχεία ενεργούς ιδιοπαθούς φλεγμονώδους εντερικής νόσου, ενώ στα υπόλοιπα 20 η νόσος φαινόταν να βρίσκεται σε ύφεση.

Παρουσία ηωσινοφίλων

Εκσεσημασμένη αύξηση της ποσότητας ηωσινοφίλων σημειώθηκε σε 42 δείγματα ασθενών, ενώ στις 19 περιπτώσεις δεν παρουσιάστηκε αξιόλογη αύξηση του αριθμού των ηωσινοφίλων.

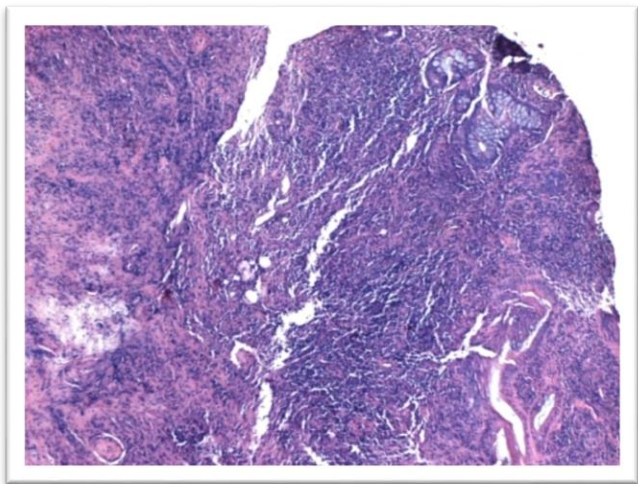
Τα χαρακτηριστικά των ιστολογικών δειγμάτων συνοψίζονται στον Πίνακα 1.

Χαρακτηριστικά		Ανοσοϊστοχημικά αποτελέσματα		
		Ανίχνευση CMV	Απουσία CMV	Σύνολο
Παρουσία CMV		30 (49,2%)	31 (50,8%)	61 (100,0%)
Ενεργότητα ΙΦΝΕ	Ενεργή ΙΦΝΕ	21 (51,2%)	20 (48,8%)	41 (100,0%)
	ΙΦΝΕ σε ύφεση	9 (45,0%)	11 (55,0%)	20 (100,0%)
	Σύνολο	30 (49,2%)	31 (50,8%)	61 (100,0%)
Ηωσινοφιλία	Αυξημένη παρουσία ηωσινοφίλων	15 (35,7%)	27 (64,3%)	42 (100,0%)
	Φυσιολογική παρουσία ηωσινοφίλων	15 (78,9%)	4 (21,1%)	19 (100,0%)
	Σύνολο	30 (49,2%)	31 (50,8%)	61 (100,0%)

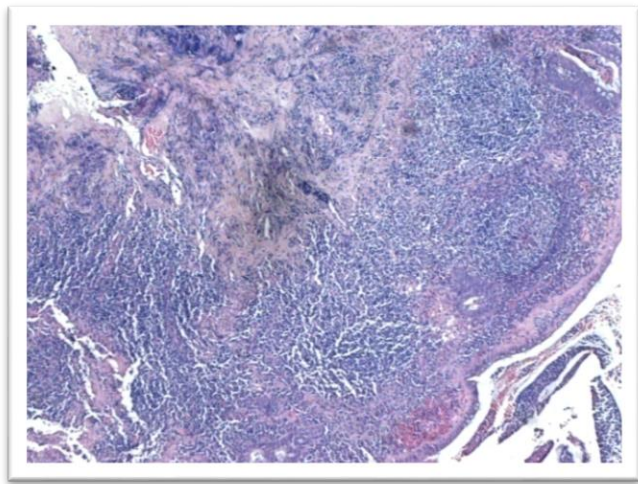
Πίνακας 1. Παρουσία CMV και χαρακτηριστικά των ιστολογικών δειγμάτων

Τομές από ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου με αιματοξυλίνη-ηωσίνη

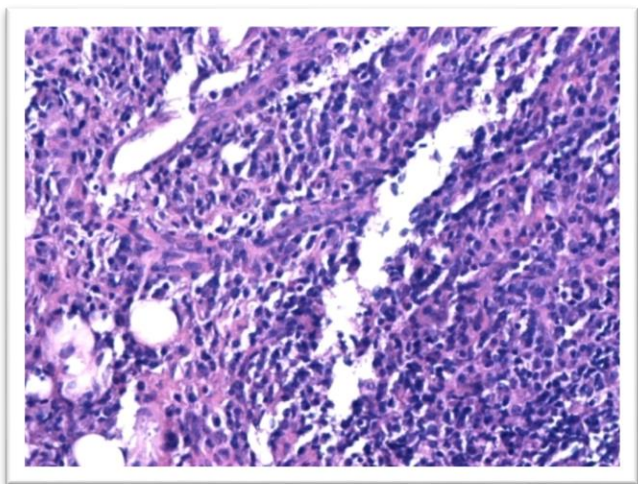
Παρακάτω παρατίθενται τομές αιματοξυλίνης-ηωσίνης από δείγματα ασθενών με ελκώδη κολίτιδα και νόσο Crohn χωρίς παρουσία παθογόνου λοιμώδους παράγοντα. Οι ασθενείς αυτοί αποτέλεσαν και την ομάδα ασθενών-μαρτύρων.



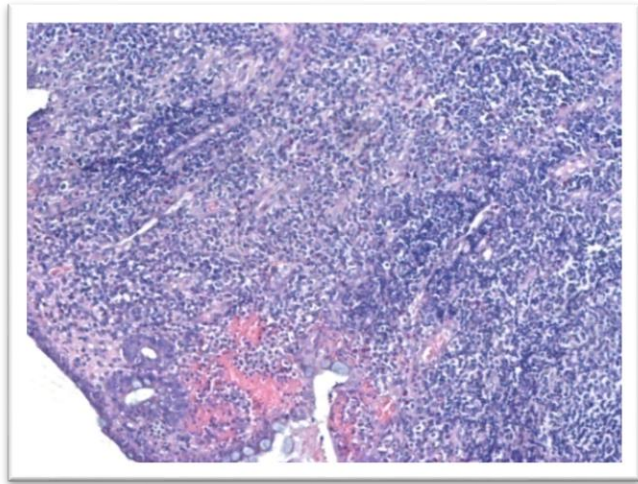
Εικόνα 24. Ασθενής με ΙΦΝΕ του τύπου v.Crohn, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x100 (ικανός αριθμός λεμφοπλασματοκυττάρων, παρουσία λεμφοζιδίων, ουδετεροφιλική διήθηση, κρυπτίτιδα, διάβρωση επιφανειακού επιθηλίου, διακρίνονται ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα)



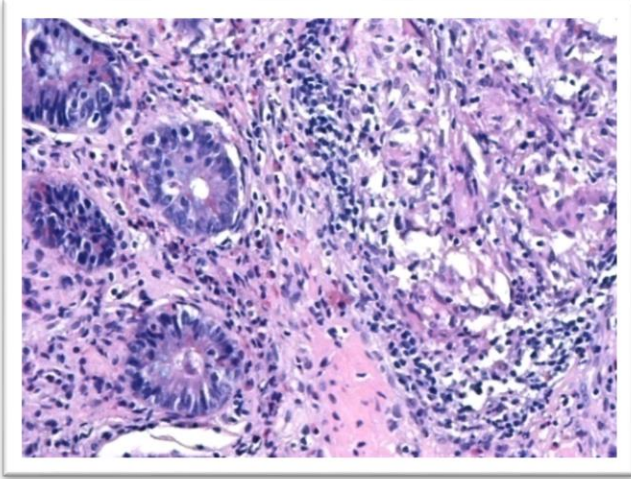
Εικόνα 26. Ασθενής με ΙΦΝΕ του τύπου v.Crohn, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x100 (ικανός αριθμός λεμφοπλασματοκυττάρων, παρουσία λεμφοζιδίων, ουδετεροφιλική διήθηση, κρυπτίτιδα, διάβρωση επιφανειακού επιθηλίου, διακρίνονται ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα)



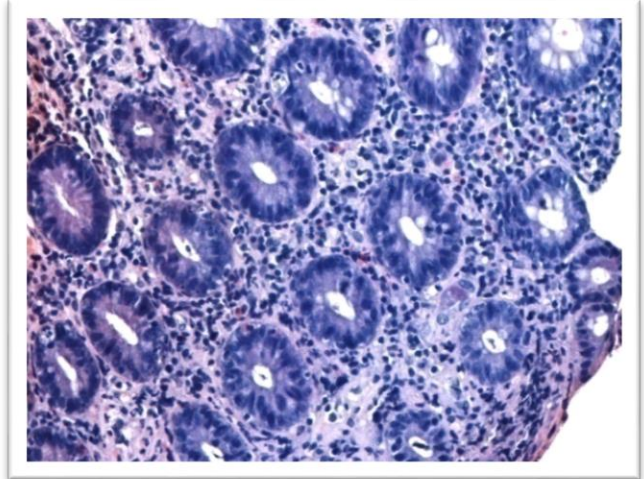
Εικόνα 25. Ασθενής με ΙΦΝΕ του τύπου v.Crohn, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200 (ικανός αριθμός λεμφοπλασματοκυττάρων, παρουσία λεμφοζιδίων, ουδετεροφιλική διήθηση, κρυπτίτιδα, διάβρωση επιφανειακού επιθηλίου, διακρίνονται ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα)



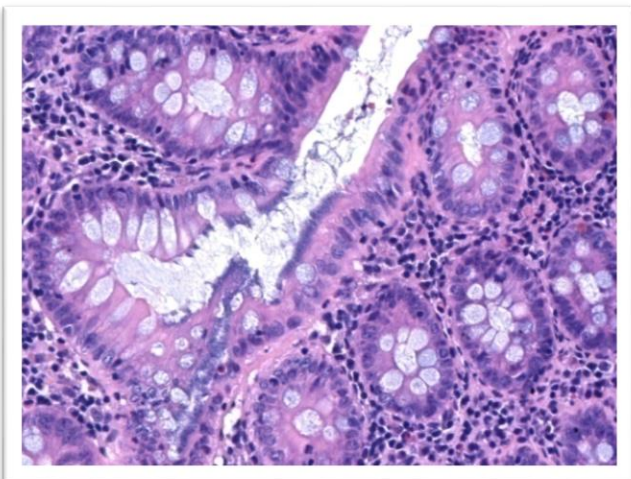
Εικόνα 27. Ασθενής με ΙΦΝΕ του τύπου v.Crohn, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x100 (ικανός αριθμός λεμφοπλασματοκυττάρων, παρουσία λεμφοζιδίων, ουδετεροφιλική διήθηση, κρυπτίτιδα, διάβρωση επιφανειακού επιθηλίου, διακρίνονται ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα)



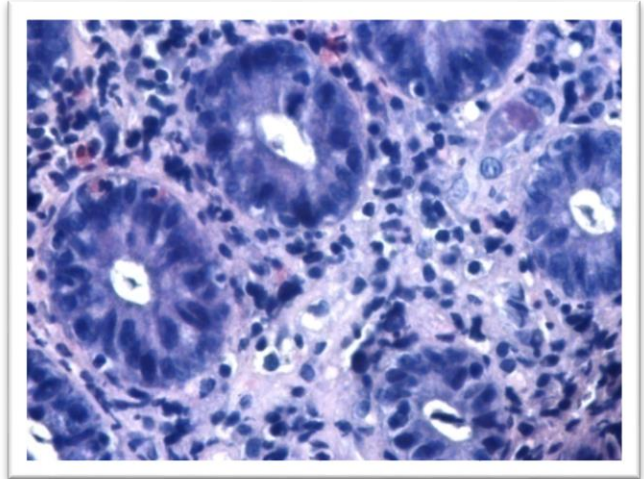
Εικόνα 28. Ασθενής με ΙΦΝΕ, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200 (κρυπτίτιδα, ουδετεροφιλική διήθηση κρυπτών)



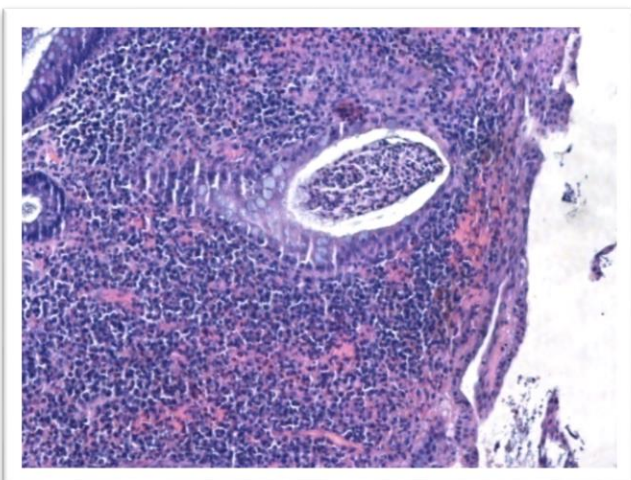
Εικόνα 31. Ασθενής με ΙΦΝΕ, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200 (κρυπτίτιδα, ουδετεροφιλική διήθηση κρυπτών)



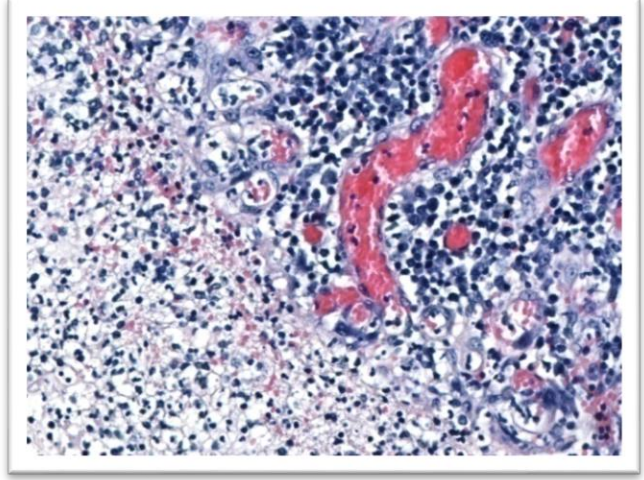
Εικόνα 29. Ασθενής με ΙΦΝΕ, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200 (κρυπτίτιδα, ουδετεροφιλική διήθηση κρυπτών)



Εικόνα 32. Ασθενής με ΙΦΝΕ, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200 (κρυπτίτιδα, ουδετεροφιλική διήθηση κρυπτών)



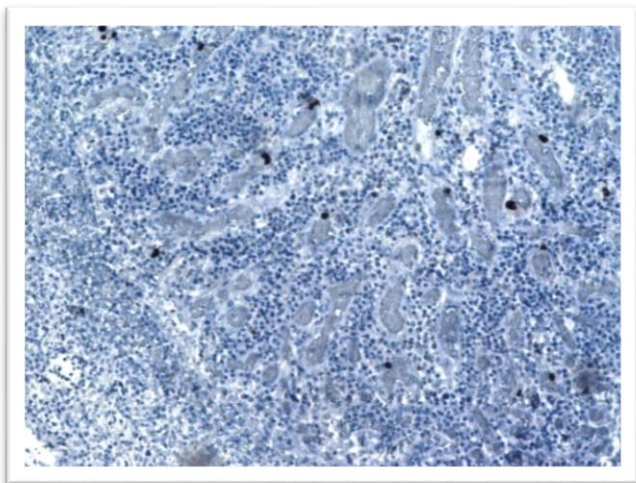
Εικόνα 30. Ασθενής με ΙΦΝΕ, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x100 (παρουσία κρυπτικών αποστημάτων, διακρίνεται ομάδα ουδετεροφίλων εντός του αυλού των αδενίων)



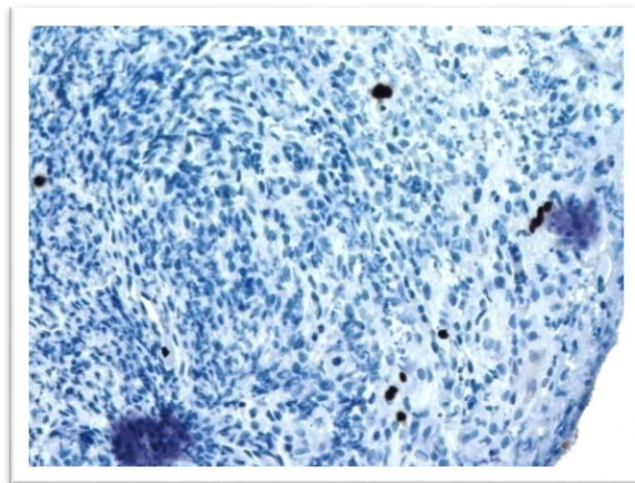
Εικόνα 33. Ασθενής με ΙΦΝΕ, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200 (αποστημάτια, λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση με συμμετοχή ηωσινοφίλων πολυμορφοκυττάρων και υπεραιμία τριχοειδών αγγείων)

Τομές από ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου με θετικό ανοσοϊστοχημικό έλεγχο για CMV

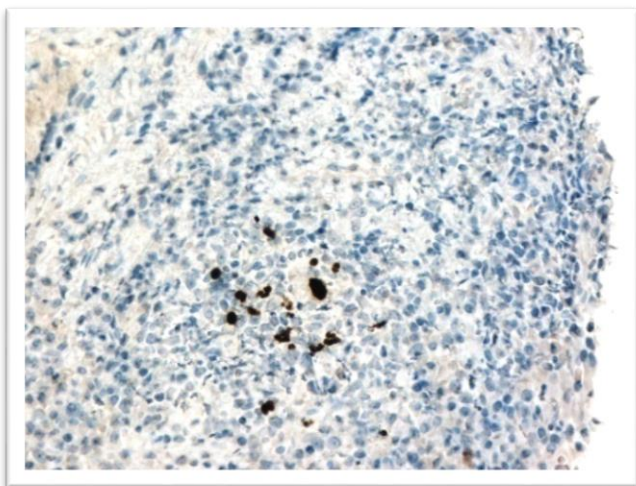
Οι παρακάτω εικόνες προέρχονται από τομές όπου έγινε έλεγχος για παρουσία CMV και καταδείχθηκε η παρουσία θετικών πυρήνων που αντιστοιχούν σε πυρηνικά έγκλειστα του κυτταρομεγαλοϊού. Οι ασθενείς στους οποίους ανήκαν οι τομές με παρουσία CMV αποτέλεσαν την ομάδα που συγκρίθηκε με την ομάδα ασθενών-μαρτύρων.



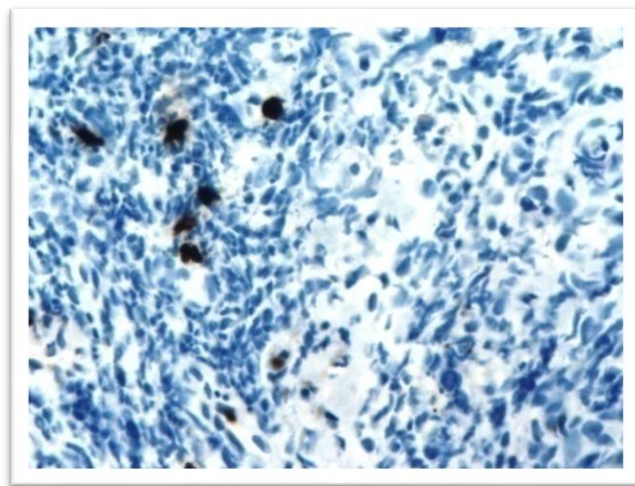
Εικόνα 34. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x200 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού)



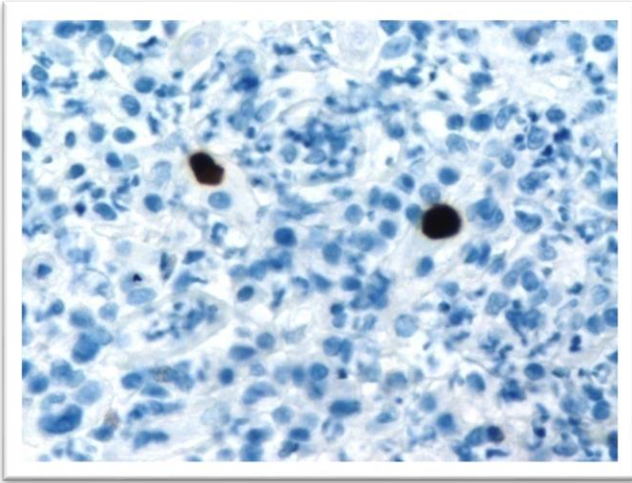
Εικόνα 36. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x200 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού)



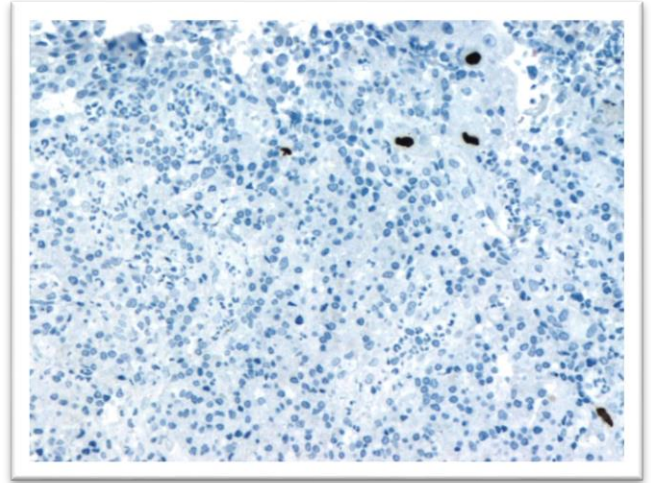
Εικόνα 35. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x200 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού)



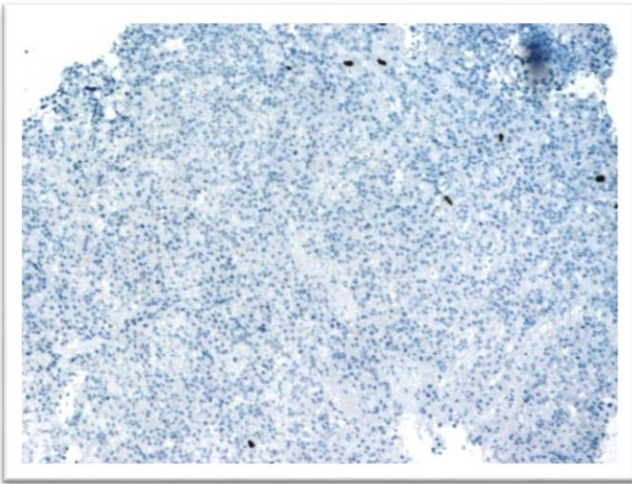
Εικόνα 37. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x400 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού)



Εικόνα 38. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x400 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού)



Εικόνα 40. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x200 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού)

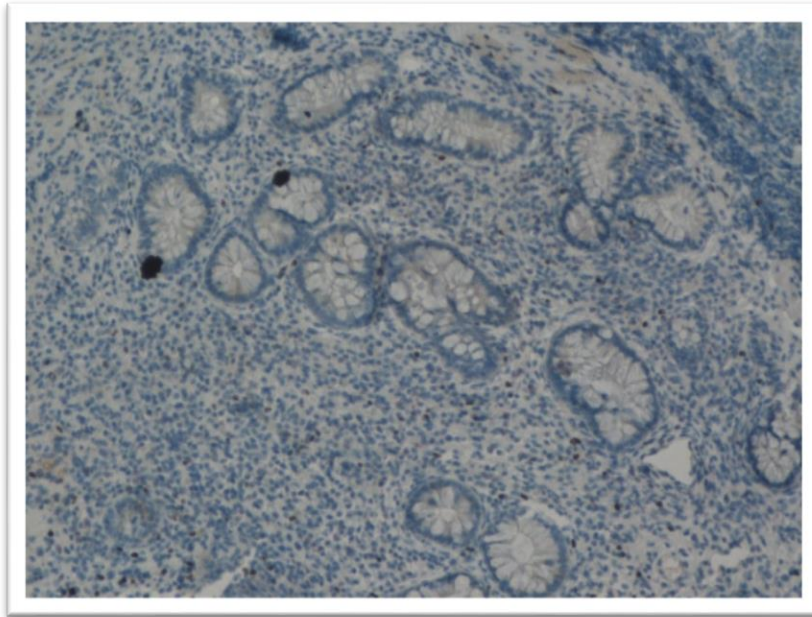


Εικόνα 39. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x200 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού)

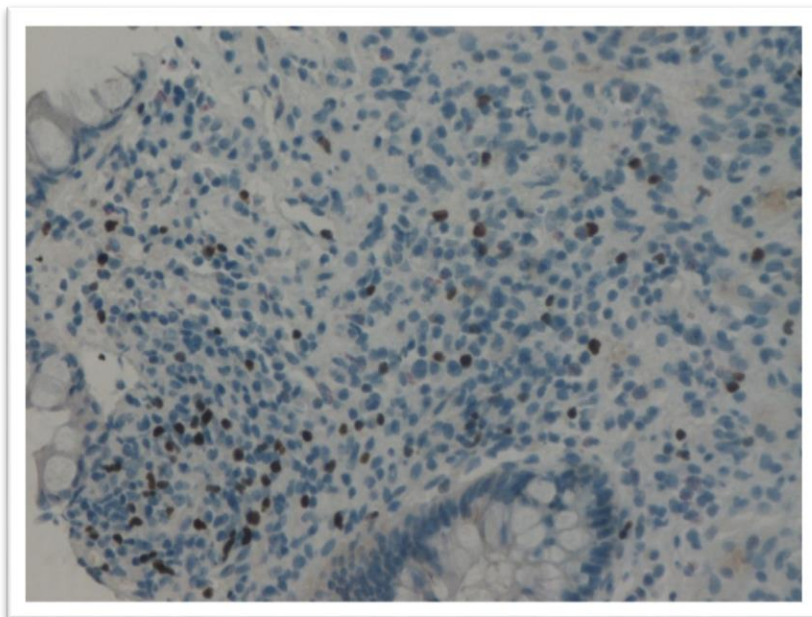
Τομές με πολυκλωνικό αντίσωμα για Foxp3

Οι τομές των ασθενών και των δυο ομάδων (της ομάδας ασθενών-μαρτύρων με ΙΦΝΕ χωρίς παρουσία παθογόνου λοιμώδους παράγοντα και της ομάδας των ασθενών με ΙΦΝΕ και αποδεδειγμένη παρουσία CMV) μελετήθηκαν ανοσοϊστοχημικά με το πολυκλωνικό αντίσωμα για Foxp3 για να ποσοτικοποιηθεί η παρουσία των T ρυθμιστικών κυττάρων (Tregs) στον ιστό.

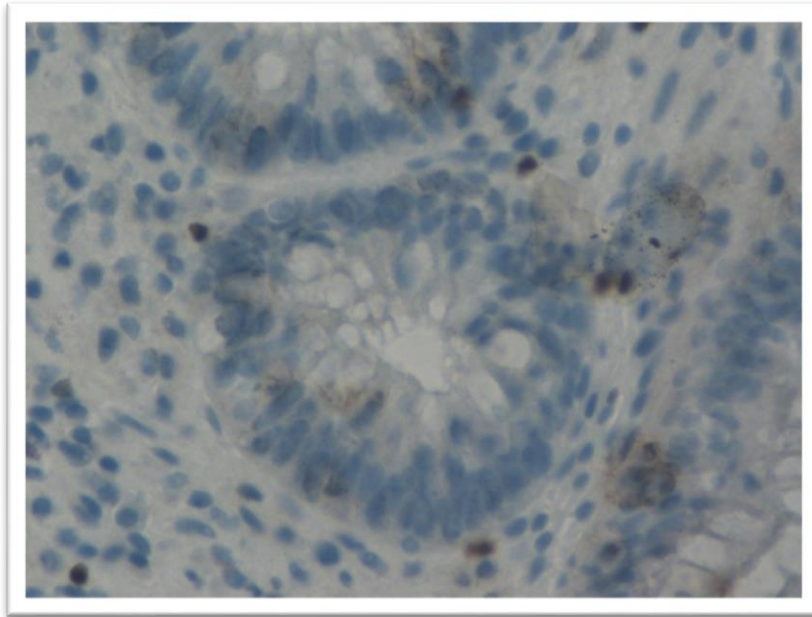
Παρακάτω παρατίθενται εικόνες από τις τομές, επεξεργασμένες ανοσοϊστοχημικά με το αντίσωμα για Foxp3, άλλες με μεγαλύτερη παρουσία Tregs και άλλες με μικρότερη.



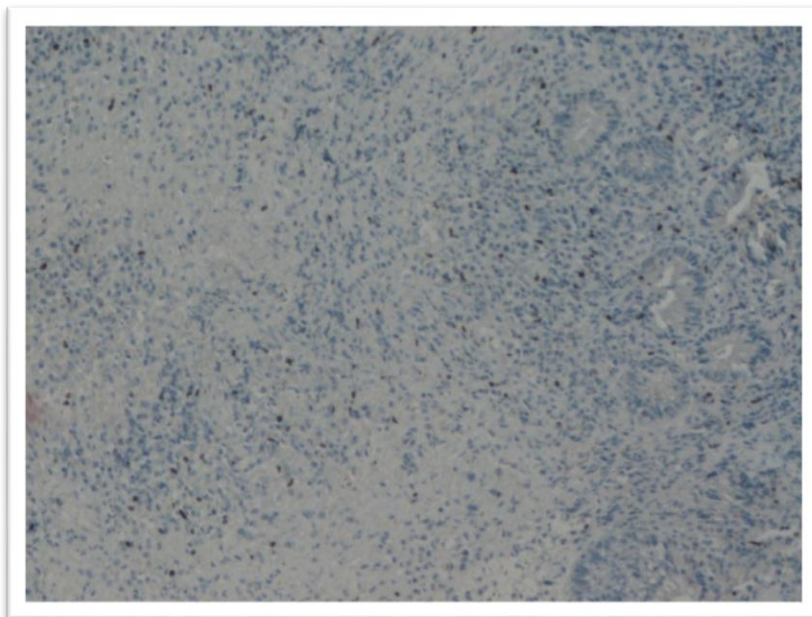
Εικόνα 41. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100



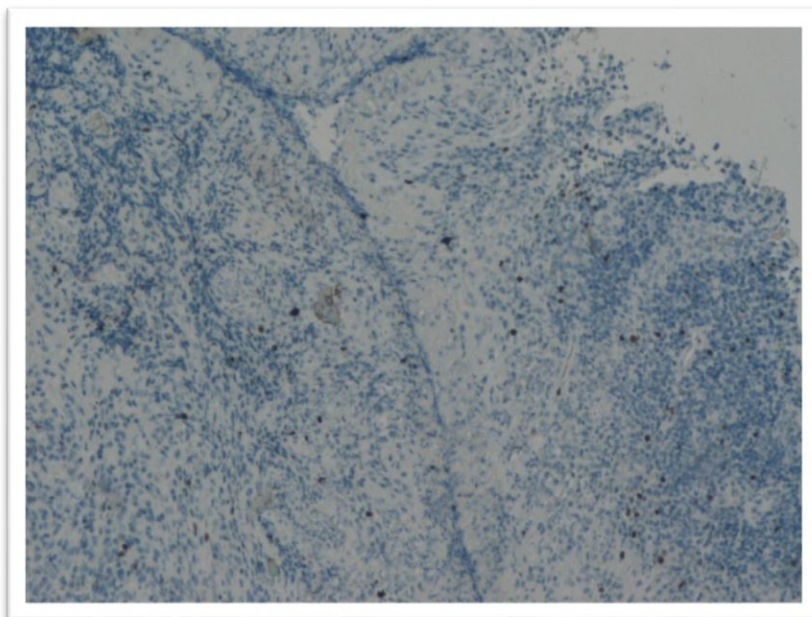
Εικόνα 42. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



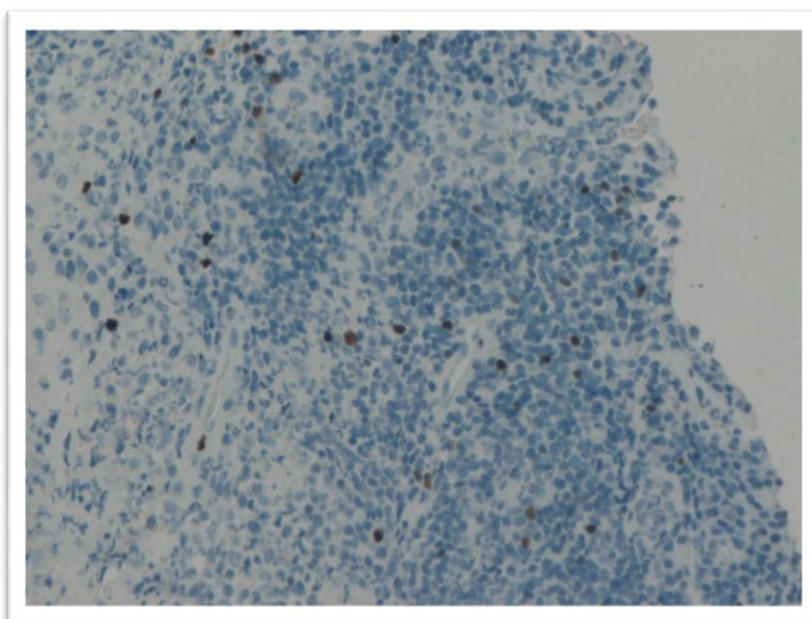
Εικόνα 43. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x400



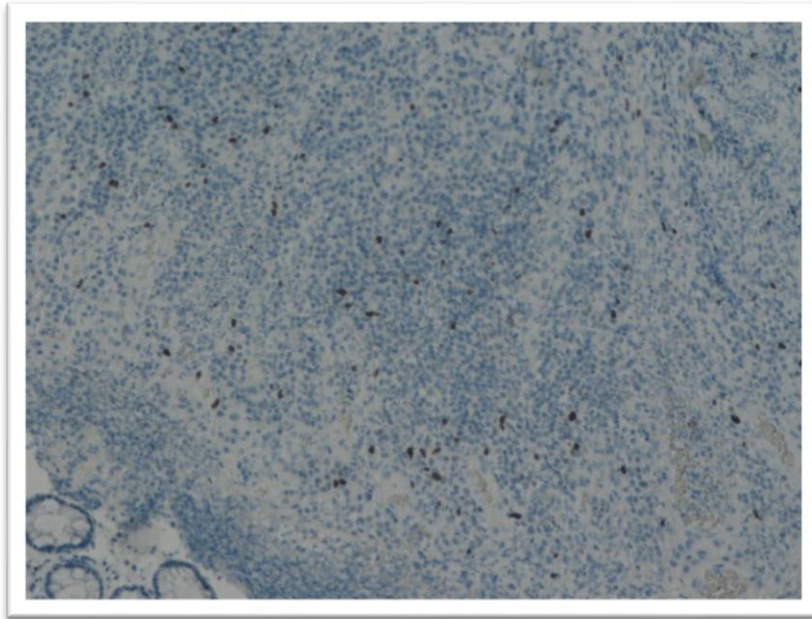
Εικόνα 44. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100



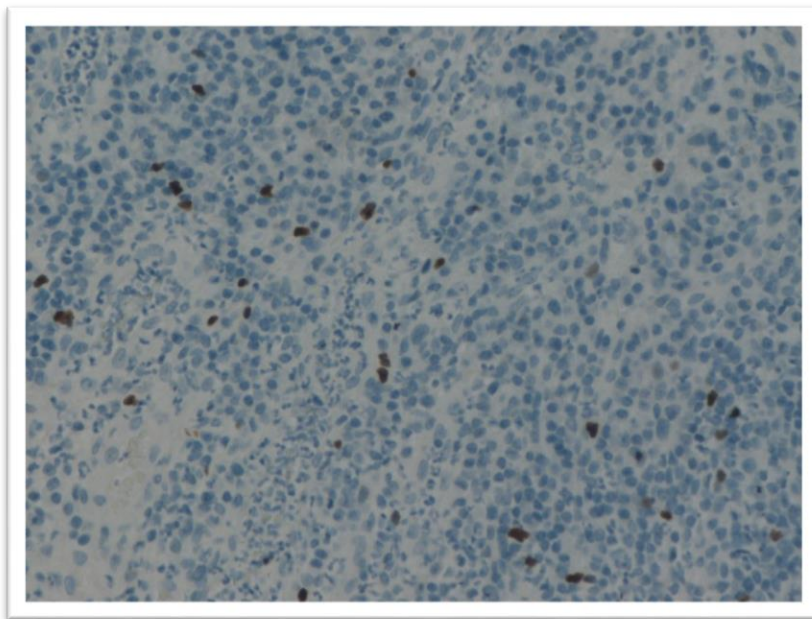
Εικόνα 45. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100



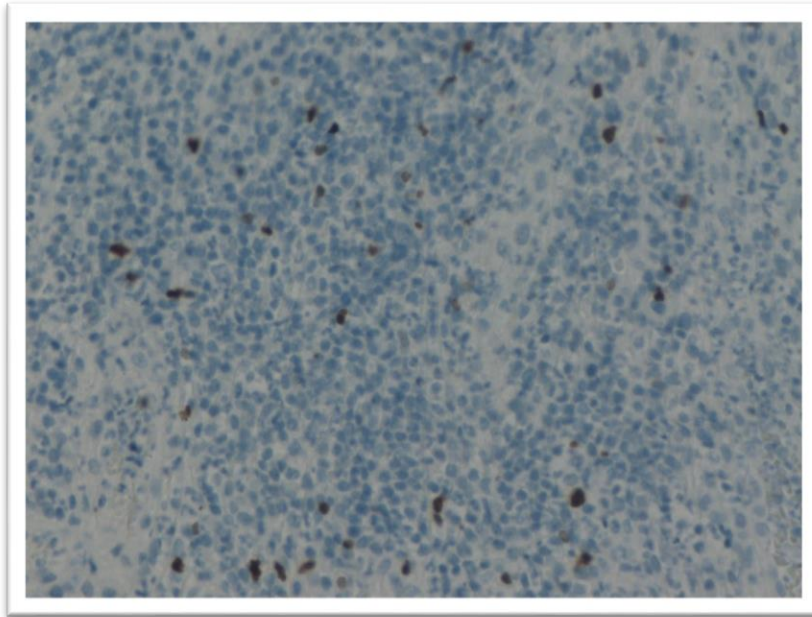
Εικόνα 46. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



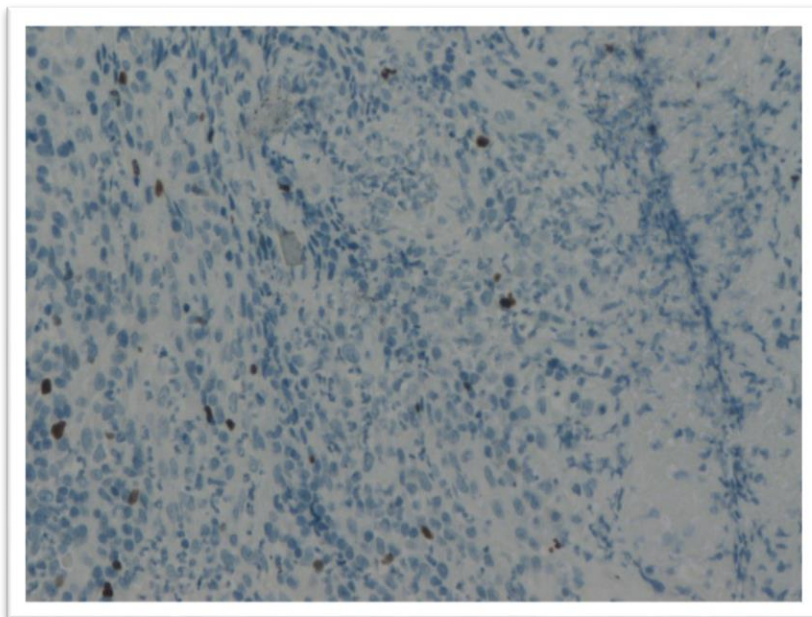
Εικόνα 47. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100



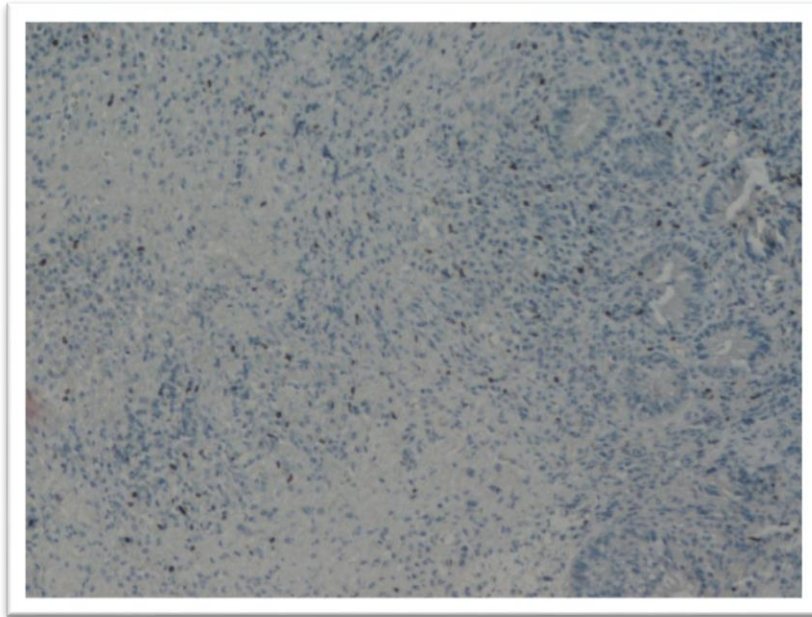
Εικόνα 48. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



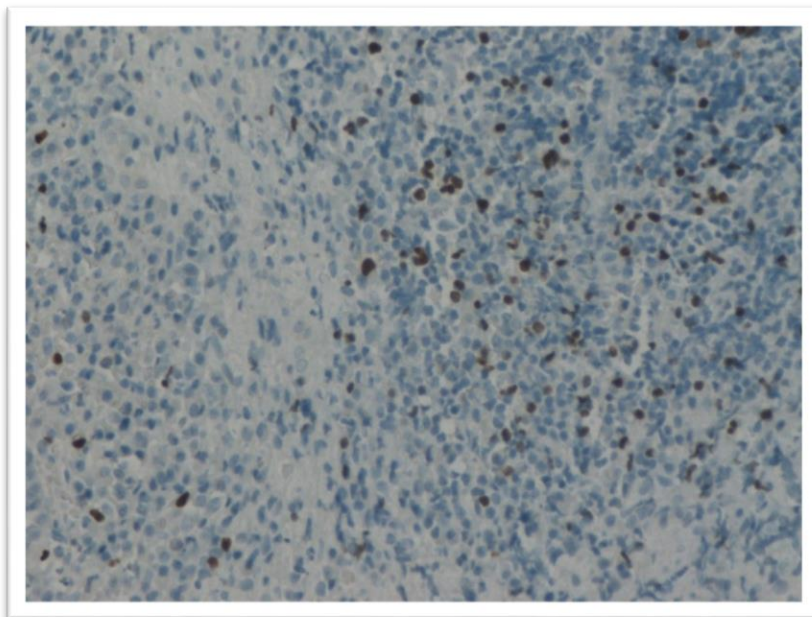
Εικόνα 49. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



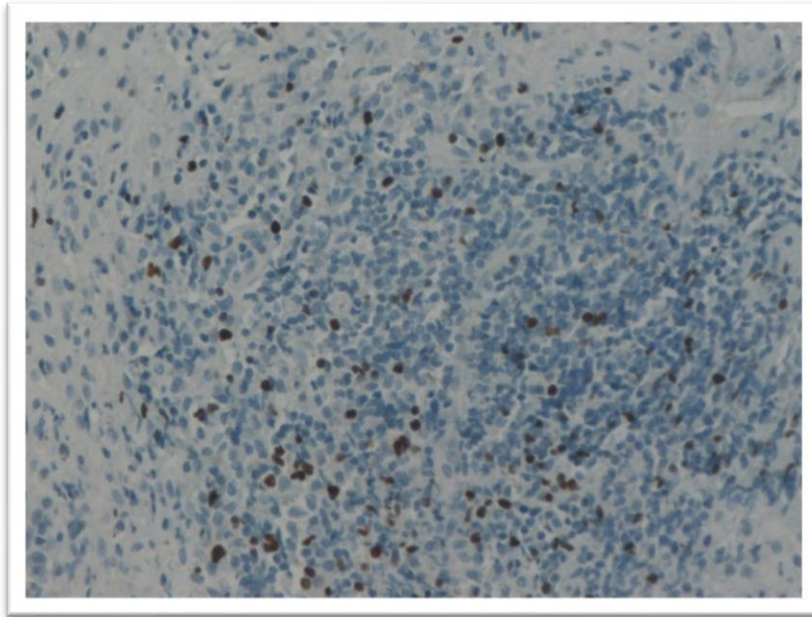
Εικόνα 50. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



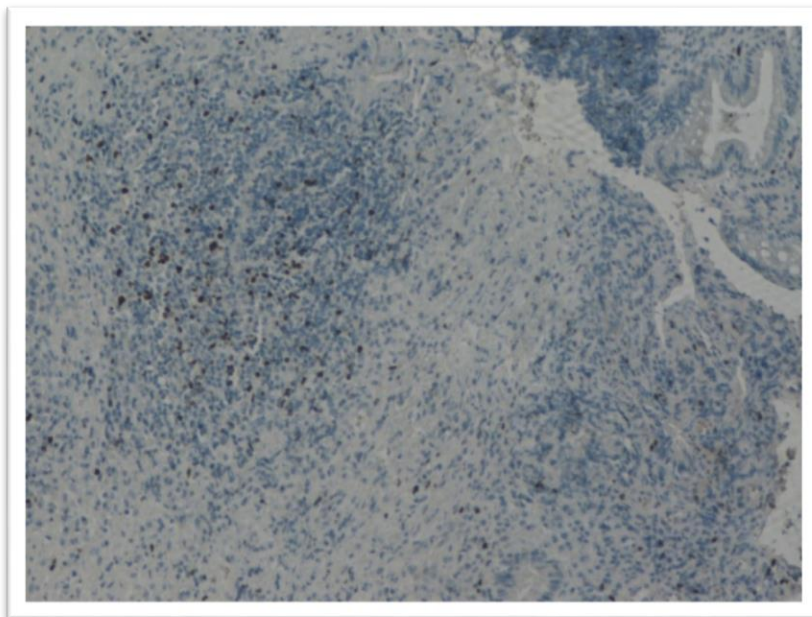
Εικόνα 51. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100



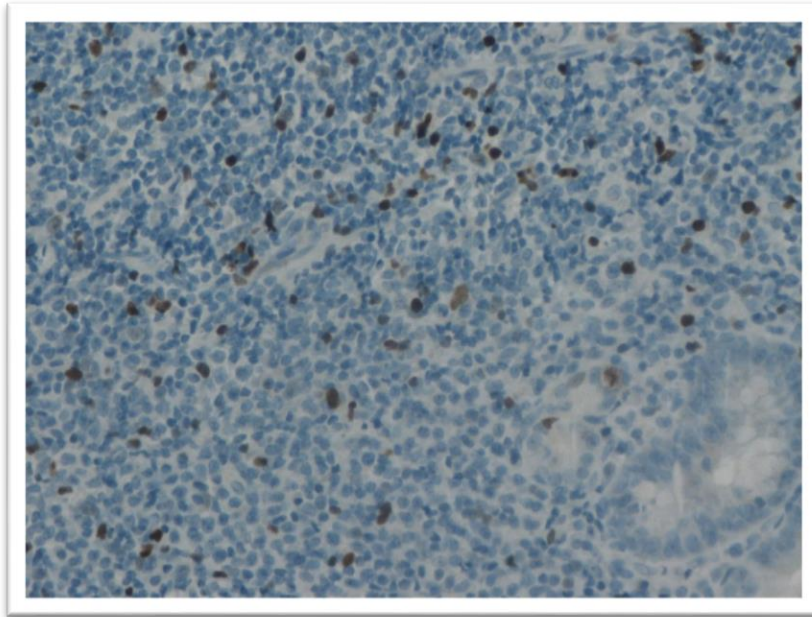
Εικόνα 52. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



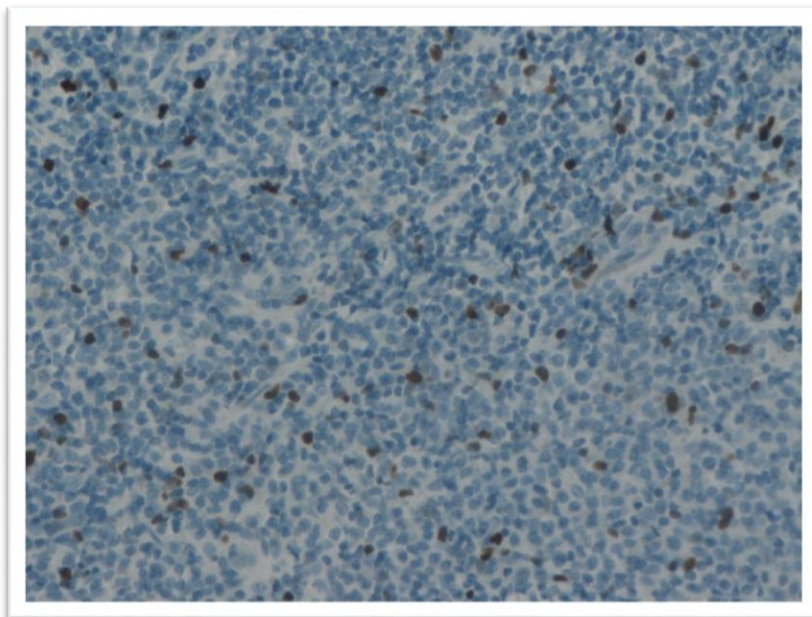
Εικόνα 53. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



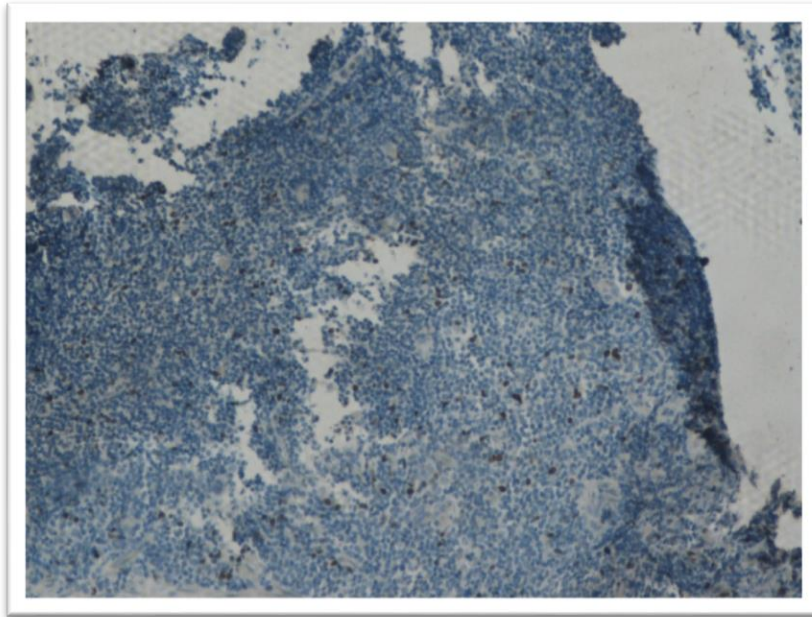
Εικόνα 54. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100



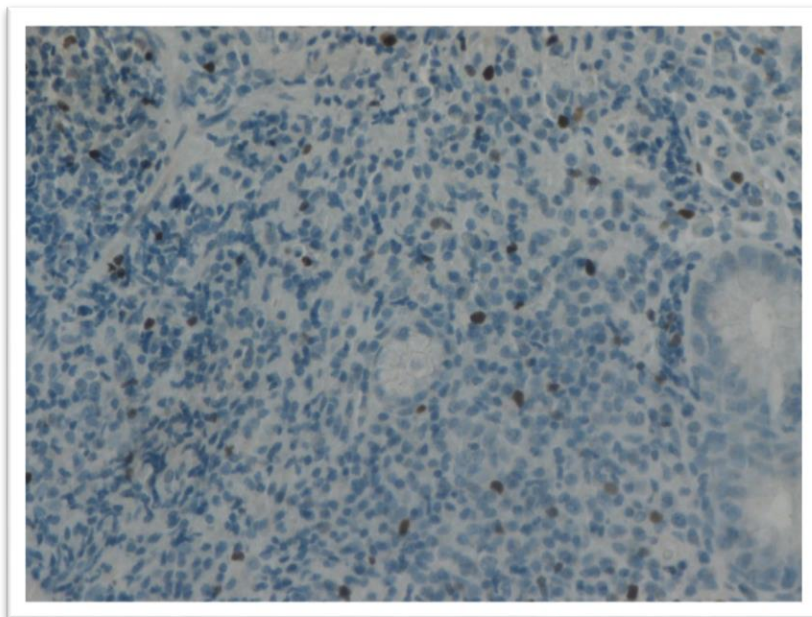
Εικόνα 55. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



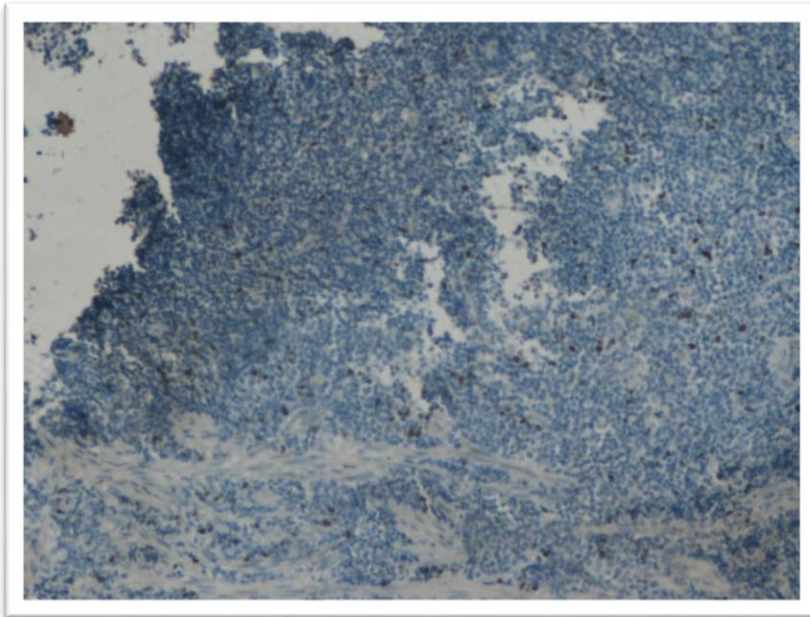
Εικόνα 56. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



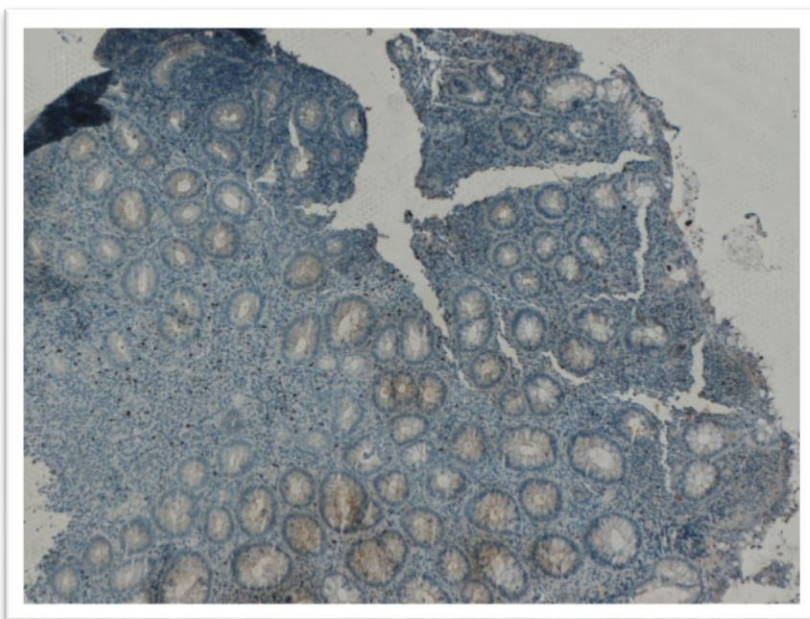
Εικόνα 57. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100



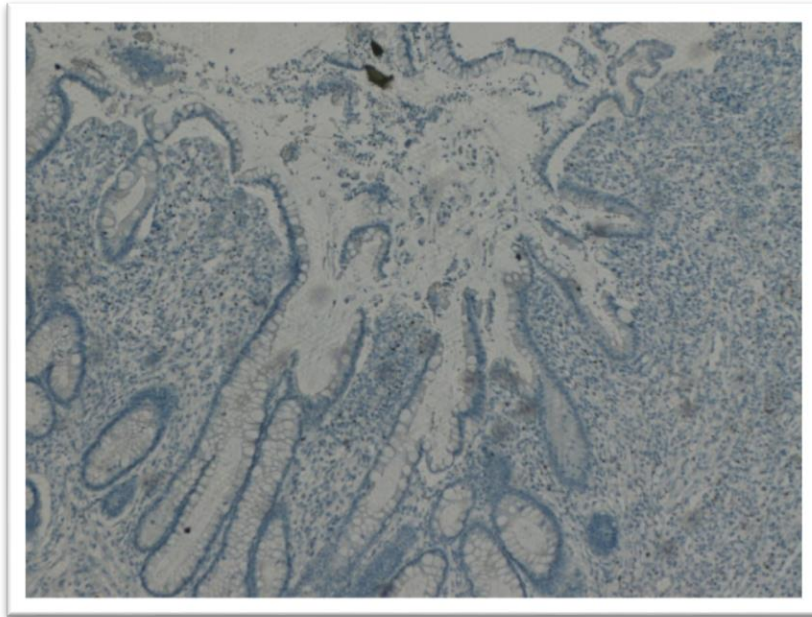
Εικόνα 58. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



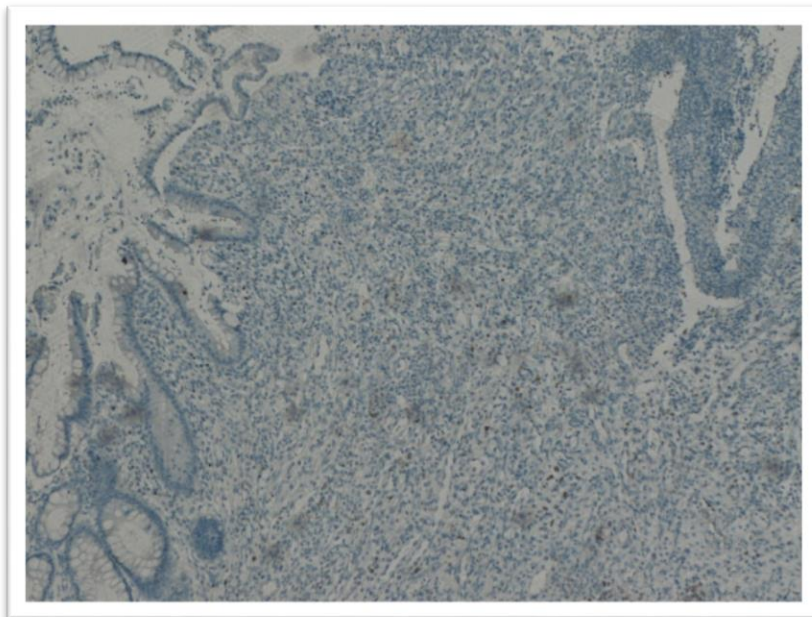
Εικόνα 59. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100



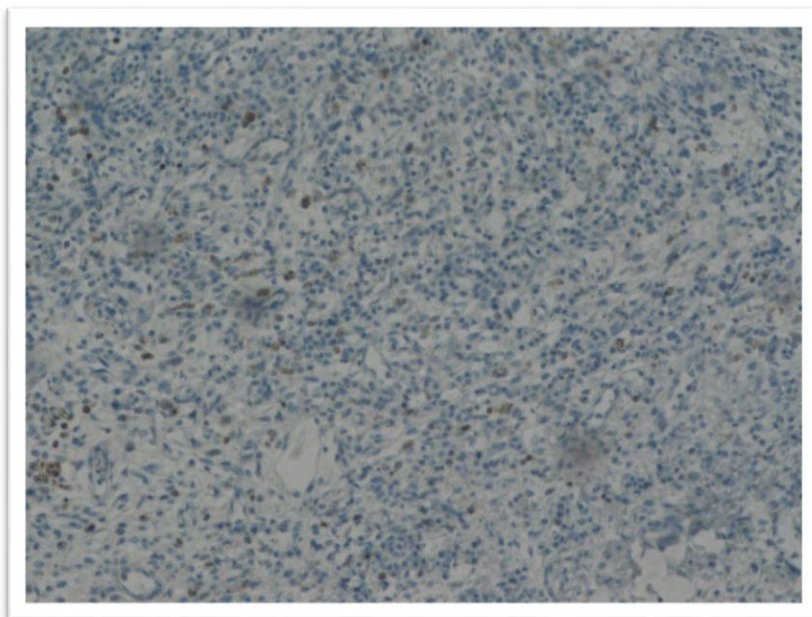
Εικόνα 60. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100



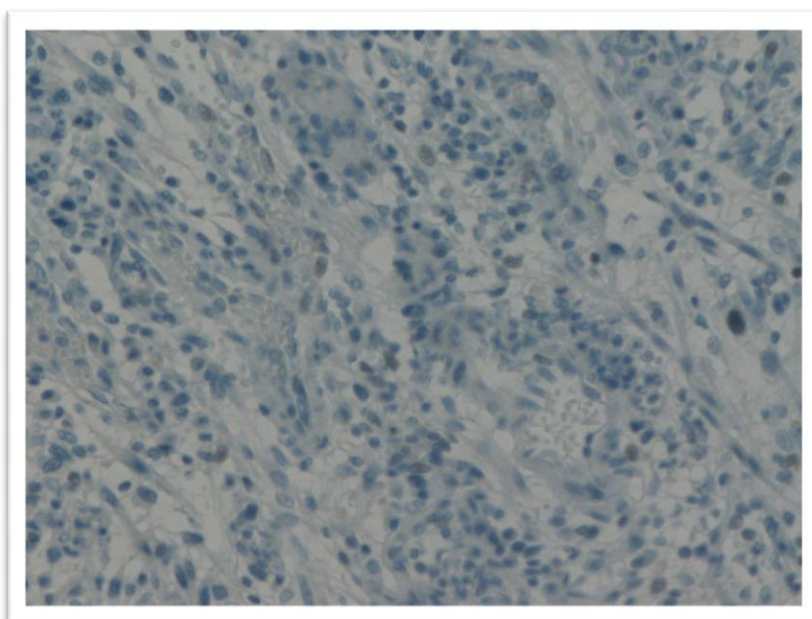
Εικόνα 61. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100



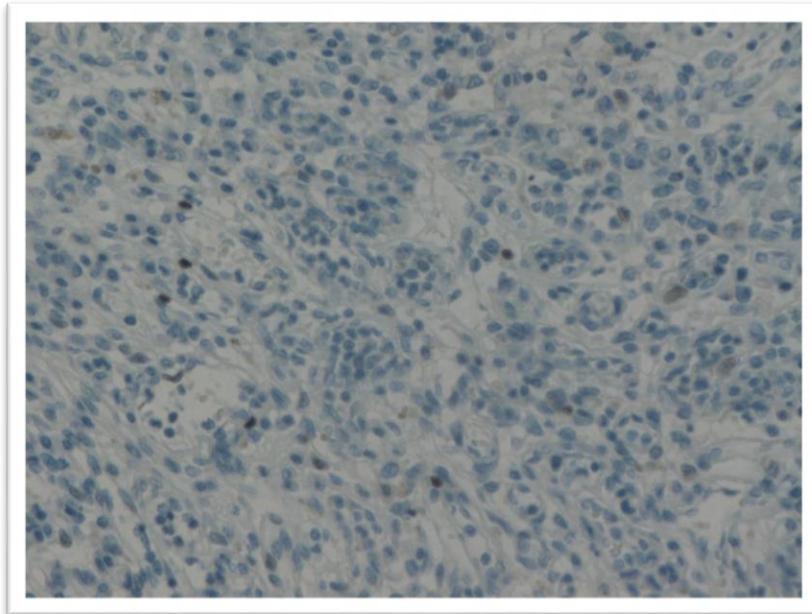
Εικόνα 62. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100



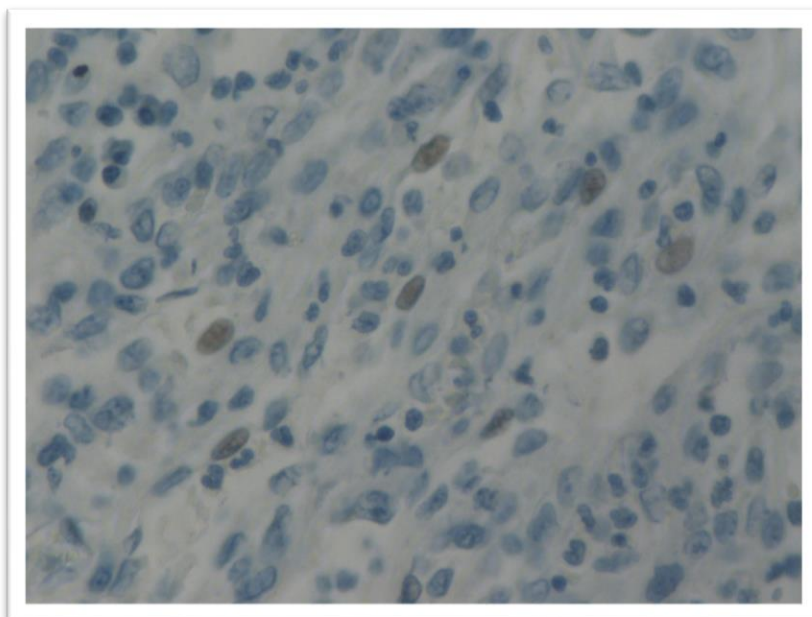
Εικόνα 63. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



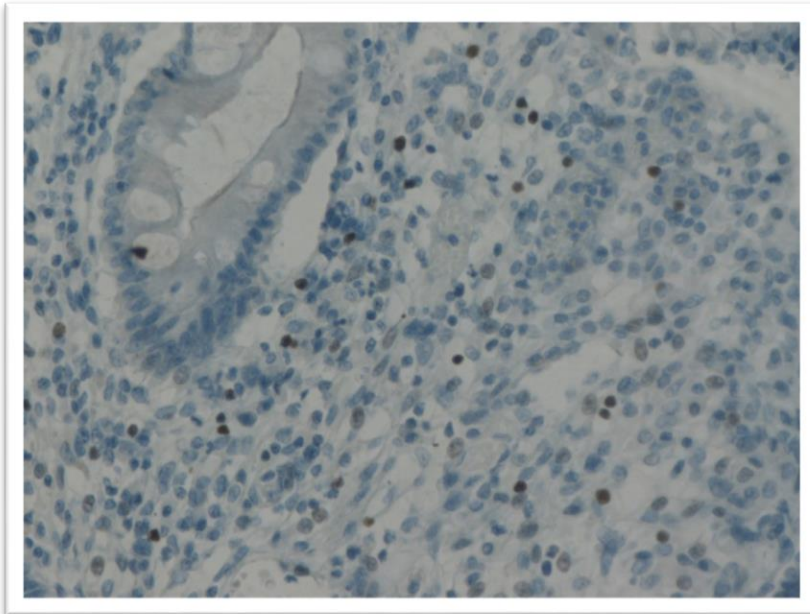
Εικόνα 64. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x400



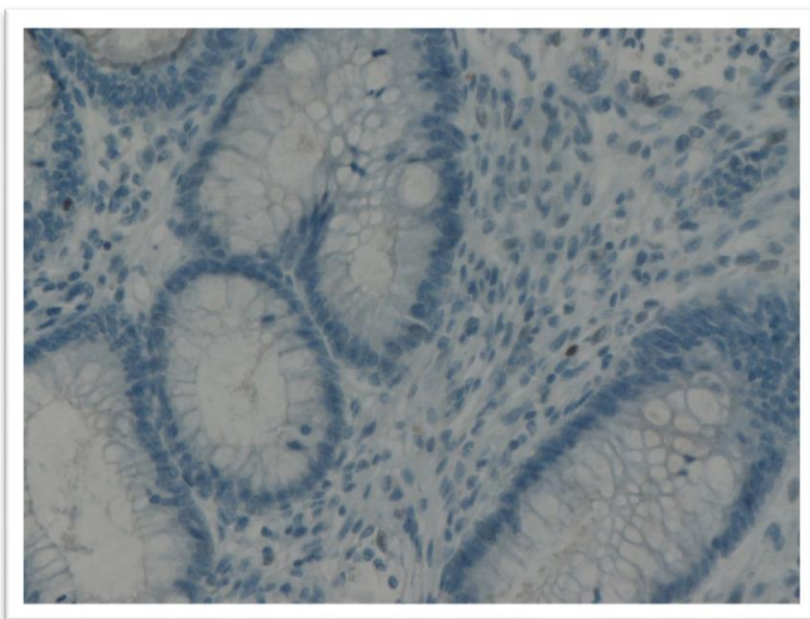
Εικόνα 65. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



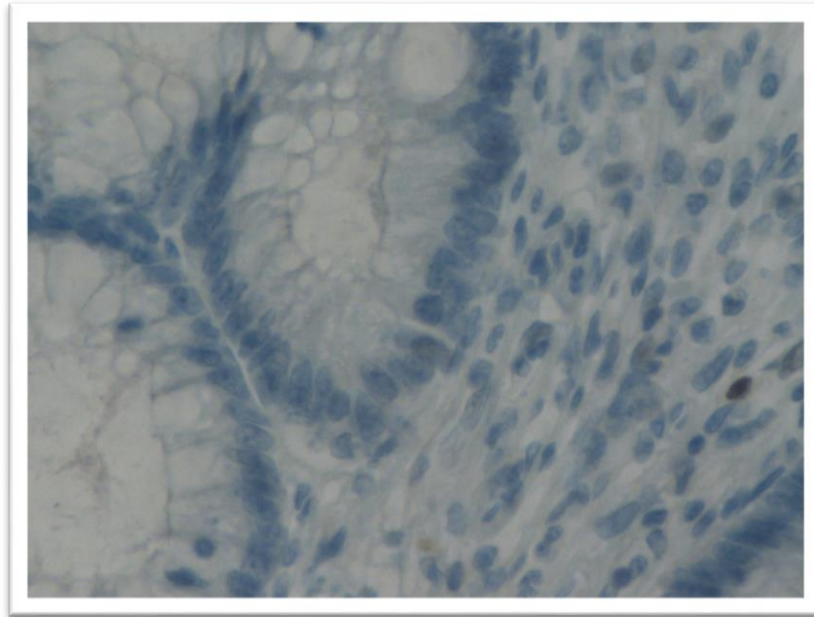
Εικόνα 66. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x400



Εικόνα 67. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



Εικόνα 68. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200



Εικόνα 69. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x400

Συσχέτιση αριθμού T ρυθμιστικών κυττάρων με την παρουσία CMV

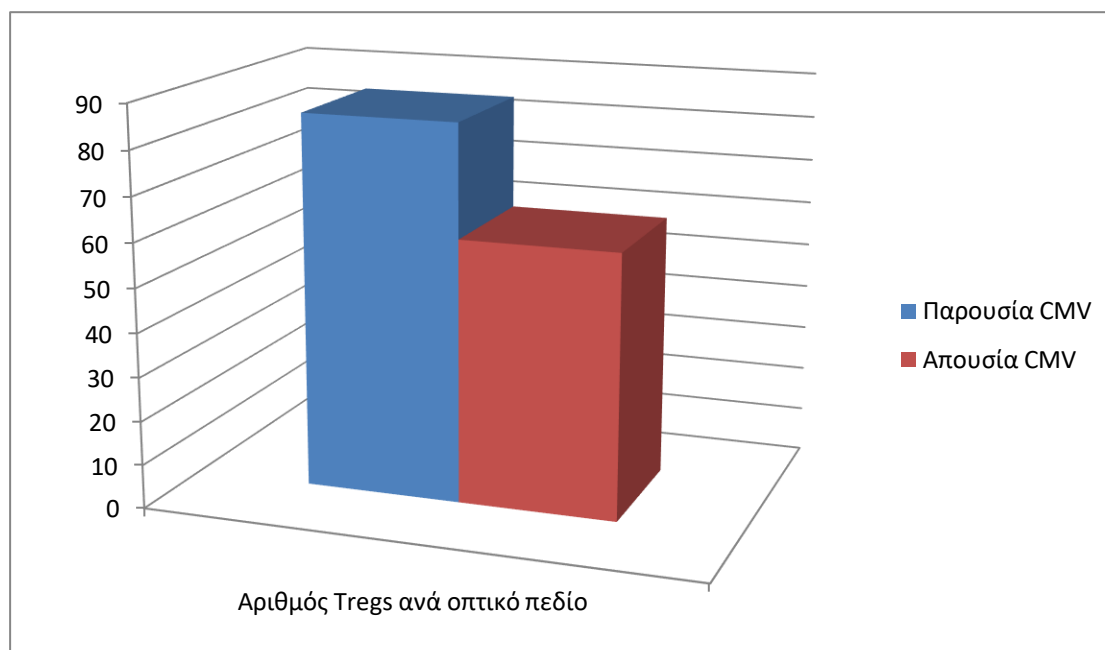
Η στατιστική μελέτη των δεδομένων που προέκυψαν από τη μέτρηση των αντίστοιχων κυττάρων στο οπτικό μικροσκόπιο κατέδειξε ότι η έκφραση της Foxp3 και ως εκ τούτου ο αριθμός των T ρυθμιστικών κυττάρων συσχετίζεται με την παρουσία του κυτταρομεγαλοϊού στα δείγματα που εξετάστηκαν.

Πιο συγκεκριμένα, μεγαλύτερη ποσότητα Tregs ανιχνεύθηκε σε δείγματα ασθενών όπου η ιδιοπαθής φλεγμονώδης εντερική νόσος συνυπήρχε με CMV ($p=0,041$). Κατά μέσο όρο απαριθμήθηκαν 85,25 Tregs ανά 10 οπτικά πεδία στα ιστολογικά δείγματα ασθενών με ΙΦΕΝ και παρουσία CMV. Αντίθετα, σε ιστούς από ασθενείς με ΙΦΕΝ χωρίς παρουσία παθογόνου λοιμώδους παράγοντα μετρήθηκαν 59,86 Tregs.

Στις εικόνες που προηγήθηκαν περιλαμβάνονται εικόνες από τομές και των δυο ομάδων δειγμάτων με λίγα ή περισσότερα Tregs ορατά με τη χρώση του πολυκλωνικού αντισώματος.

Παρατίθεται το γράφημα που απεικονίζει τη διαφορά στον αριθμό των Tregs μεταξύ των δυο μελετώμενων ομάδων.

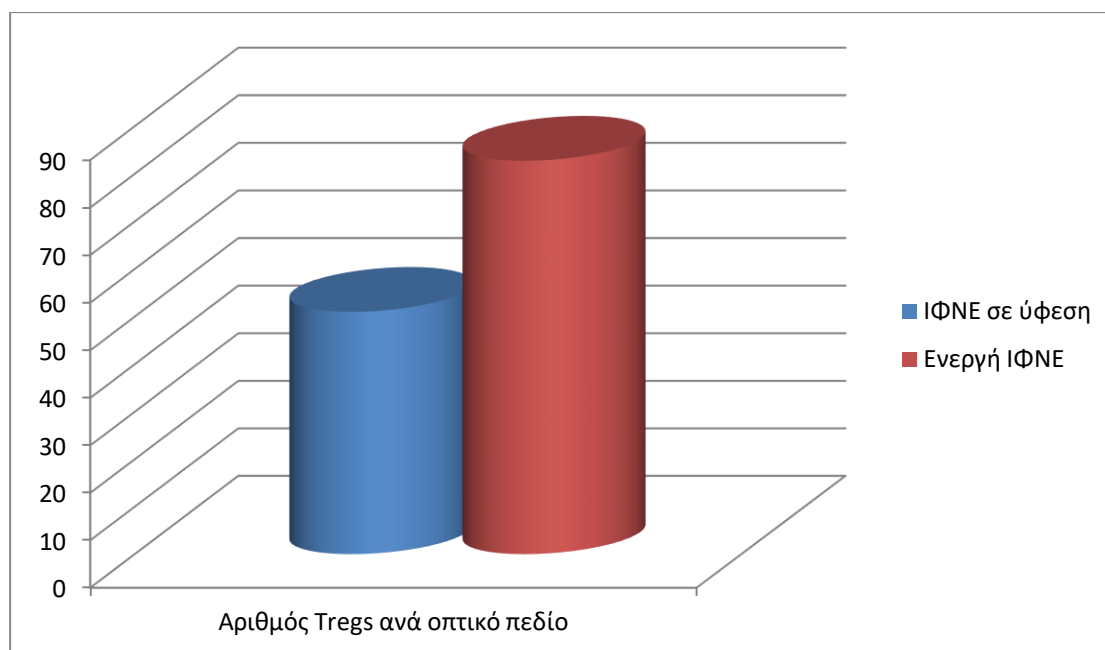
Γράφημα 1. Συσχέτιση παρουσίας CMV με αριθμό Tregs ανά οπτικό πεδίο



Συσχέτιση αριθμού T ρυθμιστικών κυττάρων με ενεργότητα Ιδιοπαθούς φλεγμονώδους νόσου του εντέρου

Μελετήθηκε επίσης η επίδραση και άλλων παραμέτρων, όπως η ενεργότητα της ιδιοπαθούς φλεγμονώδους νόσου και η αυξημένη παρουσία ηωσινοφίλων, στην αύξηση του αριθμού των Tregs στους ιστούς. Αυξημένη ποσότητα Tregs ανιχνεύθηκε σε ασθενείς με ιστολογικά ευρήματα ενεργούς ΙΦΝΕ, σε αντίθεση με τα δείγματα ασθενών που η νόσος τους ήταν σε φάση ύφεσης, σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ($p=0,014$). Κατά μέσο όρο ανιχνεύθηκαν 51,01 Tregs ανά οπτικό πεδίο στα δείγματα ασθενών με ΙΦΝΕ σε ύφεση και 82,75 Tregs σε ασθενείς με ενεργή νόσο.

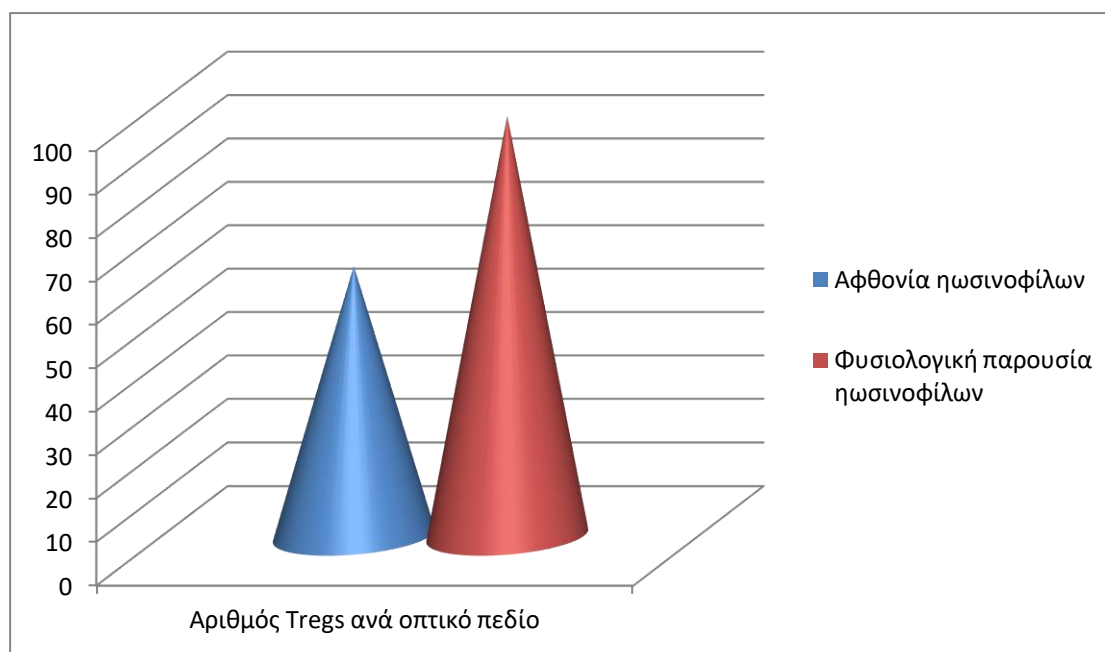
Γράφημα 2. Συσχέτιση ενεργότητας ΙΦΝΕ με αριθμό Tregs ανά οπτικό πεδίο



Συσχέτιση αυξημένης παρουσίας ηωσινοφίλων με αριθμό T ρυθμιστικών κυττάρων

Επίσης, οι βιοψίες από ασθενείς με εκσεσημασμένη παρουσία ηωσινοφίλων ανέδειξαν χαμηλό αριθμό Tregs, σε αντίθεση με δείγματα που δεν παρουσίαζαν αφθονία ηωσινοφίλων σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ($p=0,037$). Κατά μέσο όρο στα δείγματα με αφθονία ηωσινοφίλων μετρήθηκαν 62 Tregs ανά οπτικό πεδίο και 96,67 Tregs στα δείγματα ασθενών με φυσιολογική παρουσία ηωσινοφίλων.

Γράφημα 3. Συσχέτιση ποσότητας ηωσινοφίλων με αριθμό Tregs ανά οπτικό πεδίο



Επιμέρους συσχέτιση ενεργότητας Ιδιοπαθούς φλεγμονώδους εντερικής νόσου με την παρουσία CMV

Στα πλαίσια της στατιστικής ανάλυσης μελετήθηκε κατά πόσο οι μελετούμενες παράμετροι των δειγμάτων συσχετίζονταν μεταξύ τους. Ωστόσο, η ενεργότητα της ΙΦΝΕ στους ασθενείς δε φάνηκε να συσχετίζεται με τυχόν παρουσία CMV στους αντίστοιχους ιστούς (p=0,855).

Πίνακας 4. Συσχέτιση παρουσίας CMV με ενεργότητα ΙΦΝΕ

	Απουσία CMV	Παρουσία CMV	Σύνολο
ΙΦΝΕ σε ύφεση	11 (55,0%)	9 (45,0%)	20 (100,0%)
Ενεργή ΙΦΝΕ	20 (48,8%)	21 (51,2%)	41 (100,0%)
Σύνολο	31 (50,8%)	30 (49,2%)	61 (100,0%)

Συσχέτιση αυξημένης παρουσίας ηωσινοφίλων με ενεργότητα Ιδιοπαθούς φλεγμονώδους εντερικής νόσου

Η παρουσία ηωσινοφίλων δε φάνηκε να συσχετίζεται με την ενεργότητα της ΙΦΝΕ στους ασθενείς (p=1,00).

Πίνακας 5. Συσχέτιση παρουσίας ηωσινοφίλων με ενεργότητα ΙΦΝΕ

	ΙΦΝΕ σε ύφεση	Ενεργή ΙΦΝΕ	Σύνολο
Φυσιολογική παρουσία ηωσινοφίλων	6 (31,6%)	13 (68,4%)	19 (100,0%)
Αύξηση ηωσινοφίλων	15 (35,7%)	27 (64,3%)	42 (100,0%)
Σύνολο	21 (34,3%)	40 (65,6%)	61 (100,0%)

Σύνοψη συσχετιζόμενων παραμέτρων σε βαθμό στατιστικά σημαντικό

Οι P values των στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων με τον αριθμό των T ρυθμιστικών κυττάρων που ανέδειξε η στατιστική ανάλυση συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 6. P values στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων

Παράγοντες	P value (έκφραση της Foxp3 στις εντερικές βιοψίες)
CMV	0.041
Ενεργότητα ΙΦΝΕ	0.014
Ηωσινοφιλία	0.037

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα Τ ρυθμιστικά κύτταρα αναπτύσσονται κυρίως στο θύμο αδένα (ειδικότερα τα συγκεκριμένα καλούνται και natural Tregs-nTregs) και καθοδηγούν την ανάπτυξη ανοσολογικών απαντήσεων σε αυτοαντιγόνα, αλλεργιογόνα και αντιγόνα της φυσιολογικής χλωρίδας του οργανισμού, όπως επίσης και την ανοσολογική ομοιόσταση του οργανισμού έναντι λοιμωδών παραγόντων και όγκων. Πολλές ιστοειδικές φλεγμονώδεις απαντήσεις εξαρτώνται από την ποσότητα και την ανταπόκριση των Tregs. (87)

Η λειτουργία και ο πολλαπλασιασμός των Tregs μπορεί έμμεσα να μετρηθεί ανιχνεύοντας την πρωτεΐνη Foxp3 (forkhead box protein 3), η οποία αποτελεί έναν μεταγραφικό παράγοντα ειδικό για τα Τ ρυθμιστικά κύτταρα. Το χαμηλό επίπεδο Tregs στον οργανισμό εξαιτίας μεταλλάξεων του γονιδίου της Foxp3 οδηγεί σε ανοσολογικής αιτιολογίας φλεγμονώδεις νόσους. (88)

Τα CD4+CD25+Foxp3+ ρυθμιστικά κύτταρα (Tregs) απαρτίζουν το 5-10% των CD4+ Τ κυττάρων και παράγουν πολλές αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως η IL-10, ο TGF-β και η IL-35. Τα Tregs αναστέλλουν περισσότερο παρά ευοδώνουν τη δράση των τοπικών κυττάρων του ανοσολογικού συστήματος μέσω ενός μηχανισμού επαφής. Η κατασταλτική λειτουργία των Tregs διαμεσολαβείται με πολλούς διαφορετικούς μηχανισμούς.

- Πρώτα από όλα, όπως σημειώθηκε παραπάνω, τα Tregs παράγουν κατασταλτικές κυτοκίνες, όπως η IL-10 και ο TGF-β.
- Επίσης, ο υψηλής συγγένειας υποδοχέας της IL-2 εκφράζεται από τα Tregs, επομένως τα Tregs μπορούν να προσδεθούν στον αυξητικό παράγοντα των Τ κυττάρων, την IL-2, από το κυτταρικό περιβάλλον και να την εμποδίσουν να δράσει ενεργά στα τοπικά προφλεγμονώδη κύτταρα. (38)
- Πολλά Tregs επίσης εκφράζουν το μόριο επιφανείας CD39 που είναι μέρος ενός συμπλόκου που προωθεί την υποβάθμιση του προφλεγμονώδους μορίου ATP. (89)
- Το CTLA4 (CD152) επίσης προτιμά να εκφράζεται από τα Tregs και έχει ένα δυναμικό ρόλο στην αρνητική ρύθμιση των ανοσολογικών απαντήσεων μέσω της διάδρασής του με τα μόρια B7-1 (CD80) και B7-2 (CD86) στα αντιγονο-παρουσιαστικά κύτταρα (APCs). (90)
- Ένα παρόμοιο μόριο, το PD-1 (CD279), επίσης δρα ανοσορυθμιστικά μέσω αλληλεπίδρασης με ένα ζευγάρι υποδοχέων που ονομάζονται PD-L1 και PD-L2. (91)
- Πιο πρόσφατα το μόριο TIGIT βρέθηκε ότι επεμβαίνει ρυθμιστικά στις ανοσολογικές απαντήσεις μέσω αλληλεπίδρασης με ένα ζευγάρι υποδοχέων, τους CD112 και CD155, (92) με έναν ανάλογο τρόπο με το CTLA4.

Έχει διατυπωθεί ότι πιθανόν οι IFNE να αποτελούν την κλινική έκφραση της μειωμένης ανοσολογικής ανοχής στη φυσιολογική χλωρίδα του οργανισμού. Τα Tregs είναι αποφασιστικής σημασίας για την ανοσολογική ανοχή στο έντερο. Αρκετές μελέτες ανέδειξαν έναν προστατευτικό ρόλο των Tregs έναντι της εκδήλωσης Ιδιοπαθούς φλεγμονώδους εντερικής νόσου. (93)

Πειραματικά δεδομένα αποκάλυψαν ότι η ανοσολογική δραστικότητα των T κυττάρων έναντι των αντιγόνων μπορεί να ελεγχθεί από τα ανοσορυθμιστικά T κύτταρα. Όμως, για να μελετηθεί ο πληθυσμός αυτών των κυττάρων και οι λειτουργίες του απαιτείται ένας ειδικός δείκτης για την ταυτοποίησή τους. Πρόσφατες έρευνες επί της Foxp3 πρωτεΐνης έδειξαν ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάδειξη και ποσοτικοποίηση των T κυττάρων με ρυθμιστική ικανότητα. (94)

Στη μελέτη μας έγινε χρήση ενός πολυκλωνικού αντισώματος για την πρωτεΐνη Foxp3 προκειμένου να ταυτοποιηθούν τα Tregs. Με τη μέθοδο που περιγράφηκε παραπάνω έγινε δυνατή η αξιολόγηση του πληθυσμού των Tregs στον εντερικό ιστό και η σύγκρισή τους σε ασθενείς με ιδιοπαθή φλεγμονώδη εντερική νόσο με ή χωρίς την παρουσία του CMV.

Tregs και ΙΦΝΕ

Παρά την αδιαμφισβήτητη απώλεια ανοσολογικής ρύθμισης στο έντερο ασθενών με ΙΦΝΕ, ο φαινότυπος των ανθρώπινων εντερικών Foxp3+ Tregs παραμένει κατά πολύ άγνωστος. Πολλές ερευνητικές ομάδες δε βρήκαν κάποιο φαινοτυπικό ελάττωμα ή δυσλειτουργία στα Tregs από βλεννογόنيους ή μεσεντέριους λεμφαδένες (MLN) ασθενών με ΙΦΝΕ. Αν έπρεπε να χαρακτηριστεί ο φαινότυπος των Tregs όσον αφορά την ενεργοποίηση και τις ανασταλτικές του ιδιότητες, θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως ένας πλήρως λειτουργικός φαινότυπος. (95)

Παραδόξως, μια δυσανάλογα υψηλή συχνότητα Foxp3+ κυττάρων περιγράφηκε στη βασική μεμβράνη του φλεγμαίνοντος εντέρου ασθενών με ΙΦΝΕ. Επιπλέον, η βιβλιογραφία αναφέρει σαφώς ότι ο αριθμός των Foxp3+ T κυττάρων από εντερικές βιοψίες ασθενών συσχετίζεται θετικά με τον ιστολογικό βαθμό φλεγμονής. (96)

Αυτό το εύρημα ήταν σαφές και στη δική μας μελέτη, όπου βρέθηκε ότι ο αριθμός των T ρυθμιστικών κυττάρων ήταν σημαντικά μεγαλύτερος στα δείγματα ασθενών που είχαν ενεργό ΙΦΝΕ και πολύ βαρύτερες φλεγμονώδεις βλάβες. Κατά μέσο όρο ανιχνεύθηκαν 82 Tregs κατά οπτικό πεδίο στους ασθενείς με σαφώς ενεργή ΙΦΝΕ έναντι 51 Tregs ανά οπτικό πεδίο στους ασθενείς με ΙΦΝΕ σε ύφεση ($p=0,014$).

Στα βιβλιογραφικά δεδομένα αναφέρεται ότι όταν απομονωθούν τα Tregs από το έντερο ή τους μεσεντέριους λεμφαδένες των ασθενών με ΙΦΝΕ, φαίνεται να έχουν την ίδια ανασταλτική δράση με αυτά που απομονώνονται από τους υγιείς μάρτυρες. (97) Ωστόσο, είναι ασαφές εάν οι in vitro κατασταλτικές δράσεις αντανακλούν με ακρίβεια την in vivo δραστηριότητα των Tregs, δεδομένης της τελικής αποτυχίας τους στη ρύθμιση της βλεννογόνιας φλεγμονής στους ασθενείς με ΙΦΝΕ.

Βασικός συγχυτικός παράγοντας στην προσπάθειά μας να μελετήσουμε τα Tregs αποτελεί το γεγονός ότι η Foxp3, μάλλον ο καλύτερος δείκτης για τα Tregs, μπορεί επίσης να εκφραστεί de novo στα Foxp3- effector T cells αν αυτά ενεργοποιηθούν με την παρουσία του TGF- β . (98) Αυτά τα «επαγόμενα» Tregs (iTregs) δεν εκφράζουν τον πυρηνικό παράγοντα Helios που εκφράζεται κανονικά από τα Foxp3+ (προερχόμενα από το θύμο αδέννα) «φυσικά» Tregs (nTregs). (99)

Το κατά πόσο τα iTregs έχουν την ίδια ανασταλτική ικανότητα με τα nTregs είναι ένα αμφιλεγόμενο ζήτημα. (100) Έτσι, είναι πιθανό ότι η πληθώρα των Foxp3+ T κυττάρων που ανιχνεύονται στο βλεννογόνο των ασθενών με ΙΦΝΕ να είναι απλά ενεργοποιημένα T κύτταρα χωρίς in vivo ανασταλτική δραστηριότητα.

Εναλλακτικά, εφόσον τόσο τα Tregs όσο και τα Foxp3- T κύτταρα χρειάζονται ενεργοποίηση από συγγενές αντιγόνο για να λειτουργήσουν, είναι πιθανό η αντιγονική ειδικότητα των Tregs να μην αντιστοιχεί επαρκώς σε αυτή των T κυττάρων στους ασθενείς με ΙΦΝΕ, έτσι ώστε δυσανάλογα περισσότερα T κύτταρα από ότι Tregs να ενεργοποιούνται από τοπικά αντιγόνα στον εντερικό βλεννογόνο.

Νεότερες πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι τα εντερικά T κύτταρα γενικά εξέφραζαν έναν πιο ενεργοποιημένο φαινότυπο από ότι τα κύτταρα του περιφερικού αίματος. Ανάμεσα στα Foxp3-CD4+ T κύτταρα (που αποτελούν την πλειονότητα των T κυττάρων) η έκφραση του CD69 ήταν σχεδόν πανταχού παρούσα στο έντερο, ενώ του CD38 αυξήθηκε με τη φλεγμονή των ιστών. Ίσως σαν συνέπεια τα ανασταλτικά μόρια που επάγονται από την ενεργοποίηση, όπως το CTLA4, παράδοξα αυξήθηκαν επί των T κυττάρων στις φλεγμονώδεις περιοχές του εντέρου.

Τα Foxp3+ Tregs από τον εντερικό βλεννογόνο ασθενών με ΙΦΝΕ ήταν τουλάχιστον τόσο εμφανώς ενεργοποιημένα όσο τα Foxp3- T κύτταρα αποδεικνύοντας ότι τα Tregs δεν αποτύγχαναν επιλεκτικά να συναντήσουν συγγενές αντιγόνο στους ασθενείς με ΙΦΝΕ. Επιπλέον τα εντερικά Tregs από ασθενείς με ΙΦΝΕ είχαν έναν πιο ενεργοποιημένο φαινότυπο από ότι τα Tregs από υγιές έντερο χωρίς ΙΦΝΕ. Το ακριβώς αντίθετο παρατηρήθηκε στο αίμα. Αν και μεγάλο κομμάτι της ενεργοποίησης των T κυττάρων λαμβάνει χώρα στο έντερο, η εντερική βασική μεμβράνη είναι ένα μαζικό λεμφικό όργανο όπου ακόμα και αν μικρή ποσότητα ενεργοποιημένων T κυττάρων από το αίμα εγκλωβιστεί εκεί, θα φανεί άμεσα η εξάλειψή τους από το περιφερικό αίμα. Αυτό το φαινόμενο υπογραμμίζει τη σημασία της αξιολόγησης του πρωτογενούς ιστού στην ΙΦΝΕ (δηλαδή του εντερικού) και εξηγεί γιατί στο περιφερικό αίμα μπορεί να αντανακλάται το ανάποδο από ό,τι παρατηρείται στον εντερικό ιστό. (95)

Ως εκ τούτου, διαψεύδεται η υπόθεση ότι τα βλεννογονικά Tregs αποτυγχάνουν να ελέγξουν τη φλεγμονή στην ΙΦΝΕ λόγω κάποιου εγγενούς ελαττώματός τους ή εξαιτίας των CD4+ T κυττάρων τα οποία αποκρίνονται στο ερέθισμά τους.

Τα αποτελέσματα της έρευνας ως προς τα Foxp3+Tregs και το συσχετισμό τους με την ενεργότητα των ΙΦΝΕ θα μπορούσαν να εξηγηθούν θεωρώντας ότι στην ΙΦΝΕ το ανοσοποιητικό σύστημα βρίσκεται σε μια προσπάθεια να υπερβεί το ελαφρύ ανοσολογικό έλλειμμα που έχει (και οδήγησε στην εμφάνιση της νόσου), αλλά και να προστατευθεί από αυτή. (95) Σαν αποτέλεσμα, αυξημένος πληθυσμός Tregs εμφανίζεται στον εντερικό βλεννογόνο και στην κυκλοφορία ασθενών με ενεργή ΙΦΝΕ, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες. (101)

Είναι τελικά πιθανό η παράδοση αύξηση των Tregs και των ανοσορυθμιστικών μορίων που αναφέρονται στον εντερικό βλεννογόνο των ασθενών με ΙΦΝΕ να αποτελεί μια εν τέλει μη

ικανοποιητική προσπάθεια εκ μέρους του ανοσορυθμιστικού συστήματος να ελέγξει την εξελισσόμενη φλεγμονή και η οποία για άγνωστους λόγους διαφεύγει τον έλεγχο.

Tregs και CMV

Στην πλειονότητα των περιπτώσεων η λοίμωξη από κυτταρομεγαλοϊό δεν προκαλεί συμπτώματα. Μετά την πρωτογενή μόλυνση, ο CMV συνήθως παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση για μακρό χρονικό διάστημα. Ωστόσο, οι ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς, όπως θεωρούνται οι ασθενείς με νόσο Crohn ή ελκώδη κολίτιδα, θεωρούνται ευάλωτοι να προσβληθούν ευκολότερα από CMV από ότι τα ανοσοεπαρκή άτομα. Οι ασθενείς με παρελθούσα CMV λοίμωξη μπορεί να δείξουν συμπτώματα επανενεργοποίησής της αν για κάποιο λόγο μπουν σε ανοσοκαταστολή, όπως για παράδειγμα αν νοσήσουν από μια ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου ή λάβουν ανοσοκατασταλτική αγωγή για τη θεραπεία της. (102)

Μετά από 8 εβδομάδες θεραπεία με κορτικοειδή και ανοσοκατασταλτικά σε μέτρια έως σοβαρή ελκώδη κολίτιδα έχει παρατηρηθεί επανενεργοποίηση του CMV, η οποία υποχώρησε χωρίς αντική θεραπεία. (103)

Πιο πρόσφατες πειραματικές μελέτες σε μοντέλα ποντικών επίσης αποκάλυψαν έναν πιθανό ενεργοποιητικό ρόλο του CMV (ίσως και κάποιων πογονίων) στην ανάπτυξη της νόσου Crohn και της ελκώδους κολίτιδας. (104)

Τα βιβλιογραφικά δεδομένα συντείνουν στο γεγονός ότι σε περιβάλλον φλεγμονής και λοίμωξης καταδεικνύεται μια σαφής αύξηση των Tregs που συνοδεύει σε επόμενο χρόνο τις πρωτοπαθείς εναποθέσεις από T κύτταρα. (105) Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι όντως τα Tregs ανιχνεύθηκαν σε μεγαλύτερους πληθυσμούς σε δείγματα από ασθενείς που έπασχαν από ΙΦΝΕ και στους οποίους συνυπήρχε παρουσία του CMV. Ο αριθμός των Foxp3+Tregs ήταν κατά πολύ υψηλότερος στο βλεννογόνο ασθενών με CMV λοίμωξη (85,24 Tregs κατά οπτικό πεδίο) σε σύγκριση με τους ασθενείς που είχαν ΙΦΝΕ και δεν ανιχνεύθηκε άλλος παθογόνος λοιμώδης παράγοντας στον εντερικό ιστό τους (59,85 Tregs κατά οπτικό πεδίο).

Το εύρημα αυτό πιστοποιεί μια αξιοσημείωτη αύξηση της δεξαμενής των Tregs στον επιμολυνθέντα εντερικό βλεννογόνο. Σύμφωνα με πολλά άρθρα, αυξημένος αριθμός Treg κυττάρων παρουσιάζεται σε περιστατικά CMV κολίτιδας και βακτηριακών λοιμώξεων εντερικού βλεννογόνου, όπως σε περιπτώσεις εκκολπωματίτιδας. Αν και δεν έχουν ταυτοποιηθεί όλοι οι λοιμώδεις αιτιολογικοί παράγοντες παρά τις εκτενείς διαγνωστικές προσπάθειες, έχει προταθεί ότι αυτές οι διηθήσεις μπορεί να είναι απότοκο της τοπικής φλεγμονής που προκαλείται στον εντερικό βλεννογόνο από την ιογενή ή βακτηριακή λοίμωξη. (94)

Η ανοσοϊστοχημική χρώση για την πυρηνική πρωτεΐνη Foxp3 δίνει το πλεονέκτημα να μπορούν να αναγνωριστούν και να καταμετρηθούν ακόμα και πολύ μικροί πληθυσμοί Tregs. Δεδομένου ότι τα Tregs διατηρούν τις ρυθμιστικές τους ιδιότητες στους ασθενείς με

ΙΦΝΕ, είναι αναμενόμενη μια κατασταλτική δραστηριότητα εκ μέρους των Tregs στον φλεγμαίνοντα βλεννογόνο, ανάλογα με το βαθμό της φλεγμονής. (96)

Σε παρόμοια ερευνητικά μοντέλα μελέτες απέδειξαν ότι σημασία έχει η αριθμητική συσχέτιση των Foxp3+ Tregs με τα T ενεργοποιημένα κύτταρα! Αν και ο αριθμός των T ενεργοποιημένων κυττάρων ήταν παρόμοιος σε ασθενείς με νόσο μοσχεύματος έναντι ξενιστή (GvHD) και σε ασθενείς με CMV κολίτιδα, ο αριθμός των Foxp3+ Tregs ανά T ενεργοποιημένο κύτταρο ήταν σημαντικά χαμηλότερος στο βλεννογόνο των ασθενών με GvHD συγκρινόμενος με ασθενείς υπό ανοσοκατασταλτική θεραπεία με CMV κολίτιδα. Έτσι, η εξάντληση του αριθμού των Foxp3+ Tregs σε πιο απομονωμένους τοπικούς βλεννογονικούς ιστούς εκτόξευσε την πιθανότητα αντίδρασης μοσχεύματος έναντι ξενιστή (GvHD) στα όργανα στόχους. (105) (106) Ως εκ τούτου, η συνεισφορά των Tregs στην τοπική αμυντική θωράκιση του ιστού οδηγεί στη σκέψη μήπως η αύξηση των Tregs στο νοσούντα από ΙΦΝΕ και επιμολυνθέντα με CMV ιστό σε συνδυασμό με την αύξηση των CD8+ T κυττάρων αποτελεί στρατηγική αμυντική κίνηση του οργανισμού που σε κάποιες περιπτώσεις αποβαίνει τόσο αποτελεσματική ώστε υποκαθιστά και την αντική θεραπεία. (103)

Μια μελέτη του 2012 από νοσοκομείο της Κίνας που διερευνούσε τον ρόλο των Tregs στη λοίμωξη από CMV καταλήγει ότι το ποσοστό των Tregs και των σχετιζόμενων με αυτά παραγόντων (IL-10, Foxp3) στο περιφερικό αίμα των ασθενών με λοίμωξη από CMV φαίνεται μειωμένο, σε σύγκριση με την ομάδα υγιών μαρτύρων. (108) Ωστόσο, αυτά τα δεδομένα μπορούν να συνδυαστούν αρμονικά με τη μελέτη μας αν λάβουμε υπόψη ότι στη δική μας μελέτη όλοι οι συμπεριλαμβανόμενοι ασθενείς είναι ασθενείς με ΙΦΝΕ και άρα ελαφρύ έστω ανοσολογικό έλλειμμα, το οποίο ο οργανισμός προσπαθεί εν μέρει να ισορροπήσει με την αύξηση των Tregs στους ιστούς, λόγω του βασικού υποκείμενου νοσήματός τους πριν αυτοί μολυνθούν με CMV.

Κατά δεύτερο λόγο, στην εν λόγω μελέτη γίνεται αναφορά στον αριθμό των Tregs στο περιφερικό αίμα που φαίνεται μειωμένος κάτι που θα μπορούσε να μη συνοδεύεται από ανάλογη μείωση στους τοπικά φλεγμαίνοντες ιστούς. Τουναντίον, είναι αρκετά πιθανό η συγκεκριμένη μείωση να οφείλεται σε συσσώρευση Tregs στους μολυνθέντες ιστούς και αυτό να έχει σαν αποτέλεσμα την εξάλειψή τους από το περιφερικό αίμα.

Άλλες ενδιαφέρουσες βιβλιογραφικές αναφορές αφορούσαν σε ασθενείς που έπασχαν από ιδιοπαθείς εντερίτιδες ή ΙΦΝΕ και προσβλήθηκαν από ευκαιριακές λοιμώξεις μετά από ανοσοκατασταλτική θεραπεία. Όμως, μετά από εκτενή διερεύνηση του ανοσολογικού τους προφίλ έγινε σαφής η ύπαρξη ανεπάρκειας των δενδριτικών κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, το οποίο έτσι απώλεσε μέρος της αντικής δράσης του. Σε αυτούς τους ασθενείς ανιχνεύθηκαν Tregs σε αυξημένο αριθμό στους φλεγμαίνοντες βλεννογόνους και με πλήρως λειτουργικό φαινότυπο. (109)

Τελικά, η παρουσία των Tregs στους ιστούς φαίνεται να δρα προστατευτικά έναντι του CMV και των βλαβών που προκαλεί και ίσως αυτός ο μηχανισμός ενεργοποιείται ευκολότερα στους ασθενείς με ΙΦΝΕ, οι οποίοι έχουν προσελκύσει μια μικρή συσσώρευση Tregs στον εντερικό ιστό προσπαθώντας να βελτιώσουν την ανοσορυθμιστική ικανότητα του ιστού που ήδη φλεγμαίνει.

Tregs και ηωσινοφιλία

Η ηωσινοφιλία γενικά θεωρείται σημάδι χρόνιας φλεγμονής. Στη μελέτη μας, η αυξημένη παρουσία ηωσινοφίλων συσχετίστηκε με χαμηλότερους αριθμούς Tregs. Οι ΙΦΝΕ είναι αναμφισβήτητα νοσήματα με μακρά κλινική πορεία. Επομένως, μια διαρκής χρόνια τοπική φλεγμονή αναμένεται να αυξήσει τη συσσώρευση ηωσινοφίλων στην περιοχή, αλλά και να τροποποιήσει τον αριθμό των Tregs του βλεννογόνου. Ορισμένες μελέτες συσχετίζουν τις χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους με έλλειμμα των Tregs στο περιφερικό αίμα. (94) Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η ποσότητα των Tregs στο περιφερικό αίμα δεν αντανακλά με ακρίβεια την παρουσία τους στον ιστό στόχο και η συσσώρευση των Tregs στο βλεννογόνο μπορεί να προσφέρει μια μερική εξήγηση για τη μερική εξαφάνισή τους από την περιφερική κυκλοφορία. (86), (94), (107), (108)

Ο ίδιος μηχανισμός που εξηγεί την αύξηση των Tregs στους ασθενείς με εξαιρετικά ενεργή και οξεία ΙΦΝΕ οδηγεί στη σκέψη ότι σε ΙΦΝΕ που έχουν μεταπέσει σε χρονιότητα δεν αναμένεται ο ίδιος αυξημένος αριθμός T ρυθμιστικών κυττάρων. Επιπλέον, η βιβλιογραφία αναφέρει σαφώς ότι ο αριθμός των Foxp3+ T κυττάρων από εντερικές βιοψίες ασθενών συσχετίζεται θετικά με τον ιστολογικό βαθμό φλεγμονής. (96)

Τα ευρήματα της μελέτης μας συμφωνούν ότι στα δείγματα ασθενών που παρατηρήθηκε σαφής ηωσινοφιλία ο αριθμός των Tregs ήταν σημαντικά μειωμένος (62,06 Tregs κοπ) σε σχέση με τους ασθενείς που δεν είχαν έκδηλη ιστική ηωσινοφιλία (96,67 Tregs κοπ).

Η διαρκής ανοσολογική εγρήγορση του οργανισμού όταν προσπαθεί να αντιμετωπίσει την πρωτοδιαγνωσθείσα ΙΦΝΕ προσελκύει Tregs σε μια κίνηση να ελέγξει την αναδυόμενη φλεγμονή. Ωστόσο, όταν η φλεγμονή μεταπίπτει σε χρονιότητα, πιθανόν να είναι η ίδια η συνάθροιση κυττάρων χρονιότητας, όπως τα ηωσινόφιλα, που διακόπτει την ενασχόληση του ανοσοποιητικού με την ήδη εγκατασταθείσα φλεγμονή και την εκ νέου κινητοποίηση T ρυθμιστικών κυττάρων, καθώς οι συνθήκες σταθεροποιούνται.

Συσχετίζεται η ενεργότητα της ΙΦΝΕ με την παρουσία CMV;

Διερευνώντας το ενδεχόμενο να συσχετίζεται η ενεργότητα της ΙΦΝΕ με την παρουσία CMV στο έντερο, βιβλιογραφικές πηγές αναφέρουν ότι η πρωτογενής λοίμωξη όσο και η επανενεργοποίηση του CMV δεν έχουν απαραίτητα συσχετιστεί με συγκεκριμένο στάδιο της ΙΦΝΕ που αποτελεί το υποκείμενο νόσημα του ασθενή. Υπάρχουν πολλές αναφορές για σύγχρονη διάγνωση ελκώδους κολίτιδας και CMV κολίτιδας με την πρώτη να χρονολογείται το 1990. (110), (111)

Κατά τη διάρκεια μιας αναδρομικής μελέτης για την επίπτωση της CMV κολίτιδας σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα μέσω ανοσοϊστοχημείας, οι Kim et al. είχαν ένα πραγματικά αξιοπερίεργο εύρημα: σε 8,2%(5/61) των περιπτώσεων νεοδιαγνωσθείσας ελκώδους κολίτιδας ταυτοποιήθηκε και CMV κολίτιδα. Σε καμία από τις πέντε περιπτώσεις δε βρέθηκαν έγκλειστα του ιού στη χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης και κατά συνέπεια κανείς

από τους ασθενείς δεν είχε διαγνωστεί με CMV κολίτιδα τη στιγμή της διάγνωσης της ελκώδους κολίτιδας. (112)

Αυτό σημαίνει ότι η πλειοψηφία μιας σύγχρονα αναπτυσσόμενης CMV κολίτιδας δε διαγιγνώσκεται στην καθημερινή πρακτική στην πρωτοδιάγνωση ασθενών με ελκώδη κολίτιδα.

Τα ευρήματα στη μελέτη μας συμφωνούν στο δεδομένο ότι η σύγχρονη παρουσία του CMV στο έντερο δε συσχετίζεται με κάποιο τρόπο με το στάδιο της ΙΦΝΕ των ασθενών ή με την ενεργότητα της νόσου.

Ένα πρόσθετο βιβλιογραφικό δεδομένο είναι το γεγονός ότι καθώς η de novo ΙΦΝΕ αποτελεί μια διαρκώς αυξανόμενη αναγνωριζόμενη οντότητα, ο κύριος παράγοντας κινδύνου για την εκδήλωσή της έχει βρεθεί να είναι η λοίμωξη με CMV. (113) Οι Onyiaogocha et al. ερεύνησαν τη σημασία της CMV λοίμωξης στην ανάπτυξη της κολίτιδας σε ένα μοντέλο ποντικών. (104) Η λοίμωξη του CMV στα ποντίκια κατέληξε σε μια διαρκή άνοδο των αντισωμάτων έναντι των μικροβίων της φυσιολογικής χλωρίδας, κάτι που παρατηρείται και στην ΙΦΝΕ στον άνθρωπο. (114) Συμπεράναν ότι η λοίμωξη με CMV ίσως προδιαθέτει στην ανάπτυξη ΙΦΝΕ. Ωστόσο, περαιτέρω μελέτη είναι απαραίτητη για να διευκρινιστεί αν είναι αληθές αυτό το ενδεχόμενο, που ούτε στη δική μας μελέτη τεκμηριώνεται.

Συσχετίζεται η παρουσία ηωσινοφίλων με την ενεργότητα της ΙΦΝΕ και την παρουσία του CMV στον ιστό;

Η παρουσία ηωσινοφίλων στον ιστό συνδέεται με χρόνια φλεγμονή στον ιστό. Σε αναζήτηση ύπαρξης πιθανής συσχέτισης με το κατά πόσο η φλεγμονή οφείλεται σε ενεργό φάση της ΙΦΝΕ ή σε φάση ύφεσης της ΙΦΝΕ δεν προέκυψε στατιστικό δεδομένο συσχέτισης.

Ωστόσο, υπάρχει μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση της απουσίας του CMV στο έντερο ασθενών με υψηλότερους αριθμούς ηωσινοφίλων. Η παρατήρηση αυτή συμφωνεί με το δεδομένο ότι ο CMV δίνει οξεία φλεγμονή κατά τη διάρκεια εκδήλωσης της CMV κολίτιδας, οπότε και δεν υπάρχει αυξημένη παρουσία ηωσινοφίλων στον ιστό. Καθώς η φλεγμονή ιάται ή μεταπίπτει σε χρονιότητα και ο ιός μεταπίπτει σε λανθάνουσα κατάσταση, μπορεί να συγκεντρωθούν ηωσινόφιλα στο βλεννογονικό ιστό αλλά ο CMV δύσκολα ανιχνεύεται πλέον.

Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, οι παρατηρήσεις που προκύπτουν από την εργασία μας και θα πρέπει να επισημανθούν είναι:

1. Ο αριθμός των T ρυθμιστικών κυττάρων είναι σημαντικά μεγαλύτερος στους ιστούς ασθενών με ενεργό ΙΦΝΕ και βαριές φλεγμονώδεις βλάβες. Ωστόσο, είναι ασαφές

εάν οι *in vitro* κατασταλτικές δράσεις που έχουν επιβεβαιωθεί ως φυσιολογικές στα Tregs των ασθενών με ΙΦΝΕ αντανακλούν με ακρίβεια την *in vivo* δραστηριότητα τους, δεδομένης της τελικής αποτυχίας τους στη ρύθμιση της βλεννογόνιας φλεγμονής στους ασθενείς με ΙΦΝΕ.

2. Ο θετικός συσχετισμός των Foxp3+Tregs με την ενεργότητα των ΙΦΝΕ που προκύπτει από την έρευνά μας θα μπορούσε επίσης να οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι στην ΙΦΝΕ το ανοσοποιητικό σύστημα βρίσκεται σε μια προσπάθεια να υπερβεί το ελαφρύ ανοσολογικό έλλειμμα που έχει και οδήγησε στην εμφάνιση της νόσου, αλλά και να προστατευθεί από αυτή.
3. Η παρουσία των Tregs στον εντερικό ιστό φαίνεται να δρα προστατευτικά έναντι του CMV και των βλαβών που προκαλεί και ίσως αυτός ο μηχανισμός ενεργοποιείται ευκολότερα στους ασθενείς με ΙΦΝΕ, οι οποίοι έχουν ήδη προσελκύσει μια μικρή συσσώρευση Tregs στον εντερικό ιστό προσπαθώντας να βελτιώσουν την ανοσορυθμιστική ικανότητα του ιστού που φλεγμαίνει.
4. Όταν η φλεγμονή μεταπίπτει σε χρόνια και παρατηρείται συνάθροιση κυττάρων χρονιότητας, όπως τα ηωσινόφιλα, διακόπτεται εν μέρει η ενασχόληση του ανοσοποιητικού με την ήδη εγκατασταθείσα φλεγμονή και η εκ νέου κινητοποίηση T ρυθμιστικών κυττάρων, καθώς οι συνθήκες σταθεροποιούνται.

Η επίδραση των Tregs επί ιογενών εντερικών λοιμώξεων σε ασθενείς με νόσο Crohn ή ελκώδη κολίτιδα ή και άλλες νόσους με ανάλογες ανοσολογικές διαταραχές έχει ακόμα ευρύ πεδίο περαιτέρω αναδρομικής και προοπτικής διερεύνησης προκειμένου να καταστεί σαφές αν τα Foxp3+T ρυθμιστικά κύτταρα μπορούν να ενεργοποιηθούν, να προσανατολιστούν προς συγκεκριμένες δράσεις τους, να προσελκυσθούν σε επίμαχους ιστούς, να συνδυαστούν με άλλες ανοσολογικές θεραπείες και εν τέλει να προσφέρουν αξιόλογη βοήθεια στην προσπάθεια ελέγχου μιας αναδυόμενης φλεγμονής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μελέτη αφορά στην εκτίμηση της παρουσίας των T ρυθμιστικών κυττάρων σε ιστούς ασθενών με Ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου, όταν συνυπάρχει παρουσία του κυτταρομεγαλοϊού (CMV) ως μοναδικού παθογόνου λοιμώδη παράγοντα στο έντερο. Τα πειραματικά δεδομένα αναλύθηκαν με στατιστική μέθοδο και συνδυάστηκαν με βιβλιογραφικές αναφορές σε μια προσπάθεια να διερευνηθεί ο ακριβής ρόλος των Tregs στους ανοσοανεπαρκείς ασθενείς με ή χωρίς CMV λοίμωξη.

Μελετήθηκαν 61 περιπτώσεις ασθενών με Ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου, οι οποίες χωρίστηκαν σε δυο ομάδες. Η πρώτη περιελάμβανε ασθενείς με νόσο Crohn ή ελκώδη κολίτιδα, οι οποίες συνυπήρχαν με CMV λοίμωξη στο έντερο, ενώ η δεύτερη ομάδα (ομάδα μάρτυρας) περιελάμβανε ασθενείς με Ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου χωρίς παρουσία CMV. Στους κύβους παραφίνης των εντερικών ιστών των ασθενών έγινε ανοσοϊστοχημική κατεργασία με ειδικά για τον CMV και την Foxp3 πολυκλωνικά αντισώματα και οι κεχρωσμένες τομές αξιολογήθηκαν μικροσκοπικά ώστε να ανιχνευθεί η παρουσία του CMV και να ποσοτικοποιηθεί η παρουσία της Foxp3 και των Tregs στους μελετώμενους ιστούς.

Η στατιστική ανάλυση των δειγμάτων μετά τη μικροσκοπική αξιολόγησή τους έδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην παρουσία του CMV και τον αυξημένο αριθμό των Tregs στον εντερικό ιστό. Δεν υπήρξαν στοιχεία ότι η παρουσία του CMV σχετίζεται με την ενεργότητα της Ιδιοπαθούς φλεγμονώδους εντερικής νόσου. Ο αριθμός των Tregs αποδείχθηκε σημαντικά μειωμένος στους ιστούς ασθενών με νόσο σε ύφεση, σε αντίθεση με τους ασθενείς με ενεργό ΙΦΝΕ όπου τα Tregs ανιχνεύθηκαν σε σαφώς υψηλότερους πληθυσμούς. Μελετήθηκε ακόμα η συσχέτιση με την παρουσία ηωσινοφίλων στον ιστό και τα αποτελέσματα αποκάλυψαν αξιολογή μείωση των Tregs επί παρουσίας πολλών ηωσινοφίλων.

Οι παρατηρήσεις που προκύπτουν από την εργασία μας και θα πρέπει να επισημανθούν είναι:

1. Ο αριθμός των T ρυθμιστικών κυττάρων είναι σημαντικά μεγαλύτερος στους ιστούς ασθενών με ενεργό ΙΦΝΕ και βαριές φλεγμονώδεις βλάβες. Ωστόσο, είναι ασαφές εάν οι *in vitro* κατασταλτικές δράσεις που έχουν επιβεβαιωθεί ως φυσιολογικές στα Tregs των ασθενών με ΙΦΝΕ αντανακλούν με ακρίβεια την *in vivo* δραστηριότητα τους, δεδομένης της τελικής αποτυχίας τους στη ρύθμιση της βλεννογόνιας φλεγμονής στους ασθενείς με ΙΦΝΕ.
2. Ο θετικός συσχετισμός των Foxp3+Tregs με την ενεργότητα των ΙΦΝΕ θα μπορούσε επίσης να οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι στην ΙΦΝΕ το ανοσοποιητικό σύστημα βρίσκεται σε μια προσπάθεια να υπερβεί το ελαφρύ ανοσολογικό έλλειμμα που έχει και οδήγησε στην εμφάνιση της νόσου, αλλά και να προστατευθεί από αυτή.
3. Η παρουσία των Tregs στον εντερικό ιστό φαίνεται να δρα προστατευτικά έναντι του CMV και των βλαβών που προκαλεί και ίσως αυτός ο μηχανισμός ενεργοποιείται ευκολότερα στους ασθενείς με ΙΦΝΕ, οι οποίοι έχουν ήδη

προσελκύσει μια μικρή συσσώρευση Tregs στον εντερικό ιστό προσπαθώντας να βελτιώσουν την ανοσορυθμιστική ικανότητα του ιστού που φλεγμαίνει.

4. Όταν η φλεγμονή μεταπίπτει σε χρονιότητα και παρατηρείται συνάθροιση κυττάρων χρονιότητας, όπως τα ηωσινόφιλα, διακόπτεται εν μέρει η ενασχόληση του ανοσοποιητικού με την ήδη εγκατασταθείσα φλεγμονή και η εκ νέου κινητοποίηση T ρυθμιστικών κυττάρων, καθώς οι συνθήκες σταθεροποιούνται.

Συμπερασματικά, τα ευρήματα της έρευνάς μας κατέδειξαν ότι οι διηθήσεις των Tregs στους φλεγμαίνοντες βλεννογονικούς ιστούς των ασθενών με Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη εντερική νόσο παρουσιάζουν μια αξιοσημείωτη αύξηση όταν συνυπάρχει λοίμωξη με CMV στον εντερικό ιστό, σε σύγκριση με ασθενείς που νοσούν από νόσο Crohn ή ελκώδη κολίτιδα χωρίς ωστόσο να ανιχνεύεται άλλος παθογόνος λοιμώδης παράγοντας στον εντερικό βλεννογόνο.

Τα Tregs έχουν έναν εξαιρετικά κρίσιμο ρόλο στην καταστολή της τοπικής φλεγμονής που επάγεται από ιογενείς εντερικές λοιμώξεις και η ρυθμιστική τους ικανότητα μπορεί να βελτιώσει την κατάσταση του εντερικού βλεννογόνου παρέχοντας έναν αποτελεσματικό αμυντικό μηχανισμό έναντι του CMV, ακόμα και σε ασθενείς με μερική ανοσοανεπάρκεια όπως οι ασθενείς με Ιδιοπαθή φλεγμονώδη εντερική νόσο. Περαιτέρω μελέτη των Tregs θα μπορούσε να διαλευκάνει αν αυτά τα Foxp3+T κύτταρα μπορούν να προσφέρουν αξιόλογη βοήθεια στην προσπάθεια ελέγχου μιας αναδυόμενης φλεγμονής.

SUMMARY

We attempted to study whether the presence of T-regulatory cells in tissue obtained from patients with an inflammatory bowel disease augment when Cytomegalovirus coexists in the bowel. Experimental data were analysed using statistical methods and were combined with bibliographical references in an attempt to investigate the role of Treg cells in immunodeficient patients with or without CMV infection.

Sixty-one cases of inflammatory bowel disease were divided into two groups. The first one included patients with either Crohn's disease or ulcerative colitis that coexisted with CMV bowel infection, whereas the second group (control group) consisted of patients with inflammatory bowel disease without CMV infection. Formalin-fixed, paraffin-embedded tissues were immunohistochemically elaborated with CMV-specific and Foxp3 rabbit polyclonal antibodies and the stained sections were microscopically evaluated in order to define Foxp3 protein levels and the attendance of Tregs in specific tissues.

Statistical analysis of the evaluated samples revealed statistically significant correlation between CMV's presence and high number of Tregs in bowel tissue. There was no evidence that CMV is related with acute phases of inflammatory bowel disease. Tregs were diminished in patients with disease in recession while they were strongly augmented in patients with active IBD. Eosinophils attendance was also examined and the results proved statistically significant correlation between the number of eosinophils and Treg number in the examined samples.

Completing our study a few observations have to be mentioned:

1. Treg number is remarkably higher in patient tissues with acute IBD and serious inflammation. Nevertheless it is unclear whether in vitro Tregs' suppressive potency that has confirmed as normal in IBD patients, reflect with accuracy their activity in vivo, given the fact that they finally fail to control mucosal inflammation in those patients.
2. The correlation between Foxp3+Tregs and IBD activation could effortlessly be explained by the hypothesis that human immune system tries to overcome the light immune deficiency that led to IBD outbreak and to get protected against it.
3. Treg presence in bowel tissue seems to be protective against CMV and damage it causes and maybe this mechanism is activated without any inconvenience in IBD patients because of their already augmented Treg presence in bowel tissue in an effort to ameliorate the immunoregulatory ability of inflamed tissue.
4. When inflammation is prolonged and certain cells such as eosinophils accumulate, immune system aborts the occupation with the already located tissue inflammation as well as further Treg mobilization, provided that circumstances consolidate.

The findings of our study demonstrate that Treg infiltration in inflamed mucosal tissues of IBD patients show a significant increase when CMV infection coexists in comparison with IBD patients without any intestinal infectious disease. Treg cells play a crucial role in suppressing local inflammation induced by viral intestinal infections and their regulatory potential may

improve the state of intestinal mucosa by providing an active defensive mechanism against CMV, even in patients with partial immune deficiency, like IBD patients. The influence of Tregs over viral colon infection of patients with IBD should be further studied retrospectively and prospectively in order to determine whether these Foxp3+ T cells can be of value in a therapeutic context in order to control ongoing inflammation.

Πίνακας εικόνων

Εικόνα 1. Ιστολογία φυσιολογικού παχέος εντέρου, στο οποίο ο βλεννογόνος είναι επίπεδος και περιέχει άφθονες κάθετα προσανατολισμένες κρύπτες. (Robbins and Cotran, Παθολογοανατομική βάση νοσημάτων με σημεία παθογένειας, σελ.1108) (1)	19
Εικόνα 2. Κοινοί ιοί του γαστρεντερικού συστήματος (Στοιχεία από Goodgame RW: Viral causes of diarrhea. Gastroenterol Clin North Am 30: 779, 2001).....	22
Εικόνα 3. Σημαντικές αιτίες βακτηριακής εντεροκολίτιδας (Robbins, Cotran, Παθολογοανατομική βάση νοσημάτων με στοιχεία παθογένειας, σελ.1116) (3)	25
Εικόνα 4. Νόσος Crohn του παχέος εντέρου: παρατηρείται μια βαθιά σχισμή που επεκτείνεται στο μυϊκό τοίχωμα, ένα δεύτερο αβαθές έλκος και τη σχετική διατήρηση του παρακείμενου βλεννογόνου. Η παρουσία της άφθονης λευκοκυτταρικής διήθησης είναι εμφανής στην περιοχή μετάβασης του βλεννογόνου προς τον υποβλεννογόνο χιτώνα. (3)29	
Εικόνα 5. Νόσος Crohn του παχέος εντέρου. Μη νεκρωτικά κοκκιώματα στην περιοχή του χορίου και του βλεννογόνου του παχέος εντέρου (βέλκος). (3).....	30
Εικόνα 6. Σύγκριση της κατανομής της νόσου Crohn και της ελκώδους κολίτιδας, καθώς επίσης και των διαφορετικών χαρακτηριστικών των ελκών και της πάχυνσης του τοιχώματος του εντέρου που εμφανίζονται. (3)	31
Εικόνα 7. Ελκώδης κολίτιδα. Ιστολογική εικόνα μικρής μεγέθυνσης που παρουσιάζει διάχυτη ενεργό φλεγμονώδη διήθηση με ατροφία των κρυπτών και μέτρια ίνωση του χαλαρού υποστρώματος και διαταραχή της αρχιτεκτονικής των κρυπτών. (3)	33
Εικόνα 8. Ελκώδης κολίτιδα. Ιστολογική εικόνα του βλεννογόνου στην οποία αναδεικνύεται η διάχυτη ενεργός φλεγμονή με παρουσία κρυπτικών αποστημάτων και διαταραχή της αρχιτεκτονικής των κρυπτών. (3).....	34
Εικόνα 9. Χυμική και κυτταρική ανοσία (3).....	37
Εικόνα 10. Το σύμπλοκο του T κυτταρικού υποδοχέα (TCR). Α. Σχηματική απεικόνιση των TCRα και TCRβ αλυσίδων που συνδέονται με το CD3 σύμπλοκο. Β. Αναγνώριση του MHC-σχετιζόμενου πεπτιδίου που εμφανίζεται σε ένα αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο (πάνω) από τον TCR. Οι TCR-σχετιζόμενες ζ αλυσίδες και το CD3 σύμπλοκο στέλνουν σήματα (σήμα 1) μετά την αντιγονική αναγνώριση και το CD28 στέλνει σήματα (σήμα 2) μετά την αναγνώριση των συνεπαγωγέων (B7 μόρια). (3)	38
Εικόνα 11. Α. Η μορφολογία των δενδριτικών κυττάρων. Β. Η θέση των δενδριτικών κυττάρων (κύτταρα Langerhans) στην επιδερμίδα (19)	43
Εικόνα 12. Ο ρόλος των δενδριτικών κυττάρων στη σύλληψη των μικροβιακών αντιγόνων από τα επιθήλια και στη μεταφορά τους στους περιφερικούς λεμφαδένες. (3)	44
Εικόνα 13. Σχηματική απεικόνιση NK-κυτταρικών υποδοχέων. Τα NK κύτταρα εκφράζουν τους υποδοχείς κυτταρικής ενεργοποίησης. Τα φυσιολογικά κύτταρα δε «σκοτώνονται» επειδή τα ανασταλτικά σήματα από τα φυσιολογικά μόρια MHC τάξης I αγνοούν τα σήματα ενεργοποίησης. Στα νεοπλασματικά κύτταρα ή τα μολυσμένα από ιούς υπάρχει αυξημένη έκφραση των συνδετών για υποδοχείς ενεργοποίησης και μειωμένη έκφραση των μορίων MHC που διακόπτουν τα ανασταλτικά σήματα επιτρέποντας την ενεργοποίηση των κυττάρων NK. (3).....	46
Εικόνα 14. Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών που περιλαμβάνονται στην κεντρική και περιφερική ανοχή. Οι κύριοι μηχανισμοί της ανοχής στα CD4+ T κύτταρα παρουσιάζονται. APC: αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο (3).....	51

Εικόνα 15. Ρόλος των λοιμώξεων στην αυτοανοσία. Οι λοιμώξεις μπορούν να προωθήσουν την ενεργοποίηση των αυτοδραστικών λεμφοκυττάρων με την πρόκληση της έκφρασης των συνεπαγωγέων (A) ή τα μικροβιακά αντιγόνα μπορούν να μιμηθούν αυτοαντιγόνα και να ενεργοποιήσουν τα αυτοδραστικά λεμφοκύτταρα ως διασταυρούμενη αντίδραση (B). (3)	54
Εικόνα 16. Δείκτες επιφανείας (markers) ρυθμιστικών T λεμφοκυττάρων (προσαρμογή από Piccirillo C.A., Thornton A M. Trends in Immunology 2004;25(7):374-80)	58
Εικόνα 17. Υποπληθυσμοί T ρυθμιστικών κυττάρων	59
Εικόνα 18. Υποπληθυσμοί Tregs ανάλογα με την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα FOXP3. (Προσαρμογή από Rothstein DM. J. Am Soc Nephrol. 2006;17:2644)	59
Εικόνα 19. Τρόποι δράσης διαφορετικών τύπων ρυθμιστικών/κατασταλτικών λεμφοκυττάρων στην περιφέρεια (προσαρμογή από Jiang H et al N. Engl J Med 2006;354(11):1166-76)	61
Εικόνα 20. Η διπλή λειτουργία των μορίων συνδιέγερσης (προσαρμογή από Najafian N. 2008 www.Nephrologygrounds.org)	62
Εικόνα 21. Δομή Κυτταρομεγαλοϊού	63
Εικόνα 22. Έγκλειστα CMV δίκην οφθαλμού κουκουβάγιας	65
Εικόνα 23. Πορεία των ενεργοποιημένων Tregs (Από Biolegend.com)	68
Εικόνα 24. Ασθενής με ΙΦΝΕ του τύπου v.Crohn, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x100 (ικανός αριθμός λεμφοπλασματοκυττάρων, παρουσία λεμφοζιδίων, ουδετεροφιλική διήθηση, κρυπτίτιδα, διάβρωση επιφανειακού επιθηλίου, διακρίνονται ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα)	74
Εικόνα 25. Ασθενής με ΙΦΝΕ του τύπου v.Crohn, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200 (ικανός αριθμός λεμφοπλασματοκυττάρων, παρουσία λεμφοζιδίων, ουδετεροφιλική διήθηση, κρυπτίτιδα, διάβρωση επιφανειακού επιθηλίου, διακρίνονται ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα)	74
Εικόνα 26. Ασθενής με ΙΦΝΕ του τύπου v.Crohn, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x100 (ικανός αριθμός λεμφοπλασματοκυττάρων, παρουσία λεμφοζιδίων, ουδετεροφιλική διήθηση, κρυπτίτιδα, διάβρωση επιφανειακού επιθηλίου, διακρίνονται ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα)	74
Εικόνα 27. Ασθενής με ΙΦΝΕ του τύπου v.Crohn, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x100 (ικανός αριθμός λεμφοπλασματοκυττάρων, παρουσία λεμφοζιδίων, ουδετεροφιλική διήθηση, κρυπτίτιδα, διάβρωση επιφανειακού επιθηλίου, διακρίνονται ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα)	74
Εικόνα 28. Ασθενής με ΙΦΝΕ, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200 (κρυπτίτιδα, ουδετεροφιλική διήθηση κρυπτών)	75
Εικόνα 29. Ασθενής με ΙΦΝΕ, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200 (κρυπτίτιδα, ουδετεροφιλική διήθηση κρυπτών)	75
Εικόνα 30. Ασθενής με ΙΦΝΕ, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x100 (παρουσία κρυπτικών αποστημάτων, διακρίνεται ομάδα ουδετεροφίλων εντός του αυλού των αδενίων)	75
Εικόνα 31. Ασθενής με ΙΦΝΕ, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200 (κρυπτίτιδα, ουδετεροφιλική διήθηση κρυπτών)	75
Εικόνα 32. Ασθενής με ΙΦΝΕ, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200 (κρυπτίτιδα, ουδετεροφιλική διήθηση κρυπτών)	75

Εικόνα 33. Ασθενής με ΙΦΝΕ, χρώση Αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200 (αποστημάτια, λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση με συμμετοχή ηωσινοφίλων πολυμορφοπυρήνων και υπεραϊμία τριχοειδών αγγείων).....	75
Εικόνα 34. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x200 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού).....	76
Εικόνα 35. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x200 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού).....	76
Εικόνα 36. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x200 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού).....	76
Εικόνα 37. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x400 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού).....	76
Εικόνα 38. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x400 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού).....	77
Εικόνα 39. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x200 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού).....	77
Εικόνα 40. Ανοσοϊστοχημεία για CMV, x200 (παρουσία πυρηνικών εγκλείστων του κυτταρομεγαλοϊού).....	77
Εικόνα 41. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100	78
Εικόνα 42. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	78
Εικόνα 43. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x400	79
Εικόνα 44. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100	79
Εικόνα 45. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100	80
Εικόνα 46. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	80
Εικόνα 47. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100	81
Εικόνα 48. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	81
Εικόνα 49. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	82
Εικόνα 50. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	82
Εικόνα 51. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100	83
Εικόνα 52. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	83
Εικόνα 53. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	84
Εικόνα 54. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100	84
Εικόνα 55. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	85
Εικόνα 56. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	85
Εικόνα 57. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100	86
Εικόνα 58. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	86
Εικόνα 59. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100	87
Εικόνα 60. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100	87
Εικόνα 61. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100	88
Εικόνα 62. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x100	88
Εικόνα 63. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	89
Εικόνα 64. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x400	89
Εικόνα 65. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	90
Εικόνα 66. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x400	90
Εικόνα 67. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	91
Εικόνα 68. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x200	91

Εικόνα 69. Πυρηνική χρώση για Foxp3 στα T ρυθμιστικά κύτταρα, x400 92

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Kumar V, Abbas A, Fausto N.** *Robbins & Cotran Παθολογοανατομική βάση νοσημάτων με στοιχεία παθογένειας.* Αθήνα : Π.Χ.Πασχαλίδης, 2008.
2. **al, Gewirtz AT et.** Intestinal epithelial pathobiology: past, present and future. *Best Practice & Research: Clinical Gastroenterology.* 2002, 16, p. 851.
3. **al, Guerrant RL et.** Magnitude and impact of diarrheal diseases. *Archives of Medical Research.* 2002, 33, p. 351.
4. **Robbins, Cotran, Kumar, Abbas, Fausto.** *Παθολογοανατομική βάση νοσημάτων με στοιχεία παθογένειας.* Αθήνα : Πασχαλίδης, 2008.
5. **McKenna BJ, Appelman HD.** Dysplasia can be a pain in the gut. *Pathology.* 2002, 34, p. 518.
6. **DM, McKay.** Intestinal inflammation and the gut microflora. *Canadian journal of gastroenterology.* 1999, 13, p. 509.
7. **al, Davis MM et.** Ligand recognition by alpha beta T cell receptors. *Annual review of Immunology.* 1998, 16, p. 523.
8. **Hennecke J, Wiley DC.** T cell receptor-MHC interactions up close. *Cell.* 2001, 104, p. 1.
9. **A, Weiss.** Structure and function of the T cell antigen receptor. *Journal of Clinical Investigation.* 1990, 86, p. 1015.
10. **AC, Hayday.** gd cells: a right time and a right place for a conserved third way of protection. *Annual Review of Immunology.* 2000, 18, p. 975.
11. **Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA.** CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annual Review of Immunology.* 1996, 14, p. 233.
12. **von Adrian UH, Mackay CR.** T-cell function and migration. Two sides of the same coin. *New England Journal of Medicine.* 2000, 343, p. 1020.
13. **al, Abbas AK et.** Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature.* 1996, 383, p. 787.
14. **JG, Cyster.** Chemokines and cell migration in secondary lymphoid organs. *Science.* 1999, 286, p. 2098.
15. **RE, Mebius.** Organogenesis of lymphoid tissues. *Nature Reviews Immunology.* 2003, 3, p. 292.
16. **Clark EA, Ledbetter JA.** How B and T cells talk to each other. *Nature.* 1994, 367, p. 425.
17. **Clark LB, Foy TM, Noelle RJ.** CD40 and its ligand. *Advances in Immunology.* 1996, 63, p. 43.

18. **Mellman I, Steinman RM.** Dendritic cells: specialized and regulated antigen processing machines. *Cell*. 2001, 106, p. 255.
19. **al, Banchereau J et.** Immunobiology of dendritic cells. *Annual Review of Immunology*. 2000, 18, p. 767.
20. **Liu, Dr Y.-J.** Houston : M.D. Anderson Cancer Center.
21. **Cerwenka A, Lanier LL.** Natural killer cells, viruses and cancer. *Nature Reviews Immunology*. 2001, 1, p. 41.
22. **al, Kyewski B et.** Promiscuous gene expression and central T-cell tolerance: more than meets the eye. *Trends in Immunology*. 2002, 23, p. 364.
23. **al, Anderson MS et.** Projection of an immunological self shadow within the thymus by the AIRE protein. *Science*. 2002, 298, p. 1395.
24. **Walker LS, Abbas AK.** The enemy within: keeping self-reactive T-cells at bay in the periphery. *Nature Reviews Immunology*. 2002, 2, p. 11.
25. **Van Parijs L, Abbas AK.** Homeostasis and self-tolerance in the immune system: turning lymphocytes off. *Science*. 1998, 280, p. 243.
26. **RH, Schwartz.** T cell anergy. *Annual Reviews Immunology*. 2003, 21, p. 305.
27. **EM, Shevach.** CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nature Reviews Immunology*. 2002, 2, p. 389.
28. **F, Ramsdell.** Foxp3 and natural regulatory cells: key to a cell lineage? *Immunity*. 2003, 19, p. 165.
29. **al, Siegel RM et.** The multifaceted role of Fas signaling in immune cell homeostasis and autoimmunity. *Nature Immunology*. 2000, Vol. 1, p. 469.
30. **S, Nagata.** Fas ligand-induced apoptosis. *Annual Review of Genetics*. 1999, 33, p. 29.
31. **Marrack P, Kappler J, Kotzin BL.** Autoimmune disease: why and where it occurs. *Nature Medicine*. 2001, 7, p. 899.
32. **Kamradt T, Mitchison NA.** Tolerance and autoimmunity. *New England Journal of Medicine*. 2001, 344, p. 655.
33. **Encinas JA, Kuchroo VK.** Mapping and identification of autoimmunity genes. *Current Opinion in Immunology*. 2000, 12, p. 691.
34. **al, Wakeland EK et.** Delineating the genetic basis of systemic lupus erythematosus. *Immunity*. 2001, 15, p. 397.
35. **BH, Nelson.** Interleukin-2 signaling and the maintenance of self-tolerance. *Current Directions in Autoimmunity*. 2002, 5, p. 92.

36. **Ravetch JV, Bolland S.** IgG Fc receptors. *Annual Review of Immunology*. 2001, 19, p. 275.
37. **Chatenoud L, Salomon B, Bluestone JA.** Suppressor T cells -they're back and critical for regulation of autoimmunity! *Immunology Review*. 2001, 182, p. 149.
38. **Athanassakis I, Vassiliadis S.** T-regulatory cells: Are we re-discovering T suppressors? *Immunology Letters*. 2002, 84, pp. 179-183.
39. **Dorf ME, Benacerraf B.** Suppressor cells and immunoregulation. *Annual Review of Immunology*. 1984, 2, pp. 127-157.
40. **Randolph DA, Fathman CG.** CD4+ CD25+ regulatory T cells and their therapeutic potential. *Annual Review Medicine*. 2006, 57, pp. 381-402.
41. **Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M et al.** Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *Journal of Immunology*. 1995, 155, pp. 1151-1164.
42. **Thornhpton AM, Shevach EM.** CD4+CD25+ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation in vitro by inhibiting interleukin 2 production. *The Journal of Experimental Medicine*. 1998, 188, pp. 287-296.
43. **S, Sakaguchi.** Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annual Review of Immunology*. 2004, 22, pp. 531-562.
44. **Ng WF, Duggan PJ, Ponchel F, et al.** Human CD4+CD25+ cells: a naturally occurring population of regulatory T cells. *Blood*. 2001, 98, pp. 2736-2744.
45. **Baecher-Allan C, Brown JA, Freeman GJ, et al.** CD4+CD25 high regulatory cells in human peripheral blood. *Journal of Immunology*. 2001, 167, pp. 1245-1256.
46. **Hori S, Nomura T, Sakaguchi S.** Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*. 2003, 299, pp. 1057-1066.
47. **Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY.** Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nature Immunology*. 2003, Vol. 4, pp. 330-336.
48. **Gambineri E, Torgerson TR, Ochs HD.** Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, and X-linked inheritance (IPEX), a syndrome of systemic autoimmunity caused by mutations of FOXP3, a critical regulator of T-cell homeostasis. *Current Opinion in Rheumatology*. 2003, 15, pp. 330-336.
49. **Asano M, Toda M, Sakaguchi N et al.** Autoimmune disease as a consequence of developmental abnormality of a T cell subpopulation. *The Journal of Experimental Medicine*. 1996, 184, pp. 387-396.

50. **Itoh M, Takahashi T, Sakaguchi N et al.** Thymus and autoimmunity: production of CD25+CD4+ naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. *Journal of Immunology*. 1999, 162, pp. 5317-5326.
51. **Ling S, Alard P, Zhao Y et al.** Conversion of CD4+CD25- cells into CD4+CD25+ regulatory T cells in vivo requires B7 costimulation but not the thymus. *Journal of Experimental Medicine*. 2005, 201, pp. 127-133.
52. **Alyanakian MA, You S, Damotte D et al.** Diversity of regulatory CD4+ T cells controlling distinct organ-specific autoimmune diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*. 2003, 100, pp. 15806-15811.
53. **Zheng SG, Wang JH, Gray JD, et al.** natural and induced CD4+CD25+ cells educate CD4+CD25- cells to develop suppressive activity: the role of IL-2, TGF-beta and IL-10. *Journal of Immunology*. 2004, 172, pp. 5213-21.
54. **Suri-Payer E, Cantor H.** Differential cytokine requirements for regulation of autoimmune gastritis and colitis by CD4+CD25+ T cells. *Journal of Autoimmunity*. 2001, 16, pp. 115-23.
55. **Allan SE, Broady R, Gregory S, et al.** CD4+T regulatory cells: Toward therapy for human diseases. *Immunology Reviews*. 2008, 223, pp. 391-421.
56. **Huehn J, Siegmund K, Lehman JC, et al.** Development, stage, phenotype and migration distinguish naive- and effector/memory-like CD+ regulatory T cells. *Journal of Experimental Medicine*. 2004, 199, pp. 303-313.
57. **Alegre ML, Najafian N.** Costimulatory molecules as targets for the induction of transplantation tolerance. *Current Molecular Medicine*. 6, pp. 843-857.
58. **Kundig TM, Schorle H, Bachman MF, et al.** Immune responses in interleukin-2-deficient mice. *Science*. 1993, 262, pp. 1059-1061.
59. **Antov A, Yang L, Vig M, et al.** Essential role for STAT5 signaling in CD25+CD4+ regulatory T cell homeostasis and the maintenance of self-tolerance. *Journal of Immunology*. 2003, 171, pp. 3435-41.
60. **Wang X, et al.** Epidermal growth factor receptor is a cellular receptor for human cytomegalovirus. *Nature*. 2003, 424, p. 456.
61. **Lehner PJ, Wilkinson GW.** Cytomegalovirus: from evasion to suppression? *Nature Immunology*. 2001, 2, p. 993.
62. **Sinzger C, Jahn G.** Human cytomegalovirus cell tropism and pathogenesis. *Intervirology*. 1996, 39, p. 302.
63. **Andrews DM, Andoniou CE, Granucci F, Ricciardi-Castagnoli P, Degli-Esposti MA.** Infection of dendritic cells by murine cytomegalovirus induces functional paralysis. *Nature Immunology*. 2001, 2, p. 1077.

64. **Kaufmann SHE, Sher A, Ahmed R.** *Immunology of Infectious Diseases*. Washington, DC : ASM Press, 2002.
65. **Yewdell JW, Hill AB.** Viral interference with antigen presentation. *Nature Immunology*. 2002, 3, p. 1019.
66. **Furman MH, Ploegh HL.** Lessons from viral manipulation of protein disposal pathways. *Journal of Clinical Investigation*. 2002, 110, p. 875.
67. **Benedict C, Norris P, Ware C.** To killi or be killed: viral evasion of apoptosis. *Nature Immunology*. 2002, 11, p. 1013.
68. **Pandiyan P, Zheng L, Lenardo MJ.** The molecular mechanisms of regulatory T cell immunosuppression. *Frontiers in immunology*. 2011, 2, p. 60.
69. **Rudensky AY, Campbell DJ.** In vivo sites and cellular mechanisms of T reg cell-mediated suppression. *Journal of Experimental Medicine*. 2006, 203, pp. 489-92.
70. **Canavan JB, Scotta c, Vossenkamper A, Goldberg R, Elder MJ, Shoval I et al.** Developing in vitro expanding CD45RA+ regulatory T cells as an adoptive cell therapy for Crohn's disease. *Gut*. 2015.
71. **Kasagi S, Zhang P, Che L, Abbatiello B, Maruyama T, Nakatsukasa H, et al.** In vivo-generated antigen-specific regulatory T cells treat autoimmunity without compromising antibacterial immune response. *Science Translational Medicine*. 2014, 6, p. 241ra78.
72. **Koreth J, matsuoka K, Kim HT, McDonough SM, Bindra B, Alyea EP, 3rd, et al.** Interleukin-2 and regulatory T cells in graft-versus-host disease. *New England Journal of Medicine*. 2011, 365, pp. 2055-66.
73. **Singer BD, King LS, D'Alessio FR.** Regulatory T cells as immunotherapy. *Frontiers in Immunology*. 2014, 5, p. 46.
74. **Beriou G, Costantino CM, Ashley CW, Yang L, Kuchroo VK, Baecher-Allan C, et al.** IL-17-producing human peripheral regulatory cells retain suppressive function. *Blood*. 2009, 113, pp. 4240-9.
75. **Du R, Zhao H, Yan F, Li H.** Il-17+Foxp3+ T cells: an intermediate differentiation stage between Th17 cells and regulatory T cells. *Journal of Leukocyte Biology*. 2014, 96, pp. 39-48.
76. **Pesenacker AM, Broady R, Levings MK.** Control of tissue-localized immune responses by human regulatory T cells. *European Journal of Immunology*. 2014.
77. **Takahashi R, Yoshimura A.** SOCS1 and regulation of regulatory T cells plasticity. *Journal of Immunology Research*. 2014, 94, pp. 31-49.
78. **Zhou X, Bailey-Bucktrout S, Jeker LT, Bluestone JA.** Plasticity of CD4+Foxp3+ T cells. *Current Opinion in Immunology*. 2009, 21, pp. 281-5.

79. **Stock P, Akbari O, Berry G, Freeman GJ, DekruyffRH, Umetsu DT.** Induction of T helper type1-like regulatory cells that express Foxp3 and protect against airway hyper-reactivity. *Nature Immunology*. 2004, 5, pp. 1149-56.
80. **Voo KS, Wang WH, Santori FR, Boggiano C, Wang YH, Arima K, et al.** Identification of IL-17- producing Foxp3+ regulatory T cells in human. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 2009, 106, pp. 4793-8.
81. **Sanchez Rodriguez R, Pauli ML, Neuhaus IM, Yu SS, Arron ST, Harris HW, et al.** Memory regulatory T cells reside in human skin. *Journal of Clinical Investigation*. 2014, 124, pp. 1027-36.
82. **Dominguez-Villar M, Baecher-Allan CM, Hafler DA.** Identification of T helper type 1-like, Foxp3+ regulatory T cells in human autoimmune disease. *Nature Medicine*. 2011, 17, pp. 673-5.
83. **Oldenhove G, Bouladoux N, Wohlfert EA, Hall JA, Chou D, Dos Santos L, et al.** Decrease of Foxp3+Treg cell number and acquisition of effector cell phenotype during lethal infection. *Immunity*. 2009, 31, pp. 772-86.
84. **Bhaskaran N, Cohen S, Zhang Y, Weinberg A, Pandiyan P.** TLR-2 signaling promotes IL-17A production in CD4+CD25+Foxp3+ regulatory cells during Oropharyngeal candidiasis. *Pathogens*. 2015, 4, pp. 90-110.
85. **Whibley N, Gaffen SL.** Brothers in arms: Th17 and Treg responses in *Candida albicans* immunity. *PLOS Pathogens*. 2014, 10, p. e1004456.
86. **Pandiyan P, Bhaskaran N, Zhang Y, Weinberg A.** Isolation of T cells from mouse oral tissues. *Biological Procedures online*. 2014, 16, p. 4.
87. **Pandiyan P, Conti HR, Zheng L, Peterson AC, Mathern DR, Hernandez-Santos N, et al.** CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells promote Th17 cells in vitro and enhance host resistance in mouse *Candida albicans* Th17 cell infection model. *Immunity*. 2011, 34, pp. 422-34.
88. **Bhaskaran N, Weinberg A, Pandiyan P.** Th17 inflammation model of Oropharyngeal candidiasis in immunodeficient mice. *Journal of Visualized Experiments*. 2015, JoVE.
89. **Pandiyan Pushpa, Jinfang Zhu.** Origin and functions of pro-inflammatory cytokine producing Foxp3+ regulatory T cells. *Cytokine*. 2015, 76, pp. 13-24.
90. **Khalid Bin Dhuban, Mara Kornete, Edward Mason, Ciriaco Piccirillo.** Functional dynamics of Foxp3+ regulatory T cells in mice and humans. *Immunological Reviews*. April 09, 2014, p. 14.
91. **Alexander, Rudensky.** Regulatory T cells and Foxp3. *Immunological Reviews*. May 2011, pp. 260-268.

92. **Borsellino G, Kleinewitfeld M, Di MD, Sternjak A, Dimantini A, Giometto R, et al.** Expression of ectonucleotidase CD39 by Foxp3⁺ Treg cells: hydrolysis of extracellular ATP and immune suppression. *Blood*. August 15, 2007, Vol. 4, 110, pp. 1225-32.
93. **Read S, Malmstrom V, Powrie F.** Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25(+)CD4(+) regulatory cells that control intestinal inflammation. *Journal of Experimental Medicine*. July 17, 2000, Vol. 2, 192, pp. 295-302.
94. **Kitazawa Y, Fujino M, Wang Q, Kimura H, Azuma M, Kubo M, et al.** Involvement of the programmed death-1 ligand pathway in CD4+CD25+ regulatory T-cell activity to suppress alloimmune responses. *Transplantation*. March 27, 2007, Vol. 6, 83, pp. 774-82.
95. **Levin SD, Taft DW, Brandt CS, Bucher C, Howard ED, Chadwick EM, et al.** Vstm3 is a member of the CD28 family and an important modulator of T-cell function. *European Journal of Immunology*. April 2011, Vol. 4, 41, pp. 902-15.
96. **Cebula A, Seweryn M, Rempala GA, Pabla SS, McIndoe RA, Denning TL et al.** Thymus-derived regulatory T cells contribute to tolerance to commensal microbiota. *Nature*. 2013, 497, pp. 258-262.
97. **Rieger K, Loddenkemper C, Maul J, Fietz T, Wolff D, Terpe H, et al.** Mucosal Foxp3⁺ regulatory T cells are numerically deficient in acute and chronic GvHD. *Blood*. February 15, 2006, Vol. 107, 4, pp. 1721-1722.
98. **Lord J, Shows D, Chen J, Thirlby R.** Human blood and Mucosal regulatory T cells express activation markers and inhibitory receptors in inflammatory bowel disease. *Plos One*. August 25, 2015, p. 11.
99. **Lord JD, Valliant-Saunders K, hahn H, Thirlby RC, Xiegler SF.** paradoxically increased Foxp3⁺ T cells in IBD do not preferentially express the idoform of Foxp3 lacking exon 2. *Digestive Diseases and Science*. November 2012, Vol. 11, 57, pp. 2846-55.
100. **Saruta M, Yu QT, Fleshner PR, Mantel PY, Schmidt-Weber CB, Banham AH, et al.** Characterization of FOXP3+CD4+ regulatory T cells in Crohn's disease. *Clinical Immunology*. December 281-90 2007, Vol. 3, 125.
101. **Fantini MC, Becker C, Monteleone G, Pallone F, Galle PR, Neurath MF.** Cutting edge: TGF-beta induces a regulatory phenotype in CD4+. *Journal of Immunology*. May 1, 2004, Vol. 9, 172, pp. 5149-53.
102. **Thornton AM, Korty PE, Tran DQ, Wohlfert EA, Murray PE, Belkaid Y, et al.** Expression of Helios, an Ikaros transcription factor family member, differentiates thymic-derived from peripherally induced Foxp3⁺ T regulatory cells. *Journal of Immunology*. April 1, 2010, Vol. 7, 184, pp. 3433-41.
103. **Allan SE, Crome SQ, Crellin NK, Passerini L, Steinert TS, Bacchetta R, et al.** Activation-induced FOXP3 in human T effector cells does not suppress proliferation or cytokine production. *Internal Immunology*. April 2007, Vol. 4, 19, pp. 345-54.

104. **Li L, Bousiotis VA.** The role of IL-17-producing Foxp3+CD4+ T cells in inflammatory bowel disease and colon cancer. *Clinical Immunology*. 2013, 148, pp. 246-53.
105. **Rafailidis PI, Mourtzoukou EG, Varboritis IC, Falagaw ME.** Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Virology Journal*. 2008, 27, pp. 47-54.
106. **Matsuoka K, Iwao Y, Mori T, Sakuraba A, Yajima T, Hisamatsu T, Okamoto S, Motoroshi Y, Izumiya M, Ichikawa H, Sato T, Inoue N, Ogata H, Hibi T.** Cytomegalovirus is frequently reactivated and disappears without antiviral agents in ulcerative colitis patients. *The American Journal of Gastroenterology*. 2007, 102, pp. 331-337.
107. **Onyeagocha C, Hossain MS, Kumar A, Jones RM, Roback J, Gewirtz AT.** Latent cytomegalovirus infection exacerbates experimental colitis. *The American Journal of Pathology*. 2009, 175, pp. 2034-2042.
108. **Maul J, Loddenkemper C, Mundt P, et al.** Peripheral and intestinal regulatory CD4+CD25high T cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2005, 128, pp. 1868-1878.
109. **Taylor PA, Less CJ, Blazar BR.** The infusion of ex vivo activated and expanded CD4+CD25+ immune regulatory cells inhibits graft-versus-host disease lethality. *Blood*. 2002, 99, pp. 3493-3499.
110. **Hanash AM, Levy RB.** Donor CD4+CD25+ T cells promote engraftment and tolerance following MHC-mismatch hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2005, 105, pp. 1828-1836.
111. **Tan YF, Yu SJ, Wang J, Li SJ.** Role of Treg/Th17 balance in the pathogenesis of cytomegalovirus infection. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi (Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology)*. June 28, 2012, pp. 649-51.
112. **Lord J, Chen J, Kozarek R.** A case of fatal idiopathic enteritis and multiple opportunistic infections associated with dendritic cell deficiencies. *Journal of gastrointestinal and Liver Diseases*. March 2013, 22, pp. 87-91.
113. **Diepersloot RJ, Kroes AC, Visser W, Jiwa NM, Rothbarth PH.** Acute ulcerative proctocolitis associated with primary cytomegalovirus infection. *Archives of Internal Medicine*. 1990, 150, pp. 1749-1751.
114. **Kim YS, Kim YH, Kim JS, Cheon JH, Ye BD, Jung SA, Park YS, Choi CH, Jang BI, Han DS, Yang SK, Kim WH IBD Study group of the KASID.** Cytomegalovirus infection in patients with new ulcerative colitis: a prospective study. *Hepatogastroenterology*. 2012, 59, pp. 1098-1101.
115. **Kim JJ, Simpson N, Klipfel N, Debose R, Barr N, Laine L.** Cytomegalovirus infection in patients with active inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Science*. 2010, 55, pp. 1059-1065.

116. **Verdonk RC, Haagsma EB, Kleibeuker JH, Dijkstra G.** Cytomegalovirus infection increases the risk for inflammatory bowel disease. *American Journal of Pathology*. 2010, 176, p. 3098.
117. **Sun L, Nava GM, Stappenbeck TS.** Host genetic susceptibility dysbiosis, and viral triggers in inflammatory bowel disease. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2011, 27, pp. 321-327.
118. **Raed Al-Zafiri, Adrian Cologan, Polymnia Galiatsatos, Andrew Szilagyi.** Cytomegalovirus complicating inflammatory bowel disease. *Gastroenterology & Hepatology Volume 8*. April 2012, 4, pp. 230-239.
119. **Pushpa Pandiyan, Jinfang Zhu.** Origin and functions of pro-inflammatory cytokine producing Foxp3 regulatory T cells. *Cytokine*. November 2015, pp. 13-24.
120. **Rieger K, Loddenkemper C, Maul J, Fietz T, Wolff D, Terpe H et al.** Mucosal Foxp3+ regulatory T cells are numerically deficient in acute and chronic GvHD. *Blood*. February 15, 2006, Vol. 107, 4, pp. 1721-1722.
121. **Onyeagocha C, Hossain MS, Kumar A, Jones RM, Roback J, Gewirtz AT.** Latent cytomegalovirus infection exacerbates experimental colitis. *The American Journal of Pathology*. 2009, 175, pp. 2034-2042.
122. **Nicolas Leveque, Hedia Brixi-Benmansour, Thierry Reig, Fanny Renois, Deborah Talmud, Veronique Brodard et al.** Low frequency of Cytomegalovirus infection during exacerbations of inflammatory bowel disease. *Journal of Medical Virology*. 2010, pp. 1694-1700.
123. **Lord J, Shows D, Chen J, Thirlby R.** Human Blood and Mucosal Regulatory T cells express activation markers and inhibitory receptors in inflammatory bowel disease. *Plos One*. August 25, 2015, p. 11.
124. **Lord J, Chen J, Kozarek R.** A case of fatal idiopathic enteritis and multiple opportunistic infections associated with dendritic cell deficiencies. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*. March 2013, Vol. 22, pp. 87-91.
125. **Li L, Boussiotis VA.** The role of IL-17-producing Foxp3+CD4+ T cells in inflammatory bowel disease and colon cancer. *Clinical Immunology*. 2013, 148, pp. 246-53.
126. **Hanash AM, Levy RB.** Donor CD4+CD25+ T cells promote engraftment and tolerance following MHC-mismatch hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2005, 105, pp. 1828-1836.
127. **Cebula A, Seweryn M, Rempala GA, Pabla SS, McIndoe RA, Denning TL et al.** Thymus-derived regulatory T cells contribute to tolerance to commensal microbiota. *Nature*. 2013, 497, pp. 258-62.

128. **Khalid Bin Dhuban, Mara Kornete, Edward Mason, Ciriaco Piccirillo.** Functional dynamics of Foxp3+ regulatory T cells in mice and humans. *Immunological Reviews*. April 09, 2014, p. 14.
129. **Saruta M, Yu QT, Fleshner PR, Mantel PY, Schmidt-Weber CB, Banham AH, et al.** Characterization of Foxp3+CD4+ regulatory T cells in Crohn's disease. *Clinical Immunology*. December 2007, pp. 281-90.
130. **Tan YF, Yu SJ, Wang J, Li SJ.** Role of Treg/Th17 balance in the pathogenesis of cytomegalovirus infection. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*. June 28, 2012, pp. 649-51.
131. **Taylor PA, Less CJ, Blazar BR.** The infusion of ex vivo activated and expanded CD4+CD25+ immune regulatory cells inhibits graft-versus-host disease lethality. *Blood*. 2002, 99, pp. 3493-3499.
132. **Uhlig HH, Coombes J, Mottet C, Izcue A, Thompson C, Fanger A, et al.** Characterization of Foxp3+CD4+CD25+ and IL-10 secreting CD4+CD25+ T cells during cure of colitis. *Journal of Immunology*. November 1, 2006, pp. 5852-60.
133. **Yu QT, Saruta M, Avanesyan A, Fleshner PR, Banham AH, Papadakis KA.** Expression and functional characterization of Foxp3+CD4+ regulatory T cells in ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Disease*. February 2007, pp. 191-9.
134. **Lord JD, Valliant-Saunders K, Hahn H, Thirlby RC, Ziegler SF.** Paradoxically increased Foxp3+ T cells in IBD do not preferentially express the isoform of Foxp3 lacking exon 2. *Digestive Diseases and Science*. November, November 2012, Vol. 57, 11, pp. 2846-55.
135. **Rudensky, Alexander.** Regulatory T cells and Foxp3. *Immunological Reviews*. May 2011, pp. 260-268.
136. **Rafailidis PI, Mourtzoukou EG, Varboritis IC, Falagas ME.** Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Virology Journal*. 2008, 27, pp. 47-54.