



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΡΕΥΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ

ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ:
ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ



Επιμέλεια Έκδοσης: Κ.Α. Μποκή, Μ.Ν. Μανουσάκης

• Αθήνα, 28 Σεπτεμβρίου 2002

Παρά τη σημαντική πρόοδο, η αιτιολογία των αυτοάνοσων νοσημάτων, καθώς και οι μηχανισμοί που επάγουν και συντηρούν τις παθογόνες αυτοάνοσες διεργασίες παραμένουν ασαφείς. Τόσο η χυμική (αντισώματα) όσο και η κυτταρική (δραστικά Τ λεμφοκύτταρα) ανοσολογική απόκριση συμμετέχουν στην ανάπτυξη ιστικών βλαβών στα αυτοάνοσα νοσήματα. Σε αυτές τις παθογενετικές διεργασίες, τα Τ λεμφοκύτταρα κατέχουν κεντρικό ρόλο. Έτσι, η κατανόηση του ρόλου των ανοσολογικών μηχανισμών, του γενετικού υποστρώματος και των περιβαλλοντικών παραγόντων στην παραγωγή και έκπτυξη των αυτοδραστικών Τ λεμφοκυττάρων αποτελούν σημαντικούς στόχους έρευνας των παραπάνω ασθενειών.

Είναι καλά διαπιστωμένο ότι η εκδήλωση των αυτοάνοσων νοσημάτων είναι πολυπαραγοντική, ενώ η έκφραση είναι πολύμορφη. Σε νοσήματα όπου έχει διενεργηθεί γονιδιακός έλεγχος, έχει υπολογισθεί ότι πολλαπλά γονίδια (συνήθως >20) συσχετίζονται με την εκδήλωση νόσου και την πιθανή συμμετοχή πολλών δεκάδων άλλων. Η έρευνα αυτών των πολύπλοκων γενετικών και παθοφυσιολογικών παραμέτρων των αυτοάνοσων νοσημάτων έχει πολύ υποστηριχθεί από την μελέτη ζωικών πειραματικών πρότυπων αυτοάνοσων νοσημάτων (ιδιαίτερα στελεχών ποντικών), τόσο ζώων που παρουσιάζουν αυθόρμητη έκφραση νόσου, όσο και ζώων τα οποία έχουν υποστεί τεχνητή τροποποίηση των γενετικών χαρακτηριστικών. Μεταξύ αυτών στην επισκόπηση αυτή θα αναφερθούμε ιδιαίτερα σε δεδομένα τα οποία έχουν συναχθεί από την μελέτη ζωικών πειραματικών πρότυπων του αυτοάνοσου σακχαρώδη διαβήτη (τύπου Ι), όπως το ποντίκι NOD (Non Obese Diabetic) το οποίο εκφράζει αυθόρμητα αυτοάνοσο διαβήτη που προσομοιάζει αρκετά στην ανθρώπινη νόσο και αποτελεί το πιο καλά μελετημένο τύπο ζωικού αυτοάνοσου νοσήματος.

Μηχανισμοί ανάπτυξης αυτοανοσίας

Το ανοσολογικό σύστημα αποτελεί ένα ιδιαίτερα αποτελεσματικό όργανο για την καταπολέμηση των λοιμογόνων οργανισμών, την καταστροφή των μολυσμένων κυττάρων και γενικά των παραγόντων που μπορεί να αποβούν επιβλαβή για τον οργανισμό. Σύμφωνα με το κυρίαρχο ανοσολογικό δόγμα, η αναγνώριση των επιβλαβών στοιχείων βασίζεται στην διάκριση στοιχείων "εαυτού-ξένο" (self/non-self). Έτσι δημιουργείται μια κατάσταση όπου δεν αναπτύσσεται παθολογική αντίδραση κατά στοιχείων τα οποία ο οργανισμός "αντιλαμβάνεται" ως "ίδια" και καλείται ανοσολογική ανοχή (immune tolerance). Η ανοσολογική ανοχή μπορεί να αφορά τόσο "ίδια" όσο και "ξένα" αντιγονικά στοιχεία και θεωρείται αποτέλεσμα μιας προηγηθείσας έκθεσης του συστήματος σε αυτά τα αντιγόνα.

Η αυτοανοσία είναι μία κατάσταση διάσπασης των μηχανισμών ανοσολογικής ανοχής και η επαγωγή ανοσολογικών αποκρίσεων κατά στοιχείων του "εαυτού". Από την άλλη πλευρά η γένεση των αυτοάνοσων νοσημάτων φαίνεται ότι απαιτεί όχι μόνο την διάσπαση της ανοσοανοχής αλλά και την ανεπάρκεια των μηχανισμών που φυσιολογικά ρυθμίζουν τις ανοσολογικές αποκρίσεις. Έτσι, η μελέτη της αυτοανοσίας ενέχει ουσιαστικά την μελέτη των μηχανισμών που καθορίζουν την ανάπτυξη ανοσοανοχής και την ρύθμιση των ανοσοαντιδράσεων.

Οι μηχανισμοί επαγωγής και διατήρησης της ανοσολογικής ανοχής μπορούν να διακριθούν σε τρεις βασικές ομάδες. Πιθανότατα, και οι τρεις αυτοί μηχανισμοί συμβάλλουν στην ανάπτυξη ανοσοανοχής, και ως εκ τούτου, η αποτυχία ενός ή και όλων είναι δυνατόν να συντελεί στην επαγωγή αυτοανοσίας.

Α. Εξάλειψη. Η εξάλειψη αποτελεί τον βασικό μηχανισμό ανοσοανοχής και λαμβάνει χώρα κατά κύριο λόγο στον θύμο αδέν (κεντρική ανοσοανοχή) και απαιτεί την παρουσία αυτοαντιγόνου. Τα ανώριμα Τ κύτταρα μεταναστεύουν από τον μελό των οστών στον θύμο όπου στην μεμβράνη αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων συναντούν πεπτιδία συνδεδεμένα κατάλληλα με τα μόρια ιστοσυμβατότητας ΜHC. Τα Τ κύτταρα που φέρουν αντιγονικούς υποδοχείς με χαμηλή συγγένεια για το σύμπλεγμα ΜHC-αντιγόνου δεν προσλαμβάνουν μηνύματα που θα τα διέσωζαν από τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση) και έτσι πεθαίνουν. Τα Τ κύτταρα που φέρουν υψηλής συγγένειας αντιγονικούς υποδοχείς υφίστανται απόπτωση και έτσι επίσης πεθαίνουν (διαδικασία αρνητικής επιλογής). Τέλος, τα Τ κύτταρα που φέρουν ενδιάμεση

συγγένειας αντιγονικούς υποδοχείς ερεθίζονται κατάλληλα και έτσι ωριμάζουν και μεταναστεύουν στην περιφέρεια (θετική επιλογή). Η βιολογική διαδικασία της εξάλειψης δρα και ως μηχανισμός ανοσοανοχής στους περιφερικούς ιστούς (περιφερική ανοσοανοχή), όπου η παρουσίαση αυτοαντιγόνων εν τη απουσία συνεργοποιητικών μηνυμάτων όχι μόνο δεν ενεργοποιεί τα αυτοδραστικά Τ λεμφοκύτταρα, αλλά και τα εξαλείφει με την επαγωγή αποπτωτικού θανάτου. Επιπλέον, οι περιφερικοί ιστοί έχουν την δυνατότητα άμυνας κατά εισβολών αυτοδραστικών Τ κυττάρων με την επαγωγή απόπτωσης, μέσω της πρόσδεσης του υποδοχέα Fas (CD95) που φέρουν.

Β. Ανοσολογική άγνοια. Ως ανοσολογική άγνοια ορίζεται η κατάσταση όπου υπάρχει η αβλαβής παρουσία αντιγόνο-ειδικών κυττάρων τα οποία δεν εξαλείφονται ούτε απενεργοποιούνται, δεδομένου ότι αυτά δεν έρχονται σε επαφή με το αντιγόνο τους, λόγω ανατομικού τους περιορισμού στα λεμφοειδή όργανα και την παραμονή τους εκτός των ιστών-αντιγονικών στόχων. Η θέση αυτή υπονοεί ότι η ανοσοανοχή είναι ενδεχόμενα μια προσωρινή κατάσταση που κάτω από δεδομένες συνθήκες περιβάλλοντος είναι δυνατόν να μεταβληθεί σε δραστική και αυτοβλαπτική. Σύμφωνα με το πρότυπο της μοριακής μίμησης, ένας λοιμογόνος παράγοντας (π.χ. ένας ιός) ενεργοποιεί το ανοσολογικό σύστημα και επάγει μια ανοσολογική απόκριση η οποία αναγνωρίζει διασταυρούμενα τόσο τον ξένο παράγοντα όσο και κάποιο αυτοαντιγόνο.

Η in-vitro ύπαρξη ανοσολογικής άγνοιας υποστηρίζεται από πολλαπλά πειραματικά δεδομένα, όπου η δημιουργία διαγονιδιακών ζώων που φέρουν κάποιο αντιγονοειδικό Τ-κυτταρικό υποδοχέα (T cell antigen receptor, TcR) του οποίου το αντιγόνο εκφράζεται κάπου στο σώμα αλλά κάτω από συνθήκες όπου δεν επάγονται εξάλειψη ή ανέργεια. Σε τέτοια συστήματα έχει δείχθει ότι μια ανοσοποίηση ή λοίμωξη (μέσω μηχανισμού διασταυρούμενης αναγνώρισης) ή ακόμα μη-ειδικά περιβαλλοντικά ερεθίσματα είναι ικανά να διακόψουν την ανοσολογική άγνοια και να θέσουν σε κίνηση την αυτοδραστική ανοσολογική απόκριση. Υπάρχουν ενδείξεις για την ύπαρξη ανάλογων καταστάσεων ανοσολογικής άγνοιας και στους ανθρώπους, όπως για παράδειγμα, η παρουσία σε υγιή άτομα σημαντικού αριθμού αυτοδραστικών Τ κυττάρων κατά της βασικής πρωτεΐνης της μυελίνης (MBP) και άλλων στοιχείων του κεντρικού νευρικού συστήματος, χωρίς να επάγονται αυτοβλαπτικές αντιδράσεις.

Γ. Ανοσολογική ρύθμιση. Κατά τα μοντέλα ανοσολογικής ρύθμισης η ανοσοανοχή βασίζεται στον διαρκή και στενό έλεγχο των αυτοδραστικών Τ λεμφοκυττάρων. Τα μοντέλα αυτά αποδέχονται την συνεχή δημιουργία και παρουσία σε ικανούς αριθμούς αυτοδραστικών λεμφοκυτταρικών κλώνων. Η ρύθμιση επιτελείται με την επαγωγή μιας καταστάσεως απενεργοποίησης που καλείται ανέργεια, αλλά και με την επαγωγή οδών κυτταρικής αναστολής, καθώς και κατασταλτικών κυττάρων. Ανέργεια είναι μια αναστρέψιμη βιολογική κατάσταση των Τ λεμφοκυττάρων η οποία δημιουργείται όταν αυτά υποστούν ατελή ενεργοποίηση, δηλαδή όταν η παρουσίαση αυτοαντιγόνων γίνεται χωρίς την ταυτόχρονη παροχή συνεργοποιητικών μηνυμάτων. Αυτή η ατελής ενεργοποίηση κάνει τα Τ λεμφοκύτταρα ανίκανα να ανταποκριθούν σε δόκιμο πλήρη ερεθισμό και να παράγουν ιντερλευκίνη-2. Η επίδραση των ανασταλτικών κυτταροκινών, όπως της ιντερλευκίνης-10 και του παράγοντα διαφοροποίησης (TGFB) που παράγονται από ποικίλα κύτταρα καθώς και ο ερεθισμός των ανασταλτικών μεμβρανικών υποδοχέων, όπως τα μόρια CTLA4 και PD1 των ενεργοποιημένων Τ κυττάρων (από τα μόρια-συνδέτες B7.1/B7.2 και PDL-1/PDL-2, αντίστοιχα, που εκφράζονται σε ενεργοποιημένα αντιγόνο-παραρυσιαστικά και άλλα κύτταρα) δρουν επίσης περιορίζοντας την ενεργοποίηση των Τ λεμφοκυττάρων. Τέλος, τα τελευταία χρόνια έχει διαπιστωθεί ότι μεταξύ των CD4+ Τ λεμφοκυττάρων υπάρχει υποπληθυσμός που εμφανίζει συντεταγμένη έκφραση μεμβρανικών υποδοχέων της ιντερλευκίνη-2 (CD25) και ανοσοκατασταλτική δραστηριότητα.

Όπως φαίνεται από παρατηρήσεις στα αυτοάνοσα διαβητικά ποντίκια NOD η δράση ποικίλων κυτταροκινών είναι πλεοναστική (redundant) και έτσι η απενεργοποίηση ποικίλων γονιδίων κυτταροκινών (όπως οι ιντερλευκίνες IL-4, IL-10, IL-12p40, και η ιντερφερόνη-γ) δεν επιφέρει ουσιαστική διαφοροποίηση στην νόσο. Ωστόσο, στα ζώα αυτά φαίνεται ότι τα συνεργοποιητικά μόρια της ομάδας CD28/B7 παίζουν ρόλο στην ενεργοποίηση της αυτοάνοσης διεργασίας, αφού η τεχνητή εξάλειψη των γονιδίων των υποδοχέων CD28 CTLA4 ή των μορίων-συνδέτων CD80(B7.1)/CD86(B7.2) επιφέρει επιδείνωση της ινσουλίτιδας και του σακχαρώδη διαβήτη. Ας σημειωθεί ότι στους διαβητικούς ασθενείς και ζώα, η περιοχή του γονιδιώματος (locus) IDDM5 η οποία συσχετίζεται με προδιάθεση για νόσο, εμπεριέχει το γονίδιο του ανασταλτικού συνεργοποιητικού μορίου CTLA4.

Σημασία της απόπτωσης στην επαγωγή αυτοάνοσων φαινομένων

Στα ποντίκια NOD ο σακχαρώδης διαβήτης έχει δείχθει ότι είναι μια Τ-εξαρτώμενη διεργασία, όπου τόσο τα CD4 όσο και τα CD8 λαμβάνουν μέρος στην έκφραση της ασθένειας. Όπως και στους ανθρώπους ασθενείς, η βλάβη στα ποντίκια NOD αφορά εκλεκτικά τα ινσουλινο-παραγωγά β-κύτταρα των νησιδίων του παγκρέατος, ενώ τα α-κύτταρα παραμένουν άθικτα. Πειραματικά δεδομένα που έχουν υποδείξει ότι η αρχική βλάβη επιτελείται κυρίως από αντιγονοειδικά CD4 Τ κύτταρα, με παροδική μόνο υποστήριξη από κυτταροτοξικά CD8 κύτταρα. Έχει προταθεί ότι η καταστροφή των β-κυττάρων των νησιδίων του παγκρέατος οφείλεται στην μη-ειδική επίδραση της φλεγμονώδους διεργασίας (στην οποία είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα τα β-κύτταρα), με την συνδυασμένη κυτταροτοξική επίδραση κυτταροκινών και την επαγωγή έκφρασης μορίων Fas/FasL και του μηχανισμού απόπτωσης. Η απόπτωση ως φυσιολογική διαδικασία ανανέωσης των ιστών, συνήθως είναι ασύγχρονο και περιορισμένης έντασης φαινόμενο, και ως εκ τούτου τα αποπτωτικά κύτταρα καθαίρονται ταχέως από τον οργανισμό από μακροφάγα προκειμένου να αποφευχθεί η δημιουργία απρόσφορης φλεγμονής. Ωστόσο, όταν υπάρχει έντονη φλεγμονώδης απόκριση, η απόπτωση επάγεται πέραν ενός ουδού κατά τον οποίον η κάθαρση των αποπτωτικών κυττάρων δεν επιτελείται πλέον αποτελεσματικά και προσλαμβάνονται από ανώριμα δενδριτικά κύτταρα τα οποία ενεργοποιούνται και διεγείρουν Τ λεμφοκυτταρικές αντιδράσεις παρουσιάζοντας σε αυτά νησιδιακά αντιγόνα (cross-priming). Με αυτό τον τρόπο, δίνεται μια εναλλακτική εξήγηση για την εκλεκτική παρουσίαση αυτοαντιγόνων προς το ανοσολογικό σύστημα σε ιστούς-στόχους όπως τα β-κύτταρα των νησιδίων του παγκρέατος στους ασθενείς και τα πειραματικά πρότυπα αυτοάνοσου σακχαρώδη διαβήτη. Ας σημειωθεί ότι γενικότερα, η διαταραχή στον ρυθμό κάθαρσης των αποπτωτικών κυττάρων έχει υποτεθεί ότι συμβάλλει στις αυτοάνοσες διεργασίες στους ασθενείς με ΣΕΛ καθώς και σε πειραματικά πρότυπα ποντικών με σύνδρομο λύκου. Από την άλλη πλευρά, είναι καλά διαπιστωμένο ότι η διαταραχή έκφρασης των αποπτωτικών μορίων Fas (CD95) και FasL (CD95L) στα φυσικά μεταλλαγμένα ποντίκια Irg και gld, αντίστοιχα, συσχετίζεται με μια αυξημένη επίπτωση αυτοάνοσων φαινομένων και κλινικής νόσου.

Ο ρόλος των αυτοαντιγόνων

Μια ποικιλία από φυσιολογικές ενδοκυττάρειες πρωτεΐνες έχουν διαπιστωθεί ότι αναγνωρίζονται ως αντιγόνα από ασθενείς και ζώα με αυτοάνοσα νοσήματα. Σε πολλές περιπτώσεις, τα αυτοαντιγόνα αυτά ή τα αντίστοιχα αυτοδραστικά λεμφοκύτταρα έχουν δείχθει ικανά να δημιουργήσουν αυτοβλαπτικές καταστάσεις. Επιπλέον, η επέκταση των επιτόπων (epitope spreading) στα ίδια μόρια των αυτοαντιγόνων αλλά και σε διαφορετικές αυτοαντιγονικές πρωτεϊνικές ομάδες έχει συσχετισθεί με την εξέλιξη της νόσου. Η αδόκιμη παρουσίαση αντιγόνων από τους ιστούς στόχους έχει από παλιά υποδειχθεί ως ένας πιθανός μηχανισμός επαγωγής αυτοανοσίας. Ένας λοιμογόνος παράγοντας θα μπορούσε να επάγει την απρόσφορη έκφραση αυτοαντιγόνων και να διεγείρει ανοσολογικές αποκρίσεις, ωστόσο αυτό το ενδεχόμενο χρειάζεται να τεκμηριωθεί. Τα τελευταία χρόνια, έχει υποτεθεί ότι τα αποπτωτικά κύτταρα που δημιουργούνται από την επίδραση των κοκκίων των κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων αποτελούν μια πηγή συγκροτημένων και συγκεντρωμένων αυτοαντιγόνων, ιδίως για τους ασθενείς με ΣΕΛ. Συγκεκριμένα, έχει δείχθει ότι οι αποπτωτικές φυσαλίδες περιέχουν τροποποιημένα πρωτεολυτικά προϊόντα των αυτοαντιγόνων τα οποία είναι δυνατόν να έχουν ρόλο νεοαντιγόνων για το ανοσολογικό σύστημα.

Η συσχέτιση των μορίων ιστοσυμβατότητας ΜHC τάξεως II στους αυτοάνοσους ασθενείς αντανακλά την ικανότητα αυτών των μεμβρανικών πρωτεϊνών να ενεργοποιούν αυτοδραστικά Τ λεμφοκύτταρα παρουσιάζοντας σε αυτά πεπτίδια. Έχει υποτεθεί ότι η παρουσίαση ειδικών αντιγονικών πεπτιδίων στον θύμο αδέντα των ασθενών είναι ατελής και δεν επιτρέπει την απάλειψη (αρνητική επιλογή) των αυτοδραστικών Τ κυτταρικών κλώνων. Η υπόθεση αυτή υποστηρίζεται από πειραματικά δεδομένα στο ποντίκι NOD. Όπως και στους ασθενείς, τρία αυτοαντιγόνα θεωρούνται ως τα πλέον σημαντικά στα ποντίκια με αυτοάνοσο σακχαρώδη διαβήτη, τόσο από την πλευρά της χυμικής ανοσίας (αυτοαντισώματα), όσο και της κυτταρικής ανοσίας (λεμφοκυτταρικές διηθήσεις): η (προ)ινσουλίνη, η αποκαρβοξυλάση του γλουταμικού οξέος (GAD) και το αντιγόνο των νησιδίων παγκρέατος IA-2 (τύπος τυροσινικής φωσφατάσης). Η τεχνητή (διαγονιδιακή) υπερέκφραση προ-ινσουλίνης σε ποντίκια NOD προλαμβάνει πλήρως την εμφάνιση του διαβήτη, πιθανότατα οδηγώντας στην αυξημένη έκφραση του αυτοαντιγόνου στον θύμο αδέντα που επιτρέπει την απάλειψη (αρνητική επιλογή) των ινσουλινο-ειδικών αυτοδραστικών Τ λεμφοκυττάρων.

ρων. Επιπλέον, στους ασθενείς με αυτοάνοσο διαβήτη έχει διαπιστωθεί ότι το επίπεδο ενδοθυμικής έκφρασης της ινσουλίνης (που είναι αυτοαντιγόνο) καθορίζεται γενετικά και συσχετίζεται με την εκδήλωση της νόσου.

Ο ρόλος των γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων

Όπως και στους ανθρώπους, στο ποντίκι NOD τα γονίδια ιστοσυμβατότητας HLA (MHC τάξεως II) είναι αναγκαία αλλά όχι αρκετά για την εκδήλωση του σακχαρώδη διαβήτη. Επίσης, έχει καλά τεκμηριωθεί η ύπαρξη προστατευτικών γονιδίων με κυρίαρχη δράση. Ωστόσο, παρά την ισχυρή γενετική συσχέτιση, τα αυτοάνοσα νοσήματα έχουν γενικά λιγότερο από 70% πιθανότητα εμφάνισης τους σε μονοζυγωτικά δίδυμα άτομα. Το γεγονός αυτό είναι καλά διαπιστωμένο και σε συγγενικά στελέχη ποντικών με γενετική προδιάθεση για αυτοάνοσα νοσήματα, όπως τα ποντίκια NOD που δεν εκδηλώνουν όλα κλινική νόσο (τα θηλυκά: 70%, τα αρσενικά: 15% περίπου).

Τα δεδομένα αυτά είναι δυνατόν να ερμηνευθούν ως ενδεικτικά της υποχρεωτικής μεσολάβησης ενός περιβαλλοντικού παράγοντα για την εκδήλωση της νόσου. Αυτή η υπόθεση έχει παρακινήσει έντονες προσπάθειες για την αποκάλυψη κάποιου λοιμώδους παράγοντα (π.χ. ενός ιού) που επάγει την αυτοάνοση απόκριση, (ωστόσο χωρίς σαφές αποτέλεσμα). Υπάρχουν ενδείξεις για ενεργοποίηση αυτοδραστικών κλώνων από λοιμογόνους παράγοντες σε αυτοάνοσα νοσήματα όπως η σκλήρυνση κατά πλάκας και ο αυτοάνοσος διαβήτης. Μια λοίμωξη θα μπορούσε να επάγει αυτοάνοσες αποκρίσεις μέσω της έκλυσης απομονωμένων αντιγόνων από τις περιοχές ιστικής βλάβης, την ολιγοκλωνική ενεργοποίηση των λοιμογόνων παραγόντων από υπεραντιγόνα, την επαγωγή έκφρασης κυτταροκινών και συνενεργοποιητικών μορίων. Επίσης όπως προαναφέραμε, έχει υποθεθεί ότι η ανάπτυξη αυτοάνοσης απόκρισης θα μπορούσε να προέλθει από την διασταυρούμενη αντίδραση μεταξύ πρωτεΐνης λοιμογόνου παράγοντα και ενός αυτοαντιγόνου (μοριακή μίμηση). Ωστόσο, τέτοια in vivo ένδειξη δεν είναι διαθέσιμη προς το παρόν. Επιπλέον, θα πρέπει να σημειωθεί ότι τα (απόλυτης γενετικής ομοιότητας) αυτοάνοσα στελέχη ποντικών όπως τα NOD, ευρίσκονται σε απόλυτα όμοιο περιβάλλον (απαλλαγμένο από παθογόνους οργανισμούς). Μάλιστα, στα ποντίκια NOD, αλλά και σε παιδιά έχει υποδειχθεί ότι η έκθεση σε παθογόνους οργανισμούς είναι δυνατόν να αποτρέψει την εκδήλωση διαβήτη. Από την άλλη πλευρά, σε ιστολογικές μελέτες ποντικών NOD, έχει καλά διαπιστωθεί ότι παρ'όλο που η έκφραση κλινικού διαβήτη δεν αφορά όλα τα ζώα, η εκδήλωση αυτοανοσίας με την μορφή καλόθων αυτοδραστικών λεμφοκυτταρικών διηθήσεων κατά των νησιδίων του παγκρέατος ανιχνεύεται σε όλα ανεξαιρέτως τα ζώα (ακόμα και τα άρρενα ποντίκια, τα οποία σπανίως εκδηλώνουν κλινική νόσο). Έτσι φαίνεται ότι στα ποντίκια NOD η γενετική βάση είναι ο καθοριστικός παράγοντας για την εκδήλωση αυτοανοσίας, αλλά η εκδήλωση κλινικής νόσου απαιτεί την επενέργεια άλλων πιθανά πολλαπλών περιβαλλοντικών ή/και φυσιολογικών επιδράσεων, όπως ορμονών, παραγόντων στρες, λοιμώξεων κλπ. Με βάση αυτή την θεώρηση και τα πειραματικά αποτελέσματα, οι Gazzda και συν. έχουν συμπεράνει ότι δεν υπάρχει απόλυτη αιτιολογική σύνδεση μεταξύ του πρωτογενούς συμβάντος που επάγει την αυτοδραστική ανοσολογική απόκριση και της κλινικής εκδήλωσης της αυτοάνοσης νόσου. Έτσι, φαίνεται ότι πολλαπλοί εναλλακτικοί οδοί είναι διαθέσιμοι για το ανοσολογικό σύστημα και με βάση τους περιορισμούς που θέτει το γενικότερο γενετικό υπόστρωμα η εκδήλωση υποκλινικής διαταραχής ή καταστροφικής κλινικής νόσου είναι συνάρτηση κατά το μάλλον ή ήττον τυχαίων γεγονότων.

Κρίσιμα σημεία στην εξέλιξη των αυτοάνοσων νοσημάτων

Η ανάπτυξη αυτοάνοσων αποκρίσεων δεν είναι πάντοτε επιβλαβής (π.χ. οι αντι-ιδιοτυπικές αντιδράσεις, οι αυτοαντισωματικές αποκρίσεις της τρίτης ηλικίας κλπ), ενώ ενδεχόμενα να είναι αναγκαίες για την διατήρηση της ομοιοστασίας του οργανισμού. Ο εννοιολογικός διαχωρισμός μεταξύ αυτοανοσίας και κλινικής εκδήλωσης αυτοάνοσου νοσήματος γίνεται ιδιαίτερα εμφανής με την διαπίστωση ότι τα αυτοάνοσα νοσήματα εμφανίζουν κρίσιμα σημεία (checkpoints) κατά την εξέλιξη τους. Η ενεργοποίηση αυτοδραστικών T λεμφοκυττάρων συνήθως επάγει μόνο παροδικά αυτοανοσία, υποδεικνύοντας την ύπαρξη πρόσθετων σημείων ελέγχου και ρύθμισης. Η αναφορά στα πειραματικά ζωικά πρότυπα αυτοανοσίας παρέχει πάλι αρκετά βοηθητική πληροφορία. Συγκεκριμένα, η πορεία νόσου σε αυτοάνοσα διαβητικά ποντίκια (ποντίκια NOD και TcR διαγονιδιακά ποντίκια BDC2.2) αποκαλύπτει δύο τέτοια κρίσιμα σημεία. Τα ποντίκια αυτά αν και διαθέτουν υψηλούς αριθμούς νησιδιο-ειδικών T κυττάρων δεν εμφανίζουν καμία απολύ-

τως διαταραχή για σημαντικό χρονικό διάστημα (ανοσολογική άγνοια), οπότε κατά την ηλικία των 3 εβδομάδων (πρώτο κρίσιμο σημείο) εμφανίζουν καθολικά έντονες λεμφοκυτταρικές διηθήσεις στα νησίδια του παγκρέατος (ινσουλίτιδα). Η εμφάνιση της ινσουλίτιδας δεν οφείλεται σε λειτουργική διαταραχή των Τ κυττάρων ή σε διαταραχή έκφρασης των νησιδιακών αυτοαντιγόνων αλλά στην επαγωγή μορίων μετανάστευσης στα Τ κύτταρα και στα ενδοθήλια των αγγείων, καθώς και στην μετακίνηση επαγγελματικών αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (δενδρικών και μακροφάγων) στους ιστούς. Όπως έχουμε προαναφέρει, στα ποντίκια NOD η μακρόχρονη ινσουλίτιδα δεν εξελίσσεται πάντα σε κλινικά εμφανή διαβήτη. Για παράδειγμα, τα αρσενικά ποντίκια, αν και στο σύνολο τους εμφανίζουν ινσουλίτιδα (όπως και τα θηλυκά), μόνο μια μειονότητα εκδηλώνει νόσο. Το δεύτερο κρίσιμο σημείο αφορά ακριβώς αυτή την μετάβαση από την ινσουλίτιδα στην πλήρη νόσο. Οι ειδικοί παθογενετικοί παράγοντες που ευθύνονται για αυτήν την κρίσιμη διαφοροποίηση παραμένουν ασαφείς. Πειράματα μεταφοράς λεμφοκυττάρων υποδεικνύουν μια μεταβολή στα παθογόνα χαρακτηριστικά των διηθούντων λεμφοκυττάρων. Η στροφή των λεμφοειδών πληθυσμών σε κύτταρα τύπου TH1, η στρατολόγηση ειδικευμένων αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων, αλλά και η απώλεια ρυθμιστικών παραγόντων του μικροπεριβάλλοντος έχουν υποτεθεί ότι συμμετέχουν στην επαγωγή του φαινομένου.

Βιβλιογραφία

1. Adorini L, Gregori S, Harrison LC: Understanding autoimmune diabetes: insights from mouse models. *Trends in Molecular Medicine*, 2002, 8:31-38.
2. Atkinson, M.A. and Leiter, E.H. The NOD mouse model of type 1 diabetes: as good as it gets? *Nat. Med.* 1999, 5, 601-604.
3. Andre, I. et al. Checkpoints in the progression of autoimmune disease: lessons from diabetes models. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1996, U. S. A. 93, 2260-2263.
4. Bach JF, Koutouzov S, van Endert PM: Are there unique autoantigens triggering autoimmune diseases? *Immunol Rev* 1998, 164:139-155.
5. Bach, J-F. Insulin-dependent diabetes mellitus as an autoimmune disease. *Endocr. Rev.* 1994, 15, 516-542.
6. Bach, J.F. and Chatenoud, L. Tolerance to islet autoantigens in type 1 diabetes. *Annu. Rev. Immunol.* 2001, 19, 131-161.
7. Bretscher, P. A. & Cohn, M. A theory of self and non self discrimination. *Science*, 1970, 169: 1042-1049.
8. Casciola-Rosen, L. A., G. Anhalt, and A. Rosen. 1994. Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *J. Exp. Med.* 179:1317.
9. Garza KM, Chan SM, Suri R, Nguyen LT, Odermatt B, Schoenberger SP, Ohashi PS: Role of antigen-presenting cells in mediating tolerance and autoimmunity. *J Exp Med* 2000, 191:2021-2028.
10. Goldrath AW, Bevan MJ: Selecting and maintaining a diverse T-cell repertoire. *Nature* 1999, 402:255-262.
11. Green EA, Flavell RA: The initiation of autoimmune diabetes. *Curr. Op. Immunol*, 1999, 11:663-69.
12. Harding, F. A., McArthur, J. G., Gross, J. A., Raulet, D. H. & Allison, J. P. CD28-mediated signalling co-stimulates murine T cells and prevents induction of anergy in T-cell clones. *Nature* 1992, 6370, 607 609.
13. Heath WR, Kurts C, Miller JF, Carbone FR: Cross-tolerance: a pathway for inducing tolerance to peripheral tissue antigens. *J Exp Med* 1998, 187:1549-1553.
14. Hoglund, P. et al. Initiation of autoimmune diabetes by developmentally regulated presentation of islet cell antigens in the pancreatic lymph nodes. *J. Exp. Med.*, 1999, 189, 331-339.
15. Itoh M, Takahashi T, Sakaguchi N, Kuniyasu Y, Shimizu J, Otsuka F, Sakaguchi S: 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. *J Immunol* 1999, 162:5317-5326.
16. Katz, J. et al. Major histocompatibility complex class I molecules are required for the development of insulinitis in non-obese diabetic mice. *Eur. J. Immunol.* 1993, 23, 3358-3360.
17. Lafferty KJ, Gazda LS: Tolerance: A case of self/non-self discrimination maintained by clonal deletion? *Hum. Immunol.* 1997, 52: 119-26.
18. Lafferty, J. & Woolnough, J. A. The origin and mechanism of the allograft reaction. *Immunol.* 1977, Rev. 35: 231-249.
19. Lehmann PV, Forsthuber T, Miller A, Sercarz EE: Spreading of T-cell autoimmunity to cryptic determinants of an autoantigen. *Nature* 1992, 358:155-157.
20. McDevitt HO: The role of MHC class II molecules in susceptibility and resistance to autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 1998, 10:677-681.
21. Miller JFAP, Heath WR: Self-ignorance in the peripheral T cell pool. *Immunol. Rev* 1993, 133:131.
22. Mocchi S, Lafferty K, Howard M: The role of autoantigens in autoimmune disease. *Current Opinion in Immunology* 2000, 12:725-730.
23. Oldstone MB: Molecular mimicry and immune-mediated diseases. *FASEB J* 1998, 12:1255-1265.
24. Sakaguchi S: Animal models of autoimmunity and their relevance to human diseases. *Current Opinion in Immunology* 2000, 12:684-690

25. Sakaguchi S: Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell* 2000, 101:455-458.
26. Sakaguchi S, Sakaguchi N: Role of genetic factors in organ-specific autoimmune diseases induced by manipulating the thymus or T cells, and not self-antigens. *Rev Immunogenet* 2000, 2:147-153.
27. Schwartz, R. H. A cell culture model for T lymphocyte clonal anergy. *Science*, 1990, 4961: 1349-1356.
28. Sebzda E, Mariathasan S, Ohteki T, Jones R, Bachmann MF, Ohashi PS: Selection of the T cell repertoire. *Annu Rev Immunol* 1999, 17:829-874.
29. Shevach, E.M. Regulatory T cells in autoimmunity. *Annu. Rev. Immunol.* 2000, 18, 423-449.
30. Undlien, D.E. et al: HLA complex genes in type 1 diabetes and other autoimmune diseases. Which genes are involved? *Trends Genet.* 2001, 17, 93-100.
31. Van Parijs L, Abbas AK: Homeostasis and self-tolerance in the immune system: turning lymphocytes off. *Science* 1998, 280:243-248.
32. Verge, C.F. et al.: Combined use of autoantibodies (IA-2 autoantibody, GAD autoantibody, insulin autoantibody, cytoplasmic islet cell antibodies) in type 1 diabetes: Combinatorial Islet Autoantibody Workshop. *Diabetes*, 1998 47, 1857-1866.
33. Yoon, J.W. et al.: Control of autoimmune diabetes in NOD mice by GAD expression or suppression in beta cells. *Science*, 1999, 284, 1183-1187.

Οι ανοσολογικοί μηχανισμοί που προκαλούν ιστική βλάβη είναι αυτοί που αναφέρονται στη βιβλιογραφία με τον σχετικά αδόκιμο όρο «αντιδράσεις υπερευαισθησίας» και οι οποίες περιγράφθηκαν σε 4 τύπους το 1963 από τους Gell και Coombs. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι ουσιαστικά μέρος της ειδικής ανοσολογικής απάντησης η οποία πρωταρχικό σκοπό έχει την προστασία του οργανισμού έναντι διαφόρων παθογόνων μικροοργανισμών και άλλων εξωγενών αντιγόνων. Όταν η ανοσολογική απάντηση στρέφεται έναντι ιδίων αντιγόνων, λόγω απώλειας της ανοσολογικής ανοχής, τότε αναφερόμαστε σε αυτοάνοσες αντιδράσεις που αποτελούν την αρχική της εμφάνισης των διαφόρων αυτοανόσων νοσημάτων.

Οι αντιδράσεις αυτές είναι συνήθως βραχείας διάρκειας και αυτοπεριοριζόμενες. Αποτυχία ελέγχου των αντιδράσεων αυτών οδηγεί σε ανοσολογικής αιτιολογίας ιστική βλάβη. Το συμπλήρωμα, τα φαγοκύτταρα και διάφορα άλλα κύτταρα που συμμετέχουν στη φλεγμονώδη διαδικασία, κυτταροκίνες και άλλες αγγειοδραστικές ουσίες, παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη ιστικής βλάβης¹. Γίνεται επομένως κατανοητό ότι οι ανοσολογικοί αυτοί ουσιαστικά είναι ταυτόσημοι με τους προστατευτικούς μηχανισμούς που έχουν αναπτύξει οι διάφοροι οργανισμοί κατά την πορεία της οντογενετικής τους εξέλιξης.

Οι παθογενετικοί μηχανισμοί της ανοσολογικής ιστικής βλάβης, όπως προαναφέρθηκε είναι αυτοί των τεσσάρων αντιδράσεων υπερευαισθησίας δηλαδή ο τύπος I της άμεσης υπερευαισθησίας, ο τύπος II της αντισωματοεξαρτώμενης υπερευαισθησίας, ο τύπος III του σχηματισμού ανοσοσυμπλεγμάτων και ο τύπος IV της επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας που εξαρτάται από τα T λεμφοκύτταρα^{1,2}. Η κατάταξη ωστόσο αυτή, όσο και αν είναι παλαιά, εξυπηρετεί εκτός από διδακτικούς λόγους και την κατανοήση του βασικού τύπου της ιστικής βλάβης που επιτελείται κατά τη διαδρομή ενός νοσήματος. Η εκδήλωση νοσήματος προϋποθέτει, την λειτουργία συνδυασμού ανοσολογικών μηχανισμών, όπου εμπλέκεται τόσο η χυμική, όσο και η κυτταρική ανοσολογική απάντηση και για σημαντικό χρονικό διάστημα.

Οι λόγοι για τους οποίους διάφορα εξωγενή αντιγόνα είναι δυνατόν να προκαλέσουν βλάβη είναι πολλοί. Αν π.χ. ένα ξένο αντιγόνο «εμφυτευθεί» σε έναν ιστό, οι δραστικοί μηχανισμοί εξάλειψής του, θα έχουν ως συνέπεια την πρόκληση βλάβης και στους γύρω από το εμφυτευμένο αντιγόνο ιστούς. Επίσης είναι δυνατόν, κάποιος αντιγονικός επίτοπος ενός ξένου αντιγόνου να εμφανίζει ομοιότητες με κάποιον ίδιο αντιγονικό επίτοπο ενός ιστού, οπότε λόγω ανάπτυξης διασταυρούμενης αντίδρασης, να προκαλείται ανοσολογική βλάβη στον συγκεκριμένο ιστό (περίπτωση μοριακής μίμησης). Σε σπάνιες επίσης περιπτώσεις κάποια μικρόβια, είτε αυτούσια, είτε ορισμένα αντιγόνα τους δυνατόν να παραμένουν στους ιστούς λόγω μη εξάλειψής τους από τους δραστικούς μηχανισμούς και να προκαλούν συνεχιζόμενη ιστική βλάβη (π.χ. νόσος Lyme). Τέλος σε ορισμένες περιπτώσεις, παρά την οριστική εξάλειψη του αρχικά υπεύθυνου αντιγόνου, λόγω μη αυτοπεριορισμού τους για διάφορους λόγους, οι ανοσολογικοί μηχανισμοί δυνατόν να διαιωνίζονται προκαλώντας συνεχιζόμενη ιστική βλάβη (1). Στο κεφάλαιο αυτό θα αναφερθούμε κυρίως στους μηχανισμούς II, III και IV παρά το ότι ιστική βλάβη δυνατόν να προκληθεί και με το μηχανισμό I της άμεσης υπερευαισθησίας.

Ιστική βλάβη από αντισώματα

Ο τρόπος αυτός ιστικής βλάβης αναφέρεται ουσιαστικά στις αντιδράσεις II και III, δηλαδή: 1) στην αντισωματική απάντηση που προκαλείται όταν τα αντιγόνα συνδέονται είτε με κυκλοφορούντα κύτταρα, είτε με τη θεμέλια ουσία κάποιων ιστών. Η προκαλούμενη με το μηχανισμό αυτό βλάβη είναι κατά κανόνα εντοπισμένη και ειδική του κυττάρου ή του ιστού που φέρει το αντιγόνο. Τα υπεύθυνα αντιγόνα είναι συνήθως ίδια αντιγόνα (αυτοαντιγόνα). Στον τύπο αυτό της βλάβης κατατάσσονται επίσης τα νοσήματα που προκαλούνται από αντισώματα που στρέφονται εναντίον κάποιων ορμονικών και άλλων υποδοχέων, 2) στην αντισωματική απάντηση που προκαλείται όταν τα αντιγόνα συνδέονται με κυκλοφορούντα αντισώματα και σχηματίζουν διαλυτά ανοσοσυμπλέγματα. Αυτά εναποτίθενται, είτε στα αγγεία, είτε σε διάφορους ιστούς προκαλώντας με τον τρόπο αυτό κατά κανόνα διάχυτη και γενικευμένη βλάβη. Τα υπεύθυνα αντιγόνα είναι, είτε ίδια, είτε ξένα αντιγόνα. Και στους δύο μηχανισμούς τα αντισώματα είναι κατά κανόνα IgM ή IgG και η ενεργοποίηση του συμπληρώματος παίζει βασικό ρόλο^{1,3}. Επομένως οι δύο αυτοί μηχανισμοί τείνουν τα τελευταία χρόνια να θεωρούνται ως ένας ενιαίος μηχανισμός με δύο υποκατηγορίες μηχανισμών που εμφανίζουν μικρές διαφορές μεταξύ τους.

Θα πρέπει να τονισθεί ότι διάφορα πειραματικά πρότυπα βοήθησαν σημαντικά στην διεκκρίνιση των ανοσολογικών μηχανισμών της ιστικής βλάβης που προκαλείται από αντισώματα.

Γενικοί μηχανισμοί πρόκλησης ιστικής βλάβης από αντισώματα

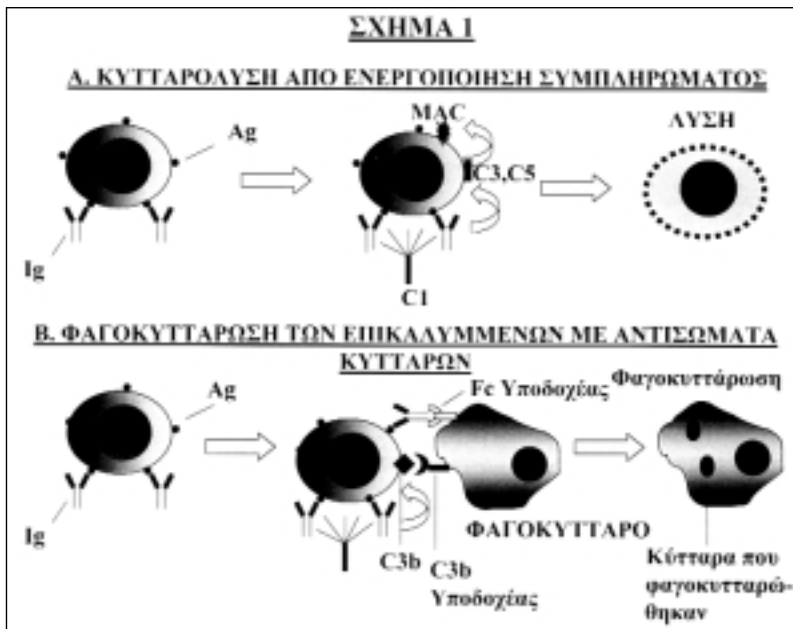
Βασικό ρόλο στην πρόκληση της ιστικής βλάβης, εκτός από την ενεργοποίηση του συμπληρώματος, παίζουν η φύση του αντιγόνου (ίδιου ή ξένου) και το είδος του δημιουργούμενου αντισώματος.

1. Κυτταρόλυση από ενεργοποίηση συμπληρώματος

Αυτή επιτυγχάνεται μετά τη σύνδεση του αντιγόνου που βρίσκεται πάνω σ' ένα κύτταρο με αντίσωμα τύπου IgM ή ορισμένων υποτάξεων της IgG. Μετά τη σύνδεση ενεργοποιείται το συμπλήρωμα, σχηματίζεται ομάδα προσβολής της μεμβράνης (MAC-Membrane Attack Complex) και προκαλείται οσμητική καταστροφή του κυττάρου (Σχήμα 1Α).

2. Φαγοκυττάρωση των επικαλυμμένων με αντισώματα κυττάρων

Μετά τη σύνδεση αντιγόνου-αντισώματος σ' ένα κύτταρο και την ενεργοποίηση του συμπληρώματος, το κύτταρο αυτό μπορεί να συνδεθεί μέσω του αντισώματος με τον υποδοχέα Fcγ του μακροφάγου. Η σύνδεση αυτή κυττάρου-μακροφάγου ενισχύεται με την σύνδεση του C3b και του iC3b μορίου του συμπληρώματος με υποδοχείς όπως οι CR1 και Mac-1 και ο CR4 αντίστοιχα που βρίσκονται στην επιφάνεια του μακροφάγου. Έτσι επιτυγχάνεται η οψωνιοποίηση και τελικά η φαγοκυττάρωση του κυττάρου στόχος. Τυπικό παράδειγμα αυτού του μηχανισμού είναι η αυτοόωση αιμολυτική αναιμία (Σχήμα 1B).



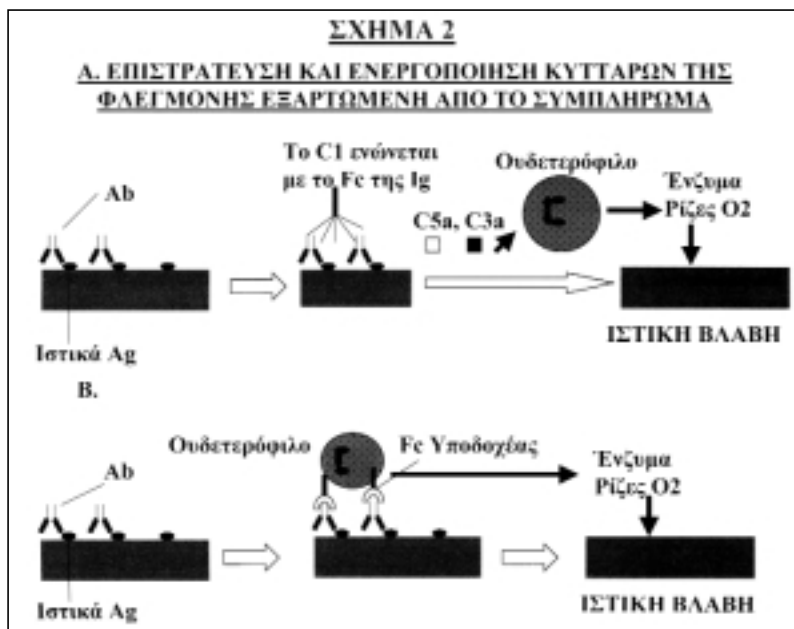
3. Επιστράτευση και ενεργοποίηση κυττάρων της φλεγμονής

Τα κύτταρα αυτά είναι κυρίως τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα. Διακρίνουμε δύο επιμέρους μηχανισμούς εκ των οποίων ο πρώτος σχετίζεται με την ενεργοποίηση του συμπληρώματος: **Α)** Μετά τη σύνδεση ενός αντισώματος IgM ή IgG με ένα αντιγόνο που εκφράζεται σ' έναν ιστό, προκαλείται ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Ορισμένα παράγωγα του συμπληρώματος που δημιουργούνται κατά την πορεία της ενεργοποίησης όπως π.χ. το C5a και το C3a δρουν χημειοτακτικά για τα ουδετερόφιλα (Σχήμα 2Α). **Β)** Λευκοκύτταρα και μακροφάγα εκφράζουν Fcγ υποδοχείς που συνδέονται με τη βαρεία άλυσσο του IgG αντισώματος, που είχε προηγουμένως με τη σειρά του συνδεθεί με κάποιο εκφραζόμενο σ' έναν ιστό αντιγόνο. Με τον μηχανισμό αυτό δεν απαιτείται ενεργοποίηση του συμπληρώματος (Σχήμα 2B).

Τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα αφού ενεργοποιηθούν εκκρίνουν ένζυμα, κυτταροκίνες, ενεργά παράγωγα οξυγόνου, προσταγλανδίνες, NO από τα οποία προκαλείται τελικά η ιστική βλάβη. Κατά την πορεία της φλεγμονώδους διαδικασίας ορισμένες από τις κυτταροκίνες, όπως ο TNF, η IL-1 και η IL-8 δρουν επίσης χημειοτακτικά, επιστρατεύοντας νέα λευκοκύτταρα στη θέση της ιστικής βλάβης⁴.

Νοσήματα που προκαλούνται με το μηχανισμό υπερευαισθησίας τύπου II

Όπως προαναφέρθηκε στο μηχανισμό αυτό συμμετέχουν κατά κανόνα αυτοαντιγόνα που έχουν συνδεθεί με κύτταρα ή ιστούς. Τα νοσήματα που αναπτύσσονται είναι συνήθως αντιγονοειδικά ή ειδικά του ιστού νοσήματα. Χαρακτηριστικά νοσήματα που προκαλούνται με αυτό το μηχανισμό ιστικής βλάβης είναι η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία και η αυτοάνοση θρομβοπενία.



Αυτοαντισώματα συνδέονται με αυτοαντιγόνα που βρίσκονται πάνω στα ερυθροκύτταρα ή στα αιμοπετάλια, προκαλείται ενεργοποίηση του συμπληρώματος και αυξημένη φαγοκυττάρωση των ανοσοσυμπλεγμάτων στο σπλίνα και στο ήπαρ. Τα νοσήματα αυτά εμφανίζονται, είτε αυτόνομα, είτε μέσα στα πλαίσια άλλων νοσημάτων όπως ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος ή η χρόνια λεμφογενής λευχαιμία. Επίσης δημιουργούνται από ορισμένες φαρμακευτικές ουσίες που εκφράζονται δρώντας αντιγονικά στην επιφάνεια των κυττάρων.

Ανάλογος πιστεύεται ότι είναι ο υπεύθυνος παθογενετικός μηχανισμός και στο σύνδρομο Goodpasture⁵. Τα αυτοαντισώματα συνδέονται με αυτοαντιγονικό επίτοπο που φαίνεται ότι είναι ένα μη κολλαγονικό τμήμα του κολλαγόνου τύπου IV. Το αυτοαντιγόνο αυτό εκφράζεται σε αφθονία στη βασική μεμβράνη τόσο των κυψελίδων, όσο και των σπειραμάτων προκαλώντας έτσι τον χαρακτηριστικό κλινικό συνδυασμό της νόσου, των πνευμονικών αιμορραγιών και της σπειραματονεφρίτιδας. Με τον ανοσοφθορισμό τυπική είναι η γραμμική εναπόθεση αντισώματος και συμπληρώματος στα σημεία της βλάβης.

Μηχανισμός υπερευαισθησίας τύπου II πιστεύεται ότι συμμετέχει και στην ανάπτυξη ορισμένων δερματολογικών νοσημάτων όπως η πέμφιγα και το πομφολυγώδες πεμφιγοειδές. Στα νοσήματα αυτά έχουν ανιχνευθεί αυτοαντισώματα έναντι μορίων προσκόλλησης των κυττάρων της επιδερμίδας¹.

Κατά μία θεωρητική προέκταση ανάλογοι είναι ίσως οι μηχανισμοί που συμμετέχουν στην ιστική βλάβη στις ANCA θετικές αγγειίτιδες και στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο.

Στην κατηγορία υπερευαισθησίας τύπου II κατατάσσονται και τα νοσήματα που προκαλούνται από αυτοαντισώματα έναντι ορισμένων υποδοχέων. Στην περίπτωση αυτή παρόλο που δεν επέρχεται ιστική βλάβη, προκαλείται τροποποίηση της λειτουργίας των υποδοχέων αυτών με αποτέλεσμα την ανάπτυξη διαφόρων νοσολογικών οντοτήτων. Ο μηχανισμός αυτός αντισωματικής δράσης έναντι υποδοχέων είχε προταθεί στο παρελθόν να αποτελέσει ξεχωριστό μηχανισμό υπερευαισθησίας τύπου V.

Στην κατηγορία αυτή κατατάσσεται η νόσος του Graves στην οποία αναπτύσσονται αντισώματα έναντι του υποδοχέα της TSH στα επιθηλιακά κύτταρα του θυρεοειδούς. Το τελικό αποτέλεσμα δεν είναι αποκλεισμός του υποδοχέα, αλλά αντίθετα η διέγερση του, και η υπερέκκριση θυρεοειδικών ορμονών. Στη μυασθένεια αντίθετα, αυτοαντισώματα αποκλείουν τους υποδοχείς της ακετυλοχολίνης στις νευρομυϊκές συνάψεις. Με ανάλογο αυτοαντισωματικό μηχανισμό δημιουργείται και η κακοήθης

αναιμία, κατά την οποία αυτοαντισώματα έναντι του ενδογενούς παράγοντα έχουν ως αποτέλεσμα την αδυναμία απορρόφησης της βιταμίνης B12 από τον τελικό ειλεό¹.

Δεν είναι πάντοτε εύκολο να αποδειχθεί αιτιοπαθογενετική συσχέτιση ενός αυτοαντισώματος με ένα νόσημα. Στις περισσότερες περιπτώσεις για τα ανικνευόμενα αυτοαντισώματα στα διάφορα νοσήματα δεν έχει αποδειχθεί παρόμοια συσχέτιση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι τα αυτοαντισώματα των ρευματοειδών παραγόντων στην ρευματοειδή αρθρίτιδα τα οποία δεν ενέχονται παθογενετικά στην ανάπτυξη του νοσήματος.

Νοσήματα που προκαλούνται με μηχανισμό υπερευαισθησίας τύπου III

Δεν είναι δυνατόν να αναφέρεται κανείς στα νοσήματα που προκαλούνται από ανοσοσυμπλέγματα χωρίς να κάνει μνεία για τις εκπληκτικά εύστοχες παρατηρήσεις του Clemens von Pirquet σχεδόν έναν αιώνα πριν, σχετικά με την ορονοσία. Σημαντική επίσης ήταν η προσφορά των Dixon και συν. στη δεκαετία του 1960 στη διευκρίνιση των μηχανισμών της προκαλούμενης βλάβης και στον ακριβή προσδιορισμό των σχηματιζόμενων ανοσοσυμπλεγμάτων. Η έγχυση σ' ένα πειραματόζωο μίας ξένης πρωτεΐνης που δρα αντιγονικά, έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία αρχικά αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης αυτής και στη συνέχεια κυκλοφορούντων ανοσοσυμπλεγμάτων. Το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα με τα μακροφάγα καθαίρει βαθμιαία τα ανοσοσυμπλέγματα. Ορισμένα ωστόσο από αυτά, κάτω από ειδικές συνθήκες, εναποτίθενται σε διάφορους ιστούς, ενεργοποιούν το συμπλήρωμα και επιστρατεύουν στις θέσεις εναπόθεσης ουδετερόφιλα και άλλα κύτταρα της φλεγμονής. Τα αγγεία, τα σπειράματα και οι αρθρώσεις αποτελούν συνήθεις θέσεις εναπόθεσης ανοσοσυμπλεγμάτων.

Η διαδικασία αυτή διαρκεί περίπου 2 εβδομάδες μετά την έγχυση του αρχικού αντιγόνου. Η εμφάνιση των ανοσοσυμπλεγμάτων γίνεται στο τέλος της πρώτης εβδομάδας. Ακολουθούν τα κλινικά συμπτώματα της αγγειίτιδας, νεφρίτιδας και αρθρίτιδας και η πτώση του συμπληρώματος στον ορό. Στη συνέχεια τα κλινικά συμπτώματα υποχωρούν και τα ανοσοσυμπλέγματα βαθμιαία εξαφανίζονται από τον ορό. Η διαδικασία αυτή αποτελεί το φαινόμενο της οξείας ορονοσίας και προκαλείται από τη χορήγηση μίας μόνο δόσης ξένου αντιγόνου. Η επαναλαμβανόμενη χορήγηση του ίδιου αντιγόνου καταλήγει στη λεγόμενη χρόνια ορονοσία, που χαρακτηρίζεται από τη δημιουργία μικρότερων ανοσοσυμπλεγμάτων στα αγγεία, στους νεφρούς και στους πνεύμονες. Εντοπισμένη μορφή ανοσοσυμπλεγματικής νόσου αποτελεί το φαινόμενο Arthus. Αυτό δημιουργείται όταν σ' ένα πειραματόζωο δοθεί αρχικά ενδοφλέβια ένα αντίσωμα έναντι ενός συγκεκριμένου αντιγόνου. Αν στη συνέχεια το αντιγόνο αυτό δοθεί υποδόρια, τότε στο σημείο της υποδόριας έγχυσης δημιουργείται αγγειοιδική δερματική βλάβη λόγω σχηματισμού τοπικά ανοσοσυμπλεγμάτων. Ως αντίστροφο φαινόμενο Arthus φέρεται η παρόμοια τοπική αντίδραση που δημιουργείται αν το αντιγόνο δοθεί ενδοφλέβια και το αντίσωμα υποδόρια. Η όλη αντίδραση διαρκεί 5-10 ώρες^{1,3,6}.

Παράγοντες που επηρεάζουν την εναπόθεση των ανοσοσυμπλεγμάτων

- 1. Το Μέγεθος.** Τα πιο επικίνδυνα για εναπόθεση είναι τα μικρά και τα μέσου μεγέθους ανοσοσυμπλέγματα. Τα μεγάλα ανοσοσυμπλέγματα καθαίρονται πιο εύκολα με φαγοκυττάρωση ενώ τα πολύ μικρά δεν εναποτίθενται στους ιστούς.
- 2. Η καθαρόσή τους από την κυκλοφορία.** Εκτός από το μέγεθός τους η εναπόθεση των ανοσοσυμπλεγμάτων εξαρτάται και από άλλους παράγοντες που έχουν σχέση με το συμπλήρωμα και με τη φαγοκυττάρωσή τους από το σύστημα των μονοκυττάρων. Γενετικές ανωμαλίες που αφορούν διάφορα κλάσματα του συμπληρώματος, όπως π.χ. ανεπαρκής παραγωγή του C3b κλάσματος οδηγούν σε αυξημένη συχνότητα εμφάνισης και παραμονής ανοσοσυμπλεγμάτων στον ορό. Στις περιπτώσεις αυτές η φλεγμονή προάγεται μέσω ενεργοποίησης των λευκοκυττάρων μέσω των Fcγ υποδοχέων τους με μηχανισμό μη σχετιζόμενο με το συμπλήρωμα.
- 3. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των αντιγόνων και των αντισωμάτων.** Ιδιότητες όπως το φορτίο, η συγγένεια σύνδεσης, η ιοντική ισχύς και ο ισότυπος της ανοσοσφαιρίνης παίζουν σημαντικό ρόλο στον σχηματισμό και στην εναπόθεση των ανοσοσυμπλεγμάτων. Συμπλέγματα που φέρουν κατιοντικά αντιγόνα συνδέονται πιο εύκολα με την αρνητικά φορτισμένη βασική μεμβράνη του σπειράματος.
- 4. Ανατομικοί και αιμοδυναμικοί παράγοντες.** Σημεία με υψηλή υδροστατική πίεση όπου δημιουργείται υπερδιάτμημα όπως τα σπειράματα και ο αρθρικός υμένας είναι πιο ευάλωτα στην εναπόθεση ανοσοσυμπλεγμάτων.
- 5. Αγγειοδραστικές ουσίες και κυτταροκίνες.** Οι παράγοντες αυτοί συμβάλλουν στη δημιουργία ιστικής βλάβης αυξάνοντας την αγγειακή διαβατότητα, αλλά και την έκφραση μορίων προσκόλλησης, που διευκολύνουν την είσοδο των κυττάρων της φλεγμονής τοπικά στα σημεία της βλάβης.

Σε ορισμένες περιπτώσεις πιθανολογείται ότι τα ανοσοσυμπλέγματα δημιουργούνται όχι από ήδη προσχηματισμένα κυκλοφορούντα ανοσοσυμπλέγματα αλλά τοπικά (in situ), σε σημεία στα οποία είχε προηγουμένως επιτευχθεί η σύνδεση αντιγόνου με τον ιστό.

Οι χαρακτηριστές της ιστικής βλάβης από ανοσοσυμπλέγματα είναι: 1. η κυτταρική διήθηση κυρίως από πολυμορφοπύρρνα, 2. η ινδοειδής νέκρωση, η οποία ονομάζεται έτσι λόγω της εναπόθεσης ινικής στη βλάβη και 3. η ανίχνευση με τον ανοσοφθορισμό εναποθέσεων αντισωμάτων και συμπληρώματος. Σε πολλές περιπτώσεις δεν επιτυγχάνεται ανίχνευση του αντιγόνου, εφ' όσον αυτό δεν είναι γνωστό εκ των προτέρων.

Θα πρέπει να τονισθεί ιδιαίτερα ο σημαντικός ρόλος του συμπληρώματος στην όλη διαδικασία. Η ενεργοποίησή του, εκτός από την αυξημένη οψωνινοποίηση, συμβάλλει στη διατήρηση της διαλυτότητας των ανοσοσυμπλεγμάτων, αφού προλαμβάνει το σχηματισμό αδιάλυτων μορφών, και μετατρέπει τα αδιάλυτα ανοσοσυμπλέγματα σε διαλυτές μορφές. Τα ερυθροκύτταρα παίζουν σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο στην οψωνινοποίηση των ανοσοσυμπλεγμάτων. Η σύνδεση επιτυγχάνεται μέσω του C3b κλάσματος με τον CR1 υποδοχέα των ερυθρών. Έτσι τα ερυθρά δεσμεύουν τα ανοσοσυμπλέγματα, εμποδίζουν την καθίζησή τους και τα μεταφέρουν στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα (ΔΕΣ). Ο CR1 επίσης στα ερυθρά λειτουργεί ως βοηθητικός παράγοντας (cofactor) για τον παράγοντα I, που διευκολύνει την αποδέσμευση του C3b σε iC3b και C3dg. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση της σύνδεσης ανοσοσυμπλεγμάτων και ερυθρών στο ΔΕΣ. Άλλοι υποδοχείς του συμπληρώματος (οι CR3 και CR4) στα μακροφάγα συνδέονται με τα παράγωγα αυτά του C3. Η σύνδεση αυτή ισχυροποιεί τη σύνδεση του ανοσοσυμπλέγματος με τους Fc υποδοχείς των μακροφάγων για την IgG (τους FcγRI, FcγRII, και FcγRIII) με αποτέλεσμα την απομάκρυνση των ανοσοσυμπλεγμάτων από την κυκλοφορία^{7,8}.

Κλασικά νοσήματα στα οποία η βλάβη από ανοσοσυμπλέγματα παίζει κυρίαρχο ρόλο είναι ο Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ) και η μεταστρεπτοκοκκική σπειραματονεφρίτιδα στην οποία πιστεύεται ότι ο σχηματισμός των ανοσοσυμπλεγμάτων γίνεται in situ. Ανάλογος επίσης μηχανισμός ιστικής βλάβης έχει προταθεί και για τις περιπτώσεις εκείνες της οζώδους πολυαρτηρίτιδας που συσχετίζονται με τον Ιό της ηπατίτιδας Β.

Ο Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ) ως παράδειγμα νοσήματος από ανοσοσυμπλέγματα

Ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά του ΣΕΛ είναι η ανάπτυξη διαφόρων αυτοαντισωμάτων. Από την ποικιλία των κλινικών εκδηλώσεων η σπειραματονεφρίτιδα π.χ. φαίνεται ότι οφείλεται στην εναπόθεση αυτοαντισωμάτων έναντι ιδίου DNA ή νουκλεοπρωτεϊνικών αντιγόνων. Υπάρχουν ομοιότητες με τη νεφρική βλάβη που προκαλείται στη χρόνια ορονοσία. Το πρότυπο βέβαια αυτό, ως μοναδικός μηχανισμός ανάπτυξης των βλαβών στο ΣΕΛ, έχει υποστεί σημαντική κριτική. Ασφαλώς σε νοσήματα τόσο πολυσυστηματικά και πολύμορφα, ένας μόνο μηχανισμός δεν μπορεί να εξηγήσει ένα τόσο ευρύ φάσμα εκδηλώσεων. Έτσι έχουν διαπιστωθεί διαταραχές της λειτουργίας τόσο των Β, όσο και των Τ λεμφοκυττάρων, σ' ότι αφορά τη Β λεμφοκυτταρική ανοχή και την ανάπτυξη αυτοαντιδρώντων Τ λεμφοκυτταρικών κλώνων, αλλά και διάφορες άλλες διαταραχές οι οποίες έχουν ως τελικό αποτέλεσμα την ανάπτυξη αυτοαντισωμάτων. Υπάρχει η άποψη ότι τα αντι-DNA και τα αντι-ιστονικά αυτοαντισώματα αντανακλούν μία κυρίαρχη ανοσιακή απάντηση στα νουκλεοσώματα. Μέσα σ' αυτό το πλαίσιο ο μηχανισμός της απόπτωσης στο ΣΕΛ φαίνεται ότι κατέχει κυρίαρχο ρόλο.

Στο ΣΕΛ έχουν περιγραφεί μία μεγάλη ποικιλία συγγενών αλλά και επίκτητων διαταραχών του συμπληρώματος και των υποδοχέων του. Η ομόζυγη έλλειψη πρώιμων στοιχείων του συμπληρώματος, όπως το C1q, C1r, C1s, C4 και C2, συχνά συσχετίσθηκαν με τη νόσο. Πλήρης π.χ. έλλειψη του C1q οδηγεί στην εμφάνιση ΣΕΛ με τυπική ανάπτυξη σπειραματονεφρίτιδας και αυτοαντισωμάτων. Από τα λοιπά στοιχεία ενδιαφέρον παρουσιάζει η συσχέτιση με το C4 και ιδιαίτερα με το C4A. Το C4A ισχυροποιεί τους αμιδικούς δεσμούς μεταξύ των διαφόρων αμινομάδων. Η σύνδεση των ανοσοσυμπλεγμάτων με το C4 εμποδίζει την κατακρήμνισή τους. Πλήρης έλλειψη του C4A είναι σπάνια στο γενικό πληθυσμό, σε Καυκάσιους όμως ασθενείς με ΣΕΛ, βρέθηκε σε αυξημένο ποσοστό. Η έλλειψη ενός γονιδίου 3πλασιάζει, ενώ και των δύο γονιδίων 17πλασιάζει τον κίνδυνο εμφάνισης ΣΕΛ. Συγγενείς ελλείψεις του C2 και του C4 βρέθηκε ότι εμφανίζουν σημαντική διαταραχή στη σχέση ισόρροπου ισοζυγίου (linkage disequilibrium) με το HLA DR3 και DR2 που, ως γνωστόν, εμφανίζονται σε μεγαλύτερη συχνότητα σε ασθενείς με ΣΕΛ⁷.

Σ' ότι αφορά τους υποδοχείς του συμπληρώματος ο CR1 που βρίσκεται στα Β λεμφοκύτταρα, στα ερυθρά και στα μακροφάγα συνδέεται με το C3b και το C4b (και λιγότερο με το iC3b)

κλάσμα. Έχει περιγραφεί κληρονομικά ελαττωμένη έκφραση CR1 σε ερυθρά και περιφερικά λευκοκύτταρα ασθενών με ΣΕΛ. Η διαταραχή ωστόσο αυτή πιστεύεται ότι είναι σε μεγάλο βαθμό επίκτητη, αφού όταν στους ασθενείς με ΣΕΛ εγχέονται ερυθρά από μάρτυρες, εμφανίζουν και αυτά ελαττωμένα επίπεδα CR1. Ο βαθμός ελάττωσης του CR1 συσχετίστηκε με την ενεργότητα της νόσου. Όσο τα φαγοκύτταρα προσλαμβάνουν τα ανοσοσυμπλέγματα μέσω των Fcγ υποδοχέων (FcγRs) τόσο ελαττώνονται τα επίπεδα του CR1.

Ο CR2 υποδοχέας, ο οποίος έχει βρεθεί ελαττωμένος στα Β λεμφοκύτταρα ασθενών με ΣΕΛ, δεν φαίνεται να διαδραματίζει βασικό ρόλο στην κινητική των ανοσοσυμπλεγμάτων. Οι CR3 και CR4 υποδοχείς ανήκουν στις β2 ιντεγκρίνες και είναι δομικά διαφορετικοί από τους δύο προηγούμενους υποδοχείς. Και οι δύο συνδέονται με το iC3b κλάσμα και φαίνεται ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόσληψη των ανοσοσυμπλεγμάτων από τα μακροφάγα μετά τον αποχωρισμό τους από τα ερυθρά, στο ΔΕΣ^{9,10,11}.

Όπως προαναφέρθηκε οι Fcγ υποδοχείς παίζουν σημαντικό ρόλο στην κινητική των ανοσοσυμπλεγμάτων. Στον ΣΕΛ γενετικές αλλά και επίκτητες μεταβολές στη δομή και στα τρία είδη των υποδοχέων, καθορίζουν το τελικό αποτέλεσμα της λειτουργίας τους. Η χορήγηση αντι-FcγRIIIa μονοκλωνικού αντισώματος σε ανθρώπους και πρωτεύοντα, αναστέλλει την κάθαρση των DNA – αντι-DNA συμπλεγμάτων. Το HLA σύστημα ίσως παίζει στο σημείο αυτό ρόλο, αφού ακόμη και φυσιολογικά HLA-DR2 και DR3 άτομα εμφανίζουν παρατεταμένη κάθαρση IgG ανοσοσυμπλεγμάτων, λόγω ελαττωμένων FcγRI υποδοχέων. Η κάθαρση ωστόσο στο ΣΕΛ επηρεάζεται και από επίκτητες μεταβολές. Κυτταροκίνες όπως ο TGF-β, η IL-10, η IFN-γ και η IL-4 βρέθηκε ότι επηρεάζουν την έκφραση και τη λειτουργία των Fcγ υποδοχέων.

Σε ορισμένες μελέτες ασθενών με ΣΕΛ βρέθηκε παντελής έλλειψη των FcγRIIIb στα ουδετερόφιλα. Έχουν επίσης περιγραφεί τρεις διαφορετικοί πολυμορφισμοί των Fcγ υποδοχέων που επηρεάζουν τη λειτουργία τους. Πρόδρομες μελέτες συσχέτισαν τον ΣΕΛ με την 1q 20-22 περιοχή του χρωμοσώματος 1, η οποία περιέχει επίσης τα γονίδια που κωδικοποιούν όλους τους Fcγ υποδοχείς και τη σχετιζόμενη γ αλυσή. Πράγματι τα αλληλία του FcγRIIIa και IIIa αποτελούν παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΣΕΛ. Την τελευταία δεκαετία διάφορες μελέτες είχαν επικεντρώσει το ενδιαφέρον τους σ' αυτό το ερευνητικό πεδίο. Έτσι π.χ. το FcγRIIIa-158F/V αλληλίο βρέθηκε σημαντικά ελαττωμένο ιδίως σε ασθενείς με νεφρίτιδα λύκου. Περαιτέρω μελέτες του πολυμορφισμού των υπευθύνων γονιδίων αυτής της περιοχής του χρωμοσώματος 1, ίσως δώσουν και άλλα ενδιαφέροντα αποτελέσματα στον τομέα αυτό⁷.

Ιστική βλάβη από Τ-Λεμφοκύτταρα

Στον τύπο αυτό της ιστικής βλάβης περιλαμβάνονται: 1. Η βλάβη που προκαλείται από την αντίδραση υπερευαισθησίας τύπου IV (επιβραδυνόμενου τύπου υπερευαισθησία) και 2. Η βλάβη από τα κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα. Τα Τ λεμφοκύτταρα που προκαλούν την ιστική βλάβη κατευθύνονται, είτε έναντι ξένων, είτε έναντι ίδιων πρωτεϊνικών αντιγόνων. Στη δεύτερη περίπτωση πρόκειται για αυτοαντιδραστικούς Τ λεμφοκυτταρικούς κλώνους. Η αντίδραση αυτή ουσιαστικά αποτελεί μέρος του προστατευτικού μηχανισμού του οργανισμού, έναντι εμμενόντων και ειδικά ενδοκυτταρίων μικροοργανισμών (μικροβίων και ιών).

1. Στην τύπου IV αντίδραση τα CD4+ και τα CD8+ Τ λεμφοκύτταρα εκκρίνουν κυτταροκίνες που ενεργοποιούν τα μακροφάγα. Τα τελευταία με τη σειρά τους παράγουν ένζυμα, ρίζες O₂, κυτταροκίνες κλπ με τελικό αποτέλεσμα την καταστροφή του αντιγόνου και την πρόκληση ιστικής βλάβης. Οι αντιδράσεις τύπου IV εξελίσσονται κλασικά σε τρεις φάσεις: **Α) Η φάση της αναγνώρισης του αντιγόνου.** Το αντιγόνο παρουσιάζεται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs) στη σχισμή ενός HLA μορίου τάξης II ή τάξης I, στα CD4+ ή στα CD8+ Τ λεμφοκύτταρα αντίστοιχα. **Β) Η φάση ενεργοποίησης.** Κατά την πορεία αυτής της φάσης παράγονται από τα ενεργοποιημένα Τ λεμφοκύτταρα κυτταροκίνες, οι οποίες ενεργοποιούν παρακείμενα Τ λεμφοκύτταρα, μακροφάγα, αλλά και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. **Γ) Η δραστική φάση.** Κατά τη διαδρομή της φάσης αυτής λαμβάνει χώρα η αμιγής φλεγμονώδης διαδικασία και η διαδικασία της λύσης του αντιγόνου από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα.

2. Στην κυτταροτοξικού τύπου ιστική βλάβη δεν συμμετέχουν τα μακροφάγα, αλλά η βλάβη προκαλείται από CD8+ Τ λεμφοκύτταρα, απ' ευθείας στα κύτταρα που φέρουν τάξης I μόρια του MHC και παρουσιάζουν τα αντιγόνα^{3,13}.

Η αντίδραση τύπου IV ουσιαστικά εκπροσωπεί μέρος της άμυνας του οργανισμού έναντι ενδοκυτταρίων βακτηρίων, όπως τα μυκοβακτηρίδια και η *Listeria*. Πρότυπο της αντίδρασης αυτής είναι η αντίδραση Mantoux. Χρόνιες παρόμοιες αντιδράσεις σε εμμένοντα αντιγονικά στοιχεία δυνατόν να καταλήξουν στο σχηματισμό κοκκιωμάτων¹³.

Νοσήματα που προκαλούνται με το μηχανισμό υπερευαισθησίας τύπου IV

Η ύπαρξη σημαντικού αριθμού Τ λεμφοκυττάρων σε μία βλάβη και ιδίως η απομόνωση από αυτήν ειδικών για ένα αντιγόνο, ίδιο ή ξένο, Τ λεμφοκυτταρικών κλώνων, αποτελεί ισχυρή ένδειξη (όχι όμως και απόλυτη απόδειξη) για τον παθογενετικό ρόλο των Τ λεμφοκυττάρων στο νόσημα αυτό. Απόδειξη δυνατόν να προκύψει μόνο σε πειραματικά πρότυπα με τη μεταφορά της νόσου σε υγιή μέλη, με την έγχυση κεκαθαρισμένων Τ λεμφοκυττάρων ή καλύτερα ειδικών για το υποτιθέμενο υπεύθυνο αντιγόνο Τ λεμφοκυτταρικών κλώνων.

Κλασικό νόσημα στο οποίο η αντίδραση υπερευαισθησίας τύπου IV παίζει καθοριστικό ρόλο είναι η δερματίτιδα εξ επαφής κυρίως από κάποιες χημικές ουσίες και η οποία εμφανίζεται λίγες ώρες ή ημέρες μετά την επαφή με τη συγκεκριμένη ουσία. Η Τ λεμφοκυτταρική απάντηση κατευθύνεται έναντι νεοαντιγόνων που δημιουργούνται από τη σύζευξη της χημικής ουσίας με επιφανειακές πρωτεΐνες στα κερατινοκύτταρα και στα κύτταρα του Langerhans.

Η αντίδραση τύπου IV ενέχεται επίσης στην ανάπτυξη ινσουλινοεξαρτώμενου διαβήτη. Τα νησίδια του Langerhans στο πάγκρεας διηθούνται από λεμφοκύτταρα και μακροφάγα. Από ποντίκια που εμφανίζουν αυτόματα διαβήτη είναι δυνατή η μεταφορά νόσου σε υγιή ποντίκια μέσω CD4+ Τ λεμφοκυττάρων. Στην τελική βλάβη συμμετέχουν και CD8+ Τ λεμφοκύτταρα. Στο πειραματικό πρότυπο των μη παχύσαρκων ποντικών (NOD mice) αυτοαντιδρώντα Τ λεμφοκύτταρα βρέθηκε ότι κατευθύνονται έναντι διαφόρων πρωτεϊνών των νησιδίων του παγκρέατος, συμπεριλαμβανομένης της ίδιας της ινσουλίνης, αλλά και έναντι του ενζύμου αποκαρβοξυλάση του γλουταμινικού οξέος.

Άλλο νόσημα της κατηγορίας αυτής είναι η Αλλεργική Πειραματική Εγκεφαλομυελίτιδα, (το πειραματικό πρότυπο της κατά πλάκας σκληρύνσεως), αλλά και τα φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου, και ειδικά η νόσος του Crohn.

Νοσήματα τέλος στα οποία εικάζεται ότι ο κύριος μηχανισμός βλάβης είναι αυτός της κυτταροτοξικής δράσης των CD8+ Τ λεμφοκυττάρων, τα οποία αρχικά τουλάχιστον κατευθύνονται έναντι ενδοκυτταρίων ιικών αντιγόνων, είναι: η λεμφοκυτταρική χοριομηνιγγίτιδα, εν μέρει τουλάχιστον η ηπατίτιδα Β, αλλά και η μυοκαρδίτιδα από ιό Coxsackie Β¹.

Θα πρέπει να τονισθεί ότι η διερεύνηση και η αποσαφήνιση των ανοσολογικών μηχανισμών στα διάφορα νοσήματα και κυρίως στα αυτοάνοσα, έχει διευρύνει τα τελευταία χρόνια όχι μόνο τις γνώσεις, αλλά και τις θεραπευτικές προοπτικές στα νοσήματα αυτά.

Βιβλιογραφία

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Immune-mediated tissue injury and disease. In: Cellular and molecular Immunology, 3rd edition pp 423-438. W.B. Saunders Philadelphia, 1997.
2. Weyand CM, Goronzy JJ. Mechanisms of disordered immune regulation. In: Medical Immunology, 9th edition pp 444-455, Appleton and Lange Stamford, 1997.
3. Γερμενής ΑΕ. Αντιδράσεις υπερευαισθησίας. Στην: Ιατρική Ανοσολογία. 1η έκδοση σελ.221-235, Παπαζήση Αθήνα 2000.
4. Naparstek Y, Poltz PH. The role of autoantibodies in autoimmune diseases. Ann Reviv Immunol 11:79-104,1993.
5. Fieselmann JF, Richerson HB. Respiratory diseases. In: Medical Immunology, 9th edition pp 599-612, Appleton and Lange Stamford, 1997.
6. Terr AI. Immune-complex diseases. In: Medical Immunology, 9th edition pp 419-424, Appleton and Lange Stamford, 1997.
7. Edberg JC, Salmon JE, Kimberly RP. Systemic lupus erythematosus. Immunopathology. In: Rheumatology, 2nd edition pp 7.2.1-12, Mosby London 1998.
8. Holers VM. Systemic lupus erythematosus. The complement system. In: Rheumatology, 2nd edition pp 7.4.1-8, Mosby London 1998.
9. Hahn BH. Pathogenesis of Systemic lupus erythematosus. In: Textbook of Rheumatology, 6th edition pp1015-1027. W.B. Saunders Philadelphia, 2001.
10. Ruddy S. Complement deficiencies and rheumatic diseases. In: Textbook of Rheumatology, 6th edition pp1305-1311. W.B. Saunders Philadelphia, 2001.
11. Isenberg DA, Horsfall AC. Systemic lupus erythematosus in adults. . In: Oxford Textbook of Rheumatology, 2nd edition pp 1145-1180, Oxford Medical Publications, 1998.
12. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Immunity to microbes. In: Cellular and molecular Immunology, 3rd edition pp 341-361. W.B. Saunders Philadelphia, 1997.

Τα αυτοάνοσα νοσήματα, χαρακτηρίζονται από απώλεια της ανοσολογικής ανοχής με επακόλουθη ανοσολογική απόκριση εναντίον αυτοαντιγόνων και πρόκληση ιστικής βλάβης. Οι παράγοντες που συμβάλουν στη δημιουργία της αυτοάνοσης απόκρισης είναι πολλαπλοί, και περιλαμβάνουν γενετικούς, ορμονικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες γεγονός που οδηγεί σε απώλεια των φυσιολογικών μηχανισμών κεντρικής και περιφερικής ανοχής. Σε οποιαδήποτε περίπτωση ωστόσο, η ανοσολογική απόκριση εναντίον αυτοαντιγόνων περιλαμβάνει και τα δύο σκέλη της επίκτητης ανοσίας δηλαδή την κυτταρική και την χυμική απόκριση.

Ένα από τα κύρια ευρήματα της αυτοάνοσης είναι η παρουσία αυτοαντισωμάτων, η παραγωγή των οποίων είναι αντιγονικά καθορισμένη. Ανάλογα με το είδος του αντιγόνου που κατευθύνει τη χυμική ανοσολογική απόκριση, διακρίνουμε τα αυτοαντισώματα σε οργανοειδικά και μη οργανοειδικά. Στην πρώτη περίπτωση τα αυτοαντισώματα στρέφονται εναντίον εξειδικευμένων ιστών και μόνο, οπότε παρουσιάζουν ειδικότητα τόσο όσον αφορά τη δράση τους αλλά και την ιστική βλάβη που ενδέχεται να προκαλέσουν. Κλασικό παράδειγμα αποτελεί η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα όπου αντισώματα κατά της gpIIb:IIIa των αιμοπεταλίων προκαλούν οψωνινοποίηση και φαγοκυττάρωση οπότε παρατηρείται θρομβοπενία και διαταραχή της λειτουργίας τους, με αποτέλεσμα αιμορραγική διάθεση στο επίπεδο της πρωτογενούς αιμόστασης. Στη δεύτερη περίπτωση τα αυτοαντισώματα στρέφονται εναντίον μη ιστοειδικών αυτοαντιγόνων που υπάρχουν σχεδόν σε όλους τους ιστούς του ανθρώπινου σώματος και εκφράζουν την παθογενετική τους δράση μέσω δημιουργίας ανοσοσυμπλεγμάτων. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα anti-dsDNA τα οποία σχηματίζουν με το αντίστοιχο αυτοαντιγόνο ανοσοσυμπλέγματα σε περίσσεια, που περνούν στη συστηματική κυκλοφορία, καθιζάνουν στο επίπεδο των τριχοειδών του σπείρματος, ενεργοποιούν το συμπλήρωμα και κινητοποιούν φλεγμονώδη αντίδραση η οποία σηματοδοτεί την απαρχή της σπειραματονεφρίτιδας.

Σε πολλές περιπτώσεις ωστόσο τα αυτοαντισώματα δεν εμπλέκονται στην παθογένεια της νόσου αλλά αποτελούν επιφανόμενα της διαδικασίας της αυτοάνοσης νόσου.(1,2)

Η ανίχνευση αυτοαντισωμάτων στον ορό ασθενών με αυτοάνοσα νοσήματα, πιστοποιεί με αναμφισβήτητο τρόπο την εμπλοκή του χυμικού σκέλους της ανοσίας τόσο στην παθογένεια όσο και στη διαγνωστική της αυτοάνοσης. Για την παραγωγή των αυτοαντισωμάτων έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί: α) Μοριακή μίμηση όπου υπάρχει ομολογία μεταξύ ενός αυτοαντιγόνου και ενός αλλοαντιγόνου ώστε το αντίσωμα που αρχικά παράγεται σχηματίζει σύμπλεγμα με το αυτοαντιγόνο οπότε και είναι δυνατό να δημιουργηθούν αυτοαντισώματα εναντίον άλλων συστατικών του εν λόγω συμπλέγματος (εξάπλωση αντισωμάτων) β) ένα αλλοαντιγόνο μπορεί να τροποποιεί άμεσα τη δομή ενός συστατικού του οργανισμού και να το καθιστά ανοσογόνο γ) ένα αλλοαντιγόνο είναι δυνατό να προκαλέσει τροποποιήσεις σε μόρια του μεγίστου συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (ΜΣΙ) που οδηγούν σε διέγερση των Β-λεμφοκυττάρων μέσω της δράσης των CD4+ λεμφοκυττάρων δ) έκτοπη έκφραση ΜΣΙ-II μορίων μπορεί να οδηγήσει σε αυτοάνοση απόκριση (3).

Μηχανισμοί με τους οποίους τα αυτοαντισώματα μπορούν να προκαλέσουν ιστική βλάβη

Όταν τα αυτοαντισώματα εμπλέκονται στην παθογένεια της νόσου μπορούν να προκαλέσουν ιστική βλάβη με δύο τρόπους: α) μέσω κυτταροτοξικής αντίδρασης (ιστική βλάβη τύπου II) β) αντίδραση με τη μεσολάβηση ανοσοσυμπλεγμάτων (ιστική βλάβη τύπου III).

Ιστική βλάβη τύπου II

Τα αντισώματα κατά κυττάρων στόχων ή θεμέλιας ουσίας ακολουθούν το μοντέλο της ιστικής βλάβης τύπου II και προκαλούν νόσο με τρεις κυρίως μηχανισμούς α) οψωνινοποίηση και φαγοκυττάρωση του κυττάρου-στόχου β) καθήλωση του συμπληρώματος, προσέλκυση λευκοκυττάρων και απελευθέρωση χημειοτακτικών και φλεγμονωδών παραγόντων γ) εμπλοκή σε φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες μέσω πρόσδεσης σε κυτταρικούς υποδοχείς ή άλλα μακρομόρια.(3,4)

Ειδικότερα, τα αυτοαντισώματα αναγνωρίζουν το αυτοαντιγόνο στην επιφάνεια του κυττάρου στόχου και προσδένονται με το F(ab)2 τμήμα τους. Προοδευτικά το κύτταρο-στόχος καλύπτεται από τέτοια μόρια ανοσοσφαιρινών (οψωνινοποίηση) που διατηρούν το Fc τμήμα τους ανέπαφο και προσβάσιμο στα κύτταρα εκείνα που διαθέτουν υποδοχείς για το Fc τμήμα. Τα μακροφάγα

εκφράζουν στην επιφάνεια τους υποδοχείς για το Fc τμήμα των βαριών αλυσίδων των IgG αντισωμάτων που καλούνται FcγR. Έχουν περιγραφεί τρεις τύποι FcγR με διαφορετική συγγένεια όσον αφορά στην πρόσδεσή τους με τις διάφορες υποτάξεις των IgG αντισωμάτων. Ο κυριότερος FcγR των φαγοκυττάρων είναι ο FcγRI ή CD64, που συνδέεται πολύ ισχυρά με τις υποτάξεις IgG1 και IgG3 ενώ άλλες υποτάξεις συνδέονται ασθενέστερα. Ο FcγRI αποτελείται από μια α-αλυσίδα η οποία είναι υπεύθυνη για τη σύνδεση με το Fc τμήμα και από την γ-αλυσίδα του υποδοχέα που αποτελεί ομοδιμερές και παρουσιάζει ομολογία με τη ζ-αλυσίδα του συμπλέγματος του TCR υποδοχέα. Οι αλυσίδες α και γ συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικό δεσμό. Επιπλέον η γ-αλυσίδα περιέχει στο κυτταροπλασματικό της τμήμα, ITAMs περιοχές και επομένως είναι υπεύθυνη για τη μετάδοση του μηνύματος προς το εσωτερικό του κυττάρου. Έτσι οι πιο αποτελεσματικές οψωνίνες είναι οι ανοσοσφαιρίνες IgG1 και IgG3 και τα φαγοκύτταρα μέσω του FcγRI μπορούν ευκολότερα να φαγοκυττάρωνουν τη διάφορα αντιγόνα / κύτταρα-στόχους. Η σύνδεση των FcγR με τα αντισώματα οδηγεί σε εγκόλπωση της κυτταρικής μεμβράνης του φαγοκυττάρου και ακολουθεί η δημιουργία φαγοσώματος το οποίο στη συνέχεια θα συντηχθεί με ένα λυσόσωμα οπότε και ολοκληρώνεται η διαδικασία της φαγοκυττάρωσης. Παράλληλα η σύνδεση του FcγR οδηγεί μέσω της γ-αλυσίδας σε ενεργοποίηση του ίδιου του φαγοκυττάρου. Στο επίπεδο των δευτερογενών μνημάτων παρατηρείται ενεργοποίηση των τυροσινικών κινασών. Ως αποτέλεσμα ενεργοποιείται η οξειδάση που καταλύει την ενδοκυττάρια παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου. Επιπρόσθετα τα ενεργοποιημένα φαγοκύτταρα μπορούν να εκκρίνουν, στον περιβάλλοντα χώρο μια πληθώρα λυτικών ενζύμων και δραστικών ριζών οξυγόνου γεγονός που καθιστά το έργο τους αποτελεσματικότερο. Στην περίπτωση των αυτοαντισωμάτων κινητοποιούνται οι φυσιολογικοί αυτοί μηχανισμοί εναντίον συγκεκριμένων κυττάρων στόχων τα οποία καταστρέφονται ή/και αλλοιώνεται η λειτουργικότητά τους.(4,5)

Μεταξύ των IgG αντισωμάτων, τα IgG1 και IgG3 θεωρούνται οι πιο αποτελεσματικοί ενεργοποιητές του συμπληρώματος. Το C1 συστατικό του συμπληρώματος είναι ένα πολυμερές πρωτεϊνικό σύμπλοκο που αποτελείται από τρεις υπομονάδες: C1q, C1r και C1s. Η C1q υπομονάδα που αποτελείται από έξι αλυσίδες (εξαμερές) αναγνωρίζει και προσδέεται στο αντίστοιχο Fc τμήμα των μ και γ βαριών αλυσίδων. Κάθε IgFc τμήμα διαθέτει μια μόνο θέση C1q-σύνδεσης και κάθε μόριο C1q πρέπει να προσδεθεί σε δύο Ig βαριές αλυσίδες για να ενεργοποιηθεί. Επειδή κάθε Ig μόριο διαθέτει ένα Fc τμήμα, είναι αναγκαίο να συγκεντρωθούν πολλά μόρια ανοσοσφαιρινών IgG κάτι που συμβαίνει όταν τα αντισώματα προσδεθούν σε ένα πολυδύναμο αντιγόνο. Ακόμη και στα IgM αντισώματα που ανευρίσκονται σε πενταμερή μορφή, δεν παρατηρείται η σύνδεση του C1q μορίου αλλά πρέπει να προηγηθεί η σύνδεση αντιγόνου-αντισώματος για να προκληθεί αλλαγή στη διαμόρφωση και αποκάλυψη του Fc τμήματος. Οι C1r και C1s υπομονάδες είναι εστεράσες της σερίνης που λειτουργούν με μορφή τετραμερούς το οποίο αποτελείται από δύο μόρια κάθε υπομονάδας. Η επιτυχής σύνδεση της C1q υπομονάδας, στην αντίστοιχη θέση πρόσδεσης του Fc τμήματος των IgG και IgM ανοσοσφαιρινών, οδηγεί σε ενζυμική ενεργοποίηση της C1r υπομονάδας, η οποία αποκόπτει και ενεργοποιεί την C1s υπομονάδα. Έτσι ξεκινά το φαινόμενο καταρράκτη και η ενεργοποίηση των συστατικών του συμπληρώματος. Η C1r υπομονάδα διασπά το C4 μόριο σε δύο μέρη: C4a και C4b. Το τελευταίο διαθέτει έναν θειοστερικό δεσμό που δύναται να σχηματίσει ομοιοπολικό αμιδικό ή εστερικό δεσμό είτε με το σύμπλεγμα αντισώματος-αντιγόνου, είτε με την γειτονική επιφάνεια του κυττάρου πάνω στο οποίο έχει προσδεθεί το αντίσωμα. Με τη δράση του C4b εξασφαλίζεται η ενεργοποίηση του συμπληρώματος πάνω στο σύμπλεγμα αντισώματος-αντιγόνου ή στην επιφάνεια του εν λόγω κυττάρου και ταυτόχρονα το C4b, προσδένει το C2 μόριο το οποίο διασπάται από την C1s υπομονάδα. Το C4a λειτουργεί ως αναφυλατοζίνη και διεγείρει φλεγμονώδεις διεργασίες. Το C2 που διασπάται, απελευθερώνει το C2b τμήμα, ενώ το υπόλοιπο τμήμα C2b, παραμένει συνδεδεμένο με το C4a. Το σύμπλοκο C4bC2a είναι η κομμερτάση του C3 στην κλασσική οδό ενεργοποίησης του συμπληρώματος όπου το C4b καθλώνει το μόριο C3 και το C2a προκαλεί καταλυτική πρωτεύουσα του C3 που διασπάται σε C3a και C3b. Το C3a απομακρύνεται ενώ το C3b παραμένει για να σχηματιστεί το C4bC2aC3b σύμπλεγμα που θα λειτουργήσει σαν κομμερτάση του C5 μορίου. Παρομοίως το C5 θα διασπαστεί στο παραμένον C5b τμήμα και στο C5a που θα απομακρυνθεί. Τα υπόλοιπα συστατικά C6, C7, C8 και C9 είναι δομικές πρωτεΐνες χωρίς ενζυμική δραστηριότητα και απλά προσδένονται στο σύμπλεγμα προς σχηματισμό του λεγόμενου λυτικού συμπλόκου κατά της μεμβράνης (C5b-9) το οποίο ουσιαστικά διανοίγει πόρους διαμέτρου 100 Å κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης για να προκαλέσει ωσμωτική λύση του κυττάρου.(5,6)

Διάφορα συστατικά του συμπληρώματος, λειτουργούν σαν οψωνίνες, υποβοηθούν τη φαγοκυττάρωση και συνεισφέρουν στη φλεγμονώδη αντίδραση. Σήμερα καταγράφονται τέσσερις

μεγάλες κατηγορίες υποδοχέων του συμπληρώματος (CR). Από αυτούς οι CR1, CR2 και CR3 εντοπίζονται στα φαγοκύτταρα και ειδικότερα ο CR1 (CD35) παρουσιάζει υψηλή συγγένεια σύνδεσης για τα C3b και C4b μόρια. Ο CR1 εκφράζεται κυρίως στα κύτταρα του αίματος δηλαδή ερυθροκύτταρα, ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, πωσινόφιλα, Β και Τ λεμφοκύτταρα. Η σύνδεση του CR1 με τα μόρια C4b και C3b οδηγεί στην ενεργοποίηση των φαγοκυττάρων μέσω του ίδιου του υποδοχέα CR1. Ο CR2 (CD11bCD18) που προσδένει το C3b και το iC3b (προϊόν πρωτεολυτικής διάσπασης του C3b), ανήκει στην οικογένεια των ιντεγκρινών και εκφράζεται στα ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, μαστοκύτταρα και NK κύτταρα. Διαθέτει δύο αλυσίδες μη ομοιοπολικά συνδεδεμένες, μία α (CD11b) και μία β (CD18) και εκτός των άλλων συνδέεται με το ICAM μόριο των ενδοθηλιακών κυττάρων γεγονός που συμβάλλει στις διαδικασίες μετανάστευσης των λευκοκυττάρων προς τη βεβλαμένη περιοχή. Παρόμοια δράση έχει και ο C3 υποδοχέας. Τέλος τα μόρια C5a, C4a και C3a προκαλούν οξεία φλεγμονή, δρώντας μέσω των υποδοχέων τους πάνω στα μαστοκύτταρα και ουδετερόφιλα. Ειδικότερα το C5a διεγείρει την κίνηση των ουδετερόφιλων που προκαλείται από τις χυμοκίνες και βοηθά την προσκόλλησή τους στο ενδοθήλιο. Επιπρόσθετα προκαλεί αύξηση της έκφρασης της Ρ-σελεκτίνης στα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω της οποίας προωθείται η σύνδεση των ουδετερόφιλων και αυξάνει τη διαπερατότητα του ενδοθηλίου.(5)

Τέλος τα αυτοαντισώματα, είναι δυνατόν να προκαλέσουν λειτουργικές διαταραχές, χωρίς αμιγή ιστική βλάβη. Με το λειτουργικό τμήμα F(ab)2 προσδένονται σε ορμονικούς υποδοχείς ή υποδοχείς νευροδιαβιβαστών και είτε ευοδώνουν είτε αναστέλουν τη λειτουργία τους. Έτσι στη νόσο Graves η πρόσδεση του αυτοαντισώματος (κατά του υποδοχέα της TSH) στον υποδοχέα προκαλεί διέγερση και δίδει μηνύματα στο θυρεοειδικό κύτταρο που έχουν σαν αποτέλεσμα της παραγωγή θυρεοειδικών ορμονών και εκδήλωση υπερθυρεοειδισμού. Στη δε περίπτωση της μυασθένειας το αυτοαντίσωμα στρέφεται κατά επιτόπου του υποδοχέα της ακετυλοχολίνης (Ach) που δεν σχετίζεται με τη θέση πρόσδεσης της Ach. Ωστόσο η σύνδεση του αυτοαντισώματος στον υποδοχέα προκαλεί αλλαγή στη δομή του και η πρόσδεση της Ach γίνεται ασθενέστερα με αποτέλεσμα να εκδηλώνεται συμπτωματολογία ανεπάρκειας της νευρομυϊκής σύναψης.(5)

Ιστική βλάβη τύπου III

Στην ιστική βλάβη τύπου III, το κεντρικό γεγονός είναι η δημιουργία ανοσοσυμπλεγμάτων. Στη φυσιολογική απόκριση δημιουργούνται ανοσοσυμπλέγματα δηλ. δομές μεταξύ αντισώματος και αντιγόνου. Τούτο συμβαίνει γιατί κάθε αντίσωμα διαθέτει δύο θέσεις πρόσδεσης αντιγόνου, οπότε μπορεί να δεσμεύσει περισσότερα από ένα μόρια αντιγόνου. Τα ανοσοσυμπλέγματα που δημιουργούνται βρίσκονται σε μικρές ποσότητες και παραμένουν διαλυτά στην κυκλοφορία. Σε παθολογικές καταστάσεις, όπως στην αυτοανοσία, είναι δυνατό να υπάρξει υπερπαραγωγή ανοσοσυμπλεγμάτων που δεν καθαίρονται με αποτέλεσμα να καθιζάνουν και να εναποτίθενται στους ιστούς. Το ποσό των ανοσοσυμπλεγμάτων που θα εναποτεθεί στους ιστούς, εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά των αιμοφόρων αγγείων και τις φυσικοχημικές ιδιότητες των ίδιων των συμπλεγμάτων.(4,5) Τα τριχοειδή του σπειράματος και του αρθρικού υμένα, είναι αγγεία στα οποία συντελείται υπερδιήθηση του πλάσματος (προς σχηματισμό ούρων και αρθρικού υγρού αντίστοιχα) διαμέσου του τοιχώματος των αγγείων υπό υψηλές υδροστατικές πιέσεις ώστε σε αυτές τις ανατομικές θέσεις να υπάρχουν συχνά εναποθέσεις ανοσοσυμπλεγμάτων. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των αντιγόνων και αντισωμάτων όπως φορτίο, Ig ισότυπος, σθένος, μπορεί να επηρεάσουν τη σύνθεση και εναπόθεση των ανοσοσυμπλεγμάτων. Έτσι π.χ. κατιονικά συμπλέγματα συνδέονται ισχυρά με αρνητικά φορτισμένα συστατικά της βασικής μεμβράνης του νεφρικού σπειράματος. Τέτοια συμπλέγματα μπορεί να προκαλέσουν εκτεταμένη και παρατεταμένη ιστική βλάβη. Επίσης μικρού μεγέθους ανοσοσυμπλέγματα συχνά δεν φαγοκυτταρώνονται οπότε παρουσιάζουν μεγαλύτερη τάση για εναπόθεση στα αγγεία σε σχέση με μεγαλύτερου μεγέθους ανοσοσυμπλέγματα. Επιπλέον τα ανοσοσυμπλέγματα είναι δυνατό να ενεργοποιήσουν φλεγμονώδη κύτταρα και μαστοκύτταρα προς έκκριση κυτταροκινών και αγγειοδραστικών μεσολαβητών που προκαλούν αυξημένη προσκόλληση λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο, αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα και επακόλουθη εναπόθεση ανοσοσυμπλεγμάτων στα αγγεία.(3,5)

Τα ανοσοσυμπλέγματα μπορούν να προκαλέσουν ιστική βλάβη, μέσω ενεργοποίησης του συμπληρώματος και του Fc υποδοχέα των μακροφάγων τόσο στα αγγεία όσο και στους γύρω ιστούς. Σε παθολογικές καταστάσεις είναι δυνατό να ανιχνευθούν εναποθέσεις ανοσοσυμπλεγμάτων και συστατικών του συμπληρώματος γεγονός που πιστοποιεί τον παθολογικό μηχανισμό ενώ αν είναι γνωστό το αντιγόνο μπορεί μόρια του αντιγόνου να ανιχνευθούν επίσης. Στον Πίνακα 1 αναφέρονται συνοπτικά οι βασικές διαφορές μεταξύ φυσικών και παθογενετικών αυτοαντισωμάτων.

Αυτοαντισώματα με αποδεδειγμένη παθογενετική δράση στα συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα

Σε κάθε αυτοάνοσο νόσημα, υπάρχει και κάποιο αντίσωμα που είτε εμπλέκεται στην παθογένεια της νόσου είτε αποτελεί επιφαινόμενο της. Οι διαφορές μεταξύ φυσικών και παθογενετικών αντισωμάτων παρουσιάζονται στον πίνακα 2.

Ο ΣΕΛ είναι το κατεξοχήν αυτοάνοσο συστηματικό νόσημα που χαρακτηρίζεται από πληθώρα αυτοαντισωμάτων τα οποία στρέφονται είτε εναντίον ενδοκυττάρων αυτοαντιγόνων όπως ANA, ENA (αντι-Ro, αντι-La, αντι-Sm, αντι-U1RNP), αντι-dsDNA, αντι-ιστονικά είτε εναντίον συστατικών του ορού όπως τα αντι-φωσfolιπιδικά, είτε εναντίον συστατικών της κυτταρικής μεμβράνης όπως τα αντι-ερυθροκυτταρικά, τα αντι-αιμοπεταλιακά και τα αντι-λεμφοκυτταρικά.

Ειδικότερα τα αντι-dsDNA έχουν ανιχνευτεί σε βιοψίες ασθενών με σπειραματονεφρίτιδα που ανάλογα με τον τύπο της νεφρίτιδας ανιχνεύεται ή όχι και η εναπόθεση συστατικών του συμπληρώματος. Η δράση των αντι-DNA μπορεί να είναι: α) έμμεση μέσω της δημιουργίας ανοσοσυμπλεγμάτων και καθήλωσης του συμπληρώματος και β) άμεση μέσω απευθείας πρόσδεσης θετικά φορτισμένων αυτοαντισωμάτων σε ισχυρά φορτισμένες ομάδες της βασικής μεμβράνης του νεφρικού σπειράματος. Έτσι τα αντι-dsDNA θεωρούνται δείκτες της ενεργότητας της νόσου και έχουν σχετιστεί ειδικότερα με την ανάπτυξη νεφρίτιδας αν και ορισμένοι ασθενείς παρουσιάζουν υψηλούς τίτλους αντι-dsDNA χωρίς νεφρική προσβολή. Τελευταία υπάρχουν ενδείξεις για δράση των αντι-dsDNA επί ενδοθηλιακών κυττάρων προς έκκριση IL-1β, IL-6 και mRNA IL-1α και IL-1R1 σε πειραματικά μοντέλα *in vitro*. (7), ενώ φαίνονται να εμπλέκονται στη γονιδιακή έκφραση της IL-8, του TGF-β καθώς και στη σύνθεση νιτρικού οξέος (NO) από τα ενδοθηλιακά κύτταρα (8).

Στο σύνδρομο Sjogren (σS) παρατηρείται, συχνότερα από άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, κρουσφαιριναιμία IgMk τύπου II. Η παρουσία κρουσφαιρινών είναι αποτέλεσμα *in situ* ενεργοποίησης των B-λεμφοκυττάρων, ιδιαίτερα στις περιοχές διήθησης των εξωκρινών αδένων (9). Η κρουσφαιριναιμία τύπου II ή μεικτή μονοκλωνική κρουσφαιριναιμία, χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενός IgM ρευματοειδούς παράγοντα και πολυκλωνικών αντισωμάτων, συνήθως τάξεως IgG. (10) Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία ανοσοσυμπλεγμάτων IgM/IgG που περνούν στην κυκλοφορία, καθιζάνουν στους ιστούς και προκαλούν καθήλωση συμπληρώματος και επακόλουθη ιστική βλάβη. Έτσι παρουσιάζονται ποικίλες εκδηλώσεις όπως: σπειραματονεφρίτιδα, αγγειίτιδα και περιφερική νευροπάθεια (11,12). Η κρουσφαιριναιμία τύπου II, εμφανίζεται επίσης σε ασθενείς με HCV λοίμωξη και αποτελεί σήμερα πρότυπο νόσου από ανοσοσυμπλέγματα στον άνθρωπο όσον αφορά στις εξωπάτικες εκδηλώσεις. (13)

Επίσης τα αντιφωσfolιπιδικά αντισώματα (αCL IgG και IgM και αντι-β2GPI) ενέχονται στην παθογένεια του αντιφωσfolιπιδικού συνδρόμου (14,15,16). Θεωρείται ότι ενεργοποιούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα προκαλώντας αύξηση της έκφρασης μορίων προσκόλλησης όπως ICAM-1, VCAM, E-selectin καθώς προφλεγμονωδών κυτταροκινών ενώ υπάρχουν ενδείξεις ότι επηρεάζουν την ισορροπία μεταξύ προπηκτικών και αντιπηκτικών παραγόντων. Έτσι τα αντιφωσfolιπιδικά αντισώματα φέρονται να αυξάνουν την έκφραση PAF από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ιστικού παράγοντα από τα μονοκύτταρα, θρομβοξάνης A2 από τα αιμοπετάλια καθώς και να μπλοκάρουν την δράση της ανεξίνης στο ενδοθήλιο.

Τέλος στην ANCA - σχετιζόμενη αγγειίτιδα (που κυρίως εμφανίζεται στην κοκκιωμάτωση Wegener, τη μικροσκοπική οζώδη πολυαρθριίτιδα και την ιδιοπαθή μηννοειδή σπειραματονεφρίτιδα) τα αντίστοιχα αυτοαντισώματα φαίνεται να συμμετέχουν στην παθογένεια της νόσου αν και απαιτείται η παρουσία ενός δεύτερου φλεγμονώδους ερεθίσματος για την πρόκληση ιστικών βλαβών (17,18). Τα κύρια αυτοαντιγόνα είναι η πρωτεΐνωση-3 (c-ANCA) και η μυελουπεροξειδάση (p-ANCA) των κοκκίων των ουδετεροφίλων. Έτσι πειραματικά δεδομένα έδειξαν ότι τα ANCA αντισώματα μπορούν να διεγείρουν τα μονοκύτταρα προς παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου και πρόκληση φλεγμονής. (19) Επιπλέον υπάρχουν ενδείξεις πως στην κοκκιωμάτωση Wegener αντιενδοθηλιακά αντισώματα IgG *in vitro* προσδένονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και προκαλούν βλάβη μέσω συμπληρώματος ή μέσω κυτταροτοξικής αντίδρασης εξαρτώμενης από αντισώματα, προκαλούν αύξηση της έκφρασης μορίων προσκόλλησης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα καθώς και κυτταροκινών όπως IL-1β, IL-6, IL-8 και MCP-1 (20).

Στην περίπτωση των οργανοειδικών αυτοαντισωμάτων του λύκου, οι βλάβες είναι κυτταροτοξικού τύπου όπου εμπλέκονται κυρίως IgG αντισώματα και ακολουθεί η φαγοκυττάρωση από τα κύτταρα του ΔΕΣ μέσω υποδοχών Fc των φαγοκυττάρων. Τέτοια αντισώματα είναι τα αντι-ερυθροκυτταρικά, τα αντι-αιμοπεταλιακά και τα αντι-λεμφοκυτταρικά. Ειδικότερα στην περίπτωση της αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας εμπλέκονται αυτοαντιγόνα της ομάδας Rh και του I-αντιγόνου ενώ στη θρομβοπενία το κύριο αυτοαντιγόνο είναι οι γλυκοπρωτεΐνες GPIIb-IIIa και GPIb-IX των αιμοπεταλίων. (21)

Τα συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα, χαρακτηρίζονται από πληθώρα αυτοαντισωμάτων, η

πλειονότητα των οποίων δεν φαίνεται να έχει άμεση παθογενετική δράση. Όταν αυτή υπάρχει, επιτελείται με δύο βασικούς μηχανισμούς : α) ιστική βλάβη τύπου II και β) ιστική βλάβη τύπου III. Σήμερα υπάρχει επιβεβαιωμένη παθογενετική δράση συγκεκριμένων αυτοαντισωμάτων ,σε πειραματικά μοντέλα τόσο in vitro όσο και in vivo.Νεότερα δεδομένα υποδεικνύουν την εμπλοκή στην παθογένεια της νόσου και άλλων αυτοαντισωμάτων αλλά χρειάζονται περαιτέρω έρευνες για την επιβεβαίωση τέτοιων θεωριών αφού φαίνεται ότι απαιτείται η παρουσία και άλλων φλεγμονωδών ερεθισμάτων για την πρόκληση ιστικής βλάβης.

Πίνακας 1	
<i>Διαφορές μεταξύ ιστικής βλάβης τύπου II και III</i>	
<p>Ιστική βλάβη τύπου II</p> <ul style="list-style-type: none"> • κυρίως IgG αντισώματα • εναντίον συστατικών κυτταρικής μεμβράνης • ιστική βλάβη εναντίον κυττάρων-στόχων • καθήλωση συμπληρώματος και φαγοκυττάρωση μέσω υποδοχέων 	<p>Ιστική βλάβη τύπου III</p> <ul style="list-style-type: none"> • κυρίως IgG και IgM αντισώματα • μέσω δημιουργίας ανοσοσυμπλεγμάτων • εναπόθεση σε μικρά αγγεία • καθήλωση συμπληρώματος και ενεργοποίησή του

Πίνακας 2	
<i>Διαφορές μεταξύ φυσικών και παθογενετικών αντισωμάτων</i>	
<p>Φυσικά αντισώματα</p> <ul style="list-style-type: none"> • κυρίως IgM αντισώματα • χαμηλή συγκέντρωση στον ορό • παρουσία σε ορό υγιών ατόμων • χαμηλή συγγένεια σύνδεσης με αυτοαντιγόνο 	<p>Παθογενετικά αντισώματα</p> <ul style="list-style-type: none"> • κυρίως IgG αντισώματα • υψηλή συγκέντρωση στον ορό • παρουσία σε ορό αυτοάνοσων ασθενών • υψηλή συγγένεια σύνδεσης με αυτοαντιγόνο

Βιβλιογραφία

1. Smolen JS, Steiner G. Are autoantibodies active players or epiphenomena? Curr Opin Rheumatol. 1998 May;10(3):201-6. Review.
2. Oldstone MB. Molecular mimicry and immune-mediated diseases. FASEB J. 1998 Oct;12(13):1255-65. Review
3. John H Klippel, Paul A Dieppe. Rheumatology copyright 1994.
4. Donald M Weir, John Stewart. Immunology 8th edition.
5. Abul K Abbas, Andrew H Lichtman, Jordan S Pober. Cellular and molecular immunology 4th edition.
6. Charles A Janeway Jr ,Paul Travers. Immunobiology 2nd edition.
7. Neng Lai K, Leung JC, Bik Lai K et al Anti-DNA autoantibodies stimulate the release of interleukin-1 and interleukin-6 from endothelial cells J Pathol. 1996 Apr;178(4):451-7.
8. Lai KN, Leung JC, Lai KB, et al. Effect of anti-DNA autoantibodies on the gene expression of interleukin 8, transforming growth factor-beta, and nitric oxide synthase in cultured endothelial cells. Scand J Rheumatol. 1997;26(6):461-7.
9. Tzioufas AG. B-cell lymphoproliferation in primary Sjogren's syndrome. Clin Exp Rheumatol. 1996 Jan-Feb;14 Suppl 14:S65-70. Review.
10. Ramos-Casals M, Trejo O, Garcia-Carrasco, et al. Mixed cryoglobulinemia : new concepts. Lupus 2000;9(2):83-91. Review.
11. Ferri C, Zignego AL, Pileri SA. Cryoglobulins. J Clin Pathol. 2002 Jan;55(1):4-13. Review.
12. Dammacco F, Sansonno D, Piccoli C, et al. The cryoglobulins: an overview. Eur J Clin Invest. 2001 Jul;31(7):628-38. Review.
13. Agnello V, Romain PL. Mixed cryoglobulinemia secondary to hepatitis C virus infection. Rheum Dis Clin North Am. 1996 Feb ;22(1):1-21. Review.
14. Meroni PL, Raschi E, Camera M et al Endothelial activation by aPL: a potential pathogenetic mechanism for the clinical manifestations of the syndrome. J Autoimmun. 2000 Sep;15(2):237-40. Review.
15. Meroni PL, Raschi E, Testoni C, et al Antiphospholipid antibodies and the endothelium. Rheum Dis Clin North Am. 2001 Aug;27(3):587-602. Review.
16. Meroni PL, Tincani A, Barcellini W , et al. What is the pathogenetic role of antiphospholipid antibodies? Clin Exp Rheumatol 1994 Sep-Oct;12 Suppl 10:S43-7. Review.

17. Falk RJ, Theodore E, Woodward A, et al. Do ANCA cause small vessel vasculitis? *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2001;112:183-94; discussion 194-5.
18. Kallenberg CG, Tervaert JW. What is new with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies : diagnostic, pathogenetic and therapeutic implications. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1999 May; 8(3):307-15. Review.
19. Weidner S, Neupert W, Goppelt-Strube M, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies induce human monocytes to produce oxygen radicals in vitro. *Arthritis Rheum.* 2001 Jul;44(7):1698-706.
20. Del Papa N, Guidali L, Sironi M, et al. Anti-endothelial cell IgG antibodies from patients with Wegener's granulomatosis bind to human endothelial cells in vitro and induce adhesion molecule expression and cytokine secretion. *Arthritis Rheum.* 1996 May;39(5):758-66.
21. Lipp E, von Felten A, Sax H, et al. Antibodies against platelet glycoproteins and antiphospholipid antibodies in autoimmune thrombocytopenia. *Eur J Haematol.* 1998 May;60(5):283-8.

ΓΙΩΡΓΟΣ ΚΟΛΛΙΑΣ

Αν και το σύστημα του Παράγοντα Νέκρωσης των Όγκων (Tumour Necrosis Factor, TNF) και των υποδοχέων του εξελίχθηκε, κατά πάσα πιθανότητα, για να προστατεύει τον οργανισμό από διάφορες μολύνσεις, οι επιβλαβείς ιδιότητες αυτών των μορίων στα φυσιολογικά κύτταρα του οργανισμού και στη λειτουργία της ανοσολογικής ομοιόστασης είναι εξίσου σημαντικές, και αντικατοπτρίζουν τις πλειοτροπικές του ιδιότητες (1). Ο TNF παράγεται μετά από μόλυνση ή ανοσολογικό τραυματισμό, και η δράση του εκδηλώνεται κυρίως μέσα από μηνύματα διαφοροποίησης, πολλαπλασιασμού και θανάτου των κυττάρων (2). Ένα μέρος της πολυσύνθετης αυτής δράσης του TNF ίσως να οφείλεται σε διαφορετικές βιοενεργότητες της διαλυτής και διαμεμβρανικής μορφής του μορίου (3), καθώς και στις διαφορετικές λειτουργίες των δύο υποδοχέων του (2). Η σημασία αυτών των βιολογικών δράσεων στο επίπεδο του ανοσολογικού συστήματος ή και ολόκληρου του οργανισμού, παραμένει αδιαφανής και όχι πλήρως κατανοητή. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η απορύθμιση της φυσιολογικής παραγωγής του TNF έχει τόσο παθολόγο όσο και προστατευτικό χαρακτήρα in vivo. Για παράδειγμα, απορύθμιση της παραγωγής του TNF τόσο χρονικά όσο και χωροταξικά σε διαγονιδιακούς ποντικούς, προκαλεί παθολογίες που μιμούνται την εκδήλωση συστηματικών ή οργανοειδικών χρόνιων φλεγμονωδών παθήσεων στον άνθρωπο όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η σκλήρυνση κατά πλάκας και η φλεγμονώδης εντεροπάθεια (4-11). Σε αντίθεση με την πλειονότητα των ενδείξεων όπου η χρόνια φλεγμονή είναι προαγωγός αυτοάνοσης αντίδρασης (12), υπάρχουν πρόσφατα στοιχεία που υποδεικνύουν ότι η φλεγμονή που προκαλείται από τον TNF μπορεί να εμποδίσει την εκδήλωση αυτοάνοσης, όπως αποδείχτηκε με την προστασία από αυτοάνοσο διαβήτη διαγονιδιακών ποντικών NOD ποντικών που υπερέκφραζαν τον TNF στις νησίδες του παγκρέατος (13). Προηγούμενες μελέτες έχουν επίσης δείξει ότι η χρόνια θεραπεία NOD ή NZB/W ποντικών με χαμηλές δόσεις ανασυνδυασμένου TNF (rTNF), καθυστερούν την αυτόματη εμφάνιση διαβήτη στα NOD ποντίκια και της αυτοάνοσης στο μοντέλο NZB/W, υποδεικνύοντας τον ανοσοκατασταλτικό ρόλο του TNF σε αυτά τα συστήματα (14-17).

Υπάρχουν διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί που θα μπορούσαν να εξηγήσουν τις αντιθετικές δράσεις του TNF στην παθολογία νόσου. Σύμφωνα με το κλασικό προ-φλεγμονώδες σενάριο, πλημμελής ρύθμιση της παραγωγής του TNF μπορεί να οδηγήσει στη χρόνια ενεργοποίηση των κυττάρων της μη ειδικής ανοσολογικής αντίδρασης και σε χρόνιες φλεγμονώδεις διεργασίες που μπορούν να οδηγήσουν σε οργανοειδικές παθολογίες και βλάβη των ιστών. Είναι φανερό ωστόσο πως για τη συγκεκριμένη δράση, διαρκής υπερέκφραση του TNF είναι αναγκαία για να διατηρηθεί η επιβλαβής αυτή ανοσολογική αντίδραση. Τέτοιου είδους καταστάσεις αναπαράγονται επιτυχώς σε διαγονιδιακά συστήματα ποντικών όπου επιτυγχάνεται χρόνια απορύθμιση της έκφρασης του TNF. Από την άλλη μεριά, είναι κατανοητό ότι μια χρόνια φλεγμονή που αναπτύσσεται με τη συμμετοχή του TNF, δεν οδηγεί πάντα σε οργανοειδική αυτοάνοση αν δεν υπάρξουν επιπλέον μηνύματα όπως π.χ. μπορεί να συμβεί σε ποντίκια με γενετική προδιάθεση στην αυτοάνοση. Επιπρόσθετα, παράγοντες όπως ο συγκεκριμένος ιστός και το αναπτυξιακό στάδιο κατά το οποίο λαμβάνει χώρα η επαγωγή της φλεγμονής από τον TNF, φαίνεται να παίζουν καθοριστικό ρόλο για την θετική ή αρνητική εξέλιξη της ανοσολογικής αντίδρασης.

Ένας εναλλακτικός μηχανισμός επαγωγής χρόνιας φλεγμονώδους ή αυτοάνοσης νόσου από τον TNF, μπορεί να είναι και η άμεση δράση αυτού του μορίου στη διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό και τον θάνατο διαφόρων κυττάρων που δεν ανήκουν στο ανοσολογικό σύστημα. Για παράδειγμα, η απ'ευθείας ενισχυτική δράση του TNF στη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών του υμένα της άρθρωσης, μπορεί να είναι αρκετές από μόνες τους για να εξηγήσουν τις γνωστές παθολογικές δραστηριότητες του μορίου στη χρόνια φλεγμονώδη ή ρευματοειδή αρθρίτιδα. Η επιλεκτική καταστροφή των β κυττάρων των παγκρεατικών νησίδων που παράγουν ινσουλίνη, ένα γεγονός κεντρικής σημασίας στην ανάπτυξη του διαβήτη, έχει επίσης αποδοθεί στην δράση συστημάτων όπως του TNF/p55 υποδοχέα του, Fas/FasL και περφορίνης (18). Επίσης, η καταστροφή των επιθηλιακών κυττάρων του εντέρου, μια πρώιμη ιστοπαθολογική εκδήλωση στους ασθενείς που πάσχουν από τη νόσο του Crohn, μπορεί να θεωρηθεί ότι προκαλείται απ' ευθείας από τη δράση του TNF στα επιθηλιακά κύτταρα (19). Τέλος, μία άμεση κυτταροτοξική δράση του TNF στα ολιγοδενδροκύτταρα μπορεί να ενέχεται στην επαγωγή και ενίσχυση αυτοάνοσων ανοσολογικών αντιδράσεων στο κεντρικό νευρικό σύστημα (20, 21).

Εκτός από την άμεση ανάμιξη του TNF με τη ζωή και το θάνατο συγκεκριμένων κυτταρικών τύπων που δεν ανήκουν στο ανοσολογικό σύστημα, και σε συνδυασμό με την ιδιότητά του να ενεργοποιεί τη μη ειδική ανοσολογική αντίδραση, υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις που υποδεικνύουν ότι ο TNF μπορεί επίσης να προάγει ή να καταστέλλει την επίκτητη ανοσολογική αντίδραση. Πρόσφατες μελέτες σε knock-out ποντικούς έδειξαν ότι ο TNF ή ο p55 υποδοχέας του, είναι αναγκαίοι για την σωστή ανάπτυξη των δευτερογενών λεμφοποιητικών οργάνων και της χυμικής ανοσίας (22, 23). Επίσης η άμεση δράση του TNF στα λεμφοκύτταρα είναι φανερή από την ικανότητά του να προάγει τον πολλαπλασιασμό των θυμοκυττάρων (24) και η ιδιότητά του να δρα ως μιτογόνος παράγοντας στα ενεργοποιημένα αβ Τ λεμφοκύτταρα (25), ή στα μη ενεργοποιημένα γδ Τ λεμφοκύτταρα (26). Επιπλέον ο TNF έχει βρεθεί να είναι σημαντικός για την προσέλκυση και την ενεργοποίηση των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (APCs) στο σημείο της φλεγμονής, με συνέπεια την *in situ* ενεργοποίηση των Τ κυττάρων (27). Άλλος ένας πιθανός μηχανισμός μέσω του οποίου ο TNF μπορεί να προωθήσει την αυτοάνοση αντίδραση προέρχεται από πρόσφατες μελέτες όπου ο TNF εμφανίζεται να εξασθενεί τη μεταβίβαση μηνυμάτων των υποδοχέων των Τ κυττάρων (TcR) (28). Υποθετικά, μη φυσιολογική παραγωγή του TNF στο θύμο μπορεί να εμπλακεί στη φυσιολογική διαδικασία της αρνητικής επιλογής των Τ κυττάρων που αυτοαντιδρούν (self-reactive T cells), με συνέπεια την διαφυγή τους από αυτό τον έλεγχο και τη κυκλοφορία τους στην περιφέρεια. Σε αντίθεση όμως, η ίδια δράση του TNF στη μετάδοση του μηνύματος στα Τ κύτταρα, μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της αυτο-επιθετικότητας των Τ κυττάρων ή να εμποδίσει τη δημιουργία αυτοάνοσων Τ κυττάρων. Τέλος, ο TNF μπορεί να παρέχει άμεσα μηνύματα για τον τερματισμό της αντίδρασης των λεμφοκυττάρων όπως έχει δείξει από την ικανότητα αυτού του μορίου να προάγει τον κυτταρικό θάνατο σε CD8 + Τ κύτταρα (29-31). Άμεση ανάμιξη του TNF στην εξουδετέρωση οποπληθυσμών ρυθμιστικών (κατασταλτικών) Τ κυττάρων θα μπορούσε επίσης να υπονοηθεί, αν και ενδείξεις για έναν τέτοιο ρόλο δεν υπάρχουν ακόμη.

Μια πληρέστερη κατανόηση των χωρο-χρονικών λειτουργιών του TNF και των μοριακών και κυτταρικών μηχανισμών που οδηγούν στην ανάπτυξη παθολογιών που οφείλονται σε αυτή την κυτταροκίνη, είναι αναγκαίες για την πλήρη κατανόηση της προφανούς εμπλοκής του στην ανάπτυξη διαφόρων παθολογιών στους ανθρώπους.

Οι προσπάθειές μας να προκαλέσουμε *in vivo* αλλοιώσεις τόσο στη βιοσύνθεση του TNF και των υποδοχέων του όσο και στην λειτουργία τους σε διαγονιδιακά και knock-out συστήματα ποντικών, έχουν προσφέρει σημαντικά μοντέλα ποντικών με συστηματικές ή οργανοειδικές φλεγμονώδεις ή αυτοάνοσες ασθένειες, όπως επίσης και νέα εργαλεία για την μελέτη του ρόλου του TNF και των υποδοχέων του στη παθογένεια αυτών των ασθενειών.

Σημερινές κατευθύνσεις

Μελετούμε σήμερα τις πολλαπλές δράσεις του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNF) σε ποντικά-μοντέλα νόσου μέσω τεχνικών αναδιάταξης σε διαγονιδιακά ζώα και σε γονιδιακά συστήματα. Εκτός από την άμεση δράση του TNF στον πολλαπλασιασμό, την διαφοροποίηση και τον θάνατο ειδικών μη-ανοσολογικών κυττάρων καθώς και τη σημαντική προφλεγμονώδη δράση του, υπάρχουν βάσιμες ενδείξεις ότι ο TNF μπορεί να δρά σαν ανοσοτροποποιητικός παράγοντας (32,33).

Το πρώτο βήμα για τη ρύθμιση της δράσης του TNF γίνεται στο επίπεδο της βιοσύνθεσης. Σε διαγονιδιακά μοντέλα ζώων φάνηκε ότι διαταραχές στην παραγωγή του TNF οδηγούν στην εμφάνιση διαφόρων νοσολογικών οντοτήτων που προσομοιάζουν με ρευματοειδή αρθρίτιδα, με σκλήρυνση κατά πλάκας, με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου ή φλεγμονή πολλαπλών οργάνων (34). Η επιλεκτική εξάλειψη των πλούσιων σε AU στοιχείων (AU-rich elements-ARE) που βρίσκονται στο 3'UTR του mRNA του TNF (TNFΔARE ποντικά) έχει σαν αποτέλεσμα την τροποποίηση τόσο του ρυθμού όσο και της θέσης έκφρασης του TNF και επιπλέον την εμφάνιση χρόνιων ανοσολογικών διαταραχών εκ των αρθρώσεων και του εντέρου (35). Η απουσία των ARE από το mRNA του TNF έχει σαν αποτέλεσμα την απώλεια της αντιφλεγμονώδους ρύθμισης της μετάφρασης του mRNA, περιλαμβανομένων των σημάτων αποκλεισμού του TNF που πυροδοτούνται από τον υποδοχέα της IL-10 και παρεμβαίνουν στην αναλογία των MAPK/SAPK τα οποία ρυθμίζουν τη μετάφραση του TNF (36). Η αδυναμία των σημάτων που εξαρτώνται από τα MAPK/SAPK να παρέμβουν στην παραγωγή του TNF στα TNFΔARE ποντικά, δίνει τη δυνατότητα της μελέτης του ανεξάρτητου ρόλου που διαδραματίζουν στα σήματα μετεγγραφής του TNF τα οποία είναι υπεύθυνα για την εκδήλωση παθολογίας.

Η μελέτη των κυττάρων στόχων του TNF τα οποία είναι υπεύθυνα για την εκδήλωση φλεγμονώδων νόσων του εντέρου στα TNF ΔARE μοντέλα ζώων, δείχνει ότι τα σήματα του υποδοχέα του

TNF που στοχεύουν είτε σε αιμοποιητικά είτε σε μη- αιμοποιητικά κύτταρα μπορούν και στις δύο περιπτώσεις να οδηγήσουν σε εμφάνιση φλεγμονώδους εντεροπάθειας. Το εύρημα αυτό αποτελεί την πρώτη απόδειξη των ποικίλων και πολλαπλών κυτταρικών οδών που οδηγούν στην ανάπτυξη νόσου και οι οποίες βρίσκονται σε άμεση συσχέτιση με τη δράση μίας και μόνης κυτταροκίνης. Περαιτέρω έρευνες θα βοηθήσουν στην αναγνώριση συγκεκριμένων δραστικών σημάτων τα οποία συμμετέχουν στις διάφορες κυτταρικές οδούς των νοσημάτων για τα οποία εμπλέκεται ο TNF, με τελικό στόχο την ανάπτυξη πιά αποτελεσματικών μοριακών θεραπειών των νοσημάτων αυτών στους ανθρώπους.

Βιβλιογραφία

1. Kollias G, Douni E, Kassiotis G, Kontoyiannis D. On the role of tumor necrosis factor and receptors in models of multiorgan failure, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and inflammatory bowel disease. *Immunol. Rev.* 1999;169:175-194.
2. Vandenabeele P, Declercq W, Beyaert R, Fiers W. Two Tumor Necrosis factor receptors: structure and function. *Trends Cell Biol* 1995;5:392-399.
3. Grell M, Douni E, Wajant H, Lohden M, Clauss M, Maxeiner B, et al. The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell* 1995;83:793-802.
4. Higuchi Y, Herrera P, Muniesa P, Huarte J, Belin D, Ohashi P, et al. Expression of a tumor necrosis factor alpha transgene in murine pancreatic beta cells results in severe and permanent insulinitis without evolution towards diabetes. *J Exp Med* 1992;176:1719-1731.
5. Picarella DE, Kratz A, Li CB, Ruddle NH, Flavell RA. Transgenic tumor necrosis factor (TNF)-alpha production in pancreatic islets leads to insulinitis, not diabetes. Distinct patterns of inflammation in TNF-alpha and TNF-beta transgenic mice. *J Immunol* 1993;150:4136-4150.
6. Probert L, Keffer J, Corbella P, Cazlaris H, Patsavoudi E, Stephens S, et al. Wasting, ischemia, and lymphoid abnormalities in mice expressing T cell- targeted human tumor necrosis factor transgenes. *J Immunol* 1993;151:1894-1906.
7. Keffer J, Probert L, Cazlaris H, Georgopoulos S, Kaslaris E, Kioussis D, et al. Transgenic mice expressing human tumour necrosis factor: a predictive genetic model of arthritis. *EMBO J* 1991;10:4025-4031.
8. Probert L, Akassoglou K, Pasparakis M, Kontogeorgos G, Kollias G. Spontaneous inflammatory demyelinating disease in transgenic mice showing central nervous system-specific expression of tumor necrosis factor alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:11294-11298.
9. Akassoglou K, Probert L, Kontogeorgos G, Kollias G. Astrocyte-specific but not neuron-specific transmembrane TNF triggers inflammation and degeneration in the central nervous system of transgenic mice. *J Immunol* 1997;158:438-445.
10. Akassoglou K, Bauer J, Kassiotis G, Pasparakis M, Lassmann H, Kollias G, et al. Oligodendrocyte apoptosis and primary demyelination induced by local TNF/p55TNF receptor signaling in the central nervous system of transgenic mice: models for multiple sclerosis with primary oligodendroglialopathy. *Am J Pathol* 1998;153:801-813.
11. Kontoyiannis D, Pasparakis M, Pizarro T, Cominelli F, Kollias G. Impaired on/off regulation of TNF biosynthesis in mice lacking TNF AU-rich elements: implications for joint and gut associated immunopathologies. *Immunity* 1999; 10:387-398.
12. Ehl S, Hombach J, Aichele P, Rulicke T, Odermatt B, Hengartner H, et al. Viral and bacterial infections interfere with peripheral tolerance induction and activate CD8+ T cells to cause immunopathology. *J Exp Med* 1998;187:763-774.
13. Grewal IS, Grewal KD, Wong FS, Picarella DE, Janeway CAJ, Flavell RA. Local expression of transgene encoded TNF alpha in islets prevents autoimmune diabetes in nonobese diabetic (NOD) mice by preventing the development of auto-reactive islet-specific T cells. *J Exp Med* 1996;184:1963-1974.
14. Satoh J, Seino H, Abo T, Tanaka S, Shintani S, Ohta S, et al. Recombinant human tumor necrosis factor alpha suppresses autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *J Clin Invest* 1989;84:1345-1348.
15. Jacob CO, McDevitt HO. Tumour necrosis factor-alpha in murine autoimmune 'lupus' nephritis. *Nature* 1988;331:356-358.
16. Green EA, Eynon EE, Flavell RA. Local expression of TNFalpha in neonatal NOD mice promotes diabetes by enhancing presentation of islet antigens. *Immunity* 1998;9:733-743.
17. Cope A, Ettinger R, McDevitt H. The role of TNF alpha and related cytokines in the development and function of the autoreactive T-cell repertoire. *Res Immunol* 1997;148:307-312.
18. Benoist C, Mathis D. Cell death mediators in autoimmune diabetes—no shortage of suspects. *Cell* 1997;89:1-3.
19. Piguet PF, Vesin C, Guo J, Donati Y, Barazzone C. TNF-induced enterocyte apoptosis in mice is mediated by the TNF receptor 1 and does not require p53. *Eur J Immunol* 1998;28:3499-3505.
20. Robbins DS, Shirazi Y, Drysdale BE, Lieberman A, Shin HS, Shin ML. Production of cytotoxic factor for oligodendrocytes by stimulated astrocytes. *J Immunol* 1987;139:2593-2597.
21. Selmaj KW, Raine CS. Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro. *Ann Neurol* 1988;23:339-346.
22. Pasparakis M, Alexopoulou L, Episkopou V, Kollias G. Immune and inflammatory responses in TNF alpha-deficient mice: a critical requirement for TNF alpha in the formation of primary B cell follicles, follicular dendritic cell networks and germinal centers, and in the maturation of the humoral immune response. *J Exp Med* 1996;184:1397-1411.

23. Le Hir M, Bluethmann H, Kosco-Vilbois MH, Muller M, di Padova F, Moore M, et al. Differentiation of follicular dendritic cells and full antibody responses require tumor necrosis factor receptor-1 signaling. *J Exp Med* 1996;183:2367-2372.
24. Ranges GE, Zlotnik A, Espevik T, Dinarello CA, Cerami A, Palladino MAJ. Tumor necrosis factor alpha/cachectin is a growth factor for thymocytes. Synergistic interactions with other cytokines. *J Exp Med* 1988;167:1472-1478.
25. Tartaglia LA, Goeddel DV, Reynolds C, Figari IS, Weber RF, Fendly BM, et al. Stimulation of human T-cell proliferation by specific activation of the 75-kDa tumor necrosis factor receptor. *J Immunol* 1993;151:4637-4641.
26. Lahn M, Kalataradi H, Mittelstadt P, Pflum E, Vollmer M, Cady C, et al. Early preferential stimulation of gamma delta T cells by TNF-alpha. *J Immunol* 1998;160:5221-5230.
27. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998;392:245-252.
28. Cope AP, Liblau RS, Yang XD, Congia M, Laudanna C, Schreiber RD, et al. Chronic tumor necrosis factor alters T cell responses by attenuating T cell receptor signaling. *J Exp Med* 1997;185:1573-1584.
29. Zheng L, Fisher G, Miller RE, Peschon J, Lynch DH, Lenardo MJ. Induction of apoptosis in mature T cells by tumour necrosis factor. *Nature* 1995;377:348-351.
30. Speiser DE, Sebzda E, Ohteki T, Bachmann MF, Pfeffer K, Mak TW, et al. Tumor necrosis factor receptor p55 mediates deletion of peripheral cytotoxic T lymphocytes in vivo. *Eur J Immunol* 1996;26:3055-3060.
31. Herbein G, Mahlknecht U, Batliwalla F, Gregersen P, Pappas T, Butler J, et al. Apoptosis of CD8+ T cells is mediated by macrophages through interaction of HIV gp120 with chemokine receptor CXCR4. *Nature* 1998;395:189-194.
32. Kontoyiannis, D. and Kollias G. (2000) Accelerated autoimmunity and lupus nephritis in NZB mice with engineered heterozygous deficiency in tumor necrosis factor. *Eur J Immunol* 30:2038-47.
33. Kassiotis, G. and Kollias, G. (2000) Uncoupling the proinflammatory from the immunosuppressive properties of tumor necrosis factor (TNF) at the p55 TNF receptor level: implications for pathogenesis and therapy of autoimmune demyelination. *J Exp Med.* 193:427-434.
34. Kollias, G., Douni E., Kassiotis G. and Kontoyiannis D. (1999). Modeling multi-organ failure, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and inflammatory bowel disease by engineering defects in TNF/TNF-R biosynthesis and function. *Immunological Reviews*, 169:175-194.
35. Kontoyiannis, D., Pasparakis, M., Pizzaro, Th., Cominelli, F. and Kollias, G. (1999) Impaired on/off regulation of TNF biosynthesis in mice lacking TNF AU-rich elements: implications for joint and gut-associated immunopathologies. *Immunity* 10:387-398.
36. Kontoyiannis, D., Kotlyarov, A., Carballo, E., Alexopoulou, L., Blackshear, P.J., Gaestel, M., Davis, R., Flavell, R. and Kollias, G. (2001) Interleukin-10 targets p38 MAPK to modulate ARE-dependent TNF mRNA translation and limit intestinal pathology. *EMBO J.* 20:3760-3770.

ΑΛΙΚΗ ΙΝΙΩΤΑΚΗ-ΘΕΟΔΩΡΑΚΗ

H Διαφοροποίηση των T βοηθητικών λεμφοκυττάρων

H στροφή σε τουλάχιστον δύο υποπληθυσμούς T βοηθητικών (Th) λεμφοκυττάρων, κατά την ανοσολογική απάντηση σε πρωτεϊνικά αντιγόνα μικροβίων και οι διαφορετικοί συχνά ανταγωνιστικοί ρόλοι τους έχουν απασχολήσει τους ερευνητές τα τελευταία χρόνια. Οι δύο τύποι βοηθητικών CD4+ T κυττάρων, οι υποπληθυσμοί TH1 και TH2, οι οποίοι ξεχωρίζουν λόγω των διαφορετικών ομάδων κυτταροκινών που παράγουν, καθορίστηκαν αρχικά σε T κυτταρικούς κλώνους στον ποντικό και αργότερα στην ανοσολογική in vivo απάντηση στον άνθρωπο. Κύτταρα που εκφράζουν TH1 φαινότυπο παράγουν μετά ενεργοποίηση IL-2 και IFN- γ ενώ αντίθετα κύτταρα με TH2 φαινότυπο παράγουν κυρίως IL-4 και IL-5. Η σύνθεση ορισμένων άλλων κυτταροκινών όπως IL-10, IL-13 και IL-9 που χαρακτηρίζουν TH2 φαινότυπο στον ποντικό δεν παρουσιάζουν σαφή διαφοροποίηση σε ανθρώπινους κυτταρικούς κλώνους. Επιπλέον υπάρχουν ενδείξεις που υποστηρίζουν την παρουσία τουλάχιστον ενός τρίτου υποπληθυσμού Th λεμφοκυττάρων, κύτταρα με TH3 φαινότυπο, που χαρακτηρίζονται από την παραγωγή TGF β και εκδηλώνουν ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες. Ανάμεσα στα ζεύγη TH1/TH2 παρατηρείται αμοιβαία καταστολή με την έννοια ότι κυτταροκίνες τύπου TH1 παρεμποδίζουν την παραγωγή TH2 κυτταροκινών και το αντίθετο (1,2).

H προετοιμασία για τη διαφοροποίηση των πρόδρομων CD4+ T λεμφοκυττάρων λαμβάνει χώρα στους λεμφαδένες και καθορίζεται από διάφορους παράγοντες όπως: τη φύση του αντιγόνου, το βαθμό και τη διάρκεια συκέντρωσης και ενεργοποίησης των κυττάρων που παρουσιάζουν αντιγόνο (π.χ. δενδριτικών κυττάρων), την παρουσία βοηθητικών (Th) ή ρυθμιστικών (Tr) κυττάρων που ενισχύουν την παραγωγή IL-12 ή καταστέλλουν την ικανότητα των δενδριτικών κυττάρων να ενεργοποιούν T λεμφοκύτταρα, το χρόνο ζωής των δενδριτικών κυττάρων, την ένταση και διάρκεια της ενεργοποίησης του κυττάρου μέσω του TCR και το γενετικό υπόβαθρο του ατόμου. Τα γονίδια που ρυθμίζουν τη στροφή της Th απάντησης προς TH1 ή TH2 φαινότυπο και οι μοριακοί μηχανισμοί οι υπεύθυνοι για τη διαφοροποίηση δεν έχουν ακόμη διευκρινισθεί (2).

H παρουσία IL-12, IL-23 ή IL-18 τη στιγμή της αρχικής ενεργοποίησης των CD4+ T κυττάρων θεωρείται σημαντική για τη διαφοροποίηση και ωρίμανση των πρόδρομων Th κυττάρων προς TH1 φαινότυπο ενώ η παρουσία IL-4 κατά την αρχική ενεργοποίηση των CD4+ T κυττάρων είναι απαραίτητη για τη στροφή προς TH2 φαινότυπο. Η επίδραση των κυτταροκινών IL-12 και IL-4 στη διαφοροποίηση προς TH1 και TH2 γίνεται μέσω της έκφρασης ειδικών παραγόντων μεταγραφής, των παραγόντων stat-4 (signal transducer and activator of transcription 4) και stat-6 αντίστοιχα. Ένα μοντέλο διαφοροποίησης Th λεμφοκυττάρων μετά ενεργοποίηση από μικροβιακό αντιγόνο ή αλλεργιογόνο φαίνεται στον Πίνακα. Το παρθένο CD4+ T λεμφοκύτταρο ενεργοποιείται μέσω του TCR όταν αναγνωρίζει ένα αντιγόνο. Όταν το T κύτταρο ενεργοποιηθεί αρχίζει να πολλαπλασιάζεται, εκκρίνει IL-2 και εκφράζει υποδοχέα IL-12 (IL-12R). Παρουσία IL-12 που εκκρίνεται από τα μακροφάγα και/ή σε συνεργασία με CD8 α^+ δενδριτικά κύτταρα ξεκινά η διαφοροποίηση προς TH1 φαινότυπο. Η αλυσίδα IL-12R β_2 εκφράζεται στο διαφοροποιούμενο TH1 κύτταρο και η σύνδεση της IL-12 με τον υποδοχέα οδηγεί σε ενεργοποίηση του παράγοντα stat-4 και την αρχή του προγράμματος διαφοροποίησης προς TH1. Η κυτταροκίνη IL-4 που παράγεται από τα πρόδρομα Th κύτταρα ή από διάφορους κυτταρικούς τύπους όπως μετά συνεργασία με CD8- δενδριτικά κύτταρα προκαλεί διαφοροποίηση προς TH2 κατεύθυνση και καταστολή της έκφρασης του υποδοχέα της IL-12. Η σύνδεση της IL-4 με τον υποδοχέα της (που εκφράζεται στα CD4+ T παρθένα κύτταρα) ενεργοποιεί τον παράγοντα stat-6 και την έναρξη του προγράμματος διαφοροποίησης προς TH2 φαινότυπο (2-4).

H κατεύθυνση της διαφοροποίησης προς TH1 ή TH2 απάντηση δεν είναι μια αναπόφευκτη εξέλιξη μετά την ενεργοποίηση του T λεμφοκυττάρου. Ακόμη και κάτω από έντονες συνθήκες διαφοροποίησης, ένα μικρό ποσοστό αντιδρώντων T λεμφοκυττάρων αποκτούν δραστηρία λειτουργία και ικανότητα μετακίνησης προς τους ιστούς, ενώ τα υπόλοιπα παραμένουν μη διαφοροποιημένα, διατηρώντας την ικανότητα μετακίνησης προς τους λεμφαδένες (1). Η μετακίνηση των υποπληθυσμών προς τις περιοχές της λοίμωξης καθορίζεται από την ιδιότητά τους να συνδέονται με διαφορετικά

μόρια σελεκτινών που εκφράζονται στο ενδοθήλιο και από την απάντηση των κυττάρων σε συγκεκριμένες χυμειοκίνες. Οι κυτταροκίνες που παράγονται από T υποπληθυσμούς δεν καθορίζουν μόνο το αποτέλεσμα της απάντησης αλλά επάγουν και την εξάπλωση και επικράτηση του συγκεκριμένου υποπληθυσμού. Όταν μία απάντηση εξελιχθεί προς μια κατεύθυνση, επικεντρώνεται στην κατεύθυνση αυτή, όπως συμβαίνει μετά χρόνια φλεγμονή ή χρόνια έκθεση στο αντιγόνο (2).

TH1/TH2 ειδική ανοσολογική απάντηση και νοσήματα

Η ανοσολογική απάντηση στους ιστούς μέσω των διαφοροποιημένων TH1/TH2 κυττάρων μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την προστασία από ξένο αντιγόνο ή ιστική καταστροφή και νόσο. Πειράματα *in vivo* έδειξαν ότι μετά αντιγονικό ερεθισμό η ανοσολογική απάντηση και η έκβαση της νόσου επηρεάζονται σημαντικά από τις κυτταροκίνες του περιβάλλοντος. Τα νοσήματα που προκαλούνται από υπερβολική και μη ρυθμιζόμενη ανοσολογική αντίδραση σε ξένα ή ίδια αντιγόνα είναι κυρίως αυτοάνοσα νοσήματα και αλλεργίες. Στοιχεία που συνηγορούν για τη συμμετοχή TH1/TH2 λεμφοκυττάρων σε φλεγμονώδη και μη φλεγμονώδη νοσήματα είναι η απομόνωση από προσβεβλημένους ιστούς, όπως εγκεφαλονωτιαίο υγρό σε σκλήρυνση κατά πλάκας, αρθρικό υγρό σε αρθρίτιδα, ή από το λεμφικό ιστό, ειδικών CD4+ T κυτταρικών κλώνων που εκκρίνουν κυρίως TH1 ή TH2 κυτταροκίνες *in vitro* και η αναζήτηση mRNA των κυτταροκινών στο σημείο της προσβολής (5,6).

Στροφή της ανοσολογικής απάντησης προς TH1 φαινότυπο προκαλεί ενεργοποίηση μακροφάγων και κυτταροτοξικών CD8+ T λεμφοκυττάρων με αποτέλεσμα ειδική κυτταρική ανοσολογική απάντηση και εκδήλωση υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου (DTH). TH1 αντιδράσεις συμμετέχουν στην εξάλειψη ενδοκυττάρων παθογόνων όπως ιών, βακτηρίων και πρωτοζώων ενεργοποιώντας τις μικροβιοκτόνες ικανότητες των φαγοκυττάρων ή προκαλώντας πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των CD8+ T κυτταροτοξικών κυττάρων. Σύντομα έγινε κατανοητό ότι η IFN- γ ρυθμίζει την παραγωγή αντισωμάτων που συνδέουν το συμπλήρωμα και συμμετέχουν στην ψυανοποίηση ελεύθερων ιών και εξωκυττάρων βακτηρίων διευκολύνοντας τη φαγοκυττάρωση τους.

TH2 απαντήσεις συσχετίζονται με υψηλά επίπεδα παραγωγής IgE και την ενεργοποίηση βασεόφιλων κυττάρων, μαστοκυττάρων και ηωζινοφίλων κυττάρων, συμμετέχοντας στην εκδήλωση άμεσου τύπου αντίδρασης υπερευαισθησίας και την εξάλειψη εξωκυττάρων παθογόνων κυρίως ελμίνθων. Επιπλέον TH2 κυτταροκίνες δρουν ως ρυθμιστές της ανοσολογικής απάντησης. IL-4, IL-13 και κυρίως IL-10 ρυθμίζουν TH1 απαντήσεις καταστέλλοντας την DTH αντίδραση και την ενεργοποίηση των μακροφάγων (6,7).

Ανοσολογικές απαντήσεις σε λοιμογόνους παράγοντες στον άνθρωπο χαρακτηρίζονται από την επικράτηση TH1 ή TH2 απάντησης. Μελέτες σε πειραματική λείσμανίαση απέδειξαν ότι άμυνα ή αντίθετα ευαισθησία στη νόσο συσχετίζονται με TH1 ή TH2 διαφοροποίηση αντίστοιχα. Παρόμοια συσχέτιση παρατηρήθηκε στη λέπρα και την HIV λοίμωξη όπου σταδιακή αντικατάσταση TH1 από TH2 φαινότυπο συσχετίζεται με επιδείνωση της νόσου (8).

Όργανοειδικά αυτόνοσα νοσήματα και κοκκιωματώδεις νόσοι συνδέονται με την επικράτηση TH1 απάντησης ενώ αλλεργία, κύηση και ορισμένα συστηματικά αυτόνοσα νοσήματα συσχετίζονται με ανοσολογική απάντηση τύπου TH2 (9) (Πίνακας).

A) TH1 φαινότυπος και νοσήματα

Αντίδραση DTH και ειδικά κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα είναι το αποτέλεσμα TH1 στροφής της ανοσολογικής απάντησης. Στην αντίδραση DTH η ιστική καταστροφή είναι το αποτέλεσμα των παραγώγων των ενεργοποιημένων μακροφάγων όπως υδρολυτικά ένζυμα, δραστικά παράγωγα οξυγόνου, νιτρικό οξύ και προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Στην περιοχή της βλάβης το αγγειακό ενδοθήλιο εκφράζει μόρια προσκόλλησης και αντιγόνα του Μείζονος Συμπλέγματος Ισοσυμβατότητας τάξης II, η έκφραση των οποίων επάγεται από κυτταροκίνες. Στη χρόνια DTH αντίδραση οι κυτταροκίνες και οι αυξητικοί παράγοντες που εκλύονται από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα οδηγούν σε ίνωση της περιοχής της φλεγμονής.

Ένας μεγάλος αριθμός δερματικών νοσημάτων μετά τοπική έκθεση σε χημικές ουσίες και αντιγόνα του περιβάλλοντος, οφείλονται σε DTH αντίδραση. Επίσης τύπου TH1 κυτταρική ανοσολογική απάντηση σε μικρόβια και άλλα ξένα αντιγόνα μπορεί να οδηγήσει σε ιστική καταστροφή στα σημεία της φλεγμονής ή της έκθεσης στο αντιγόνο. Ενδοκυττάρια βακτήρια, όπως το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης, προκαλούν ισχυρή T κυτταρική αντίδραση και ενεργοποίηση μακροφάγων που οδηγεί σε κοκκιωματώδη φλεγμονή και ίνωση. Η ίνωση και η φλεγμονή μπορεί να προκαλέ-

σουν εκτεταμένη ιστική καταστροφή και δυσλειτουργία του προσβεβλημένου οργάνου (6,10).

Η ρευματοειδής αρθρίτις είναι ένα παράδειγμα οργανοειδικής αυτοάνοσου νόσου στην οποία αυτοδραστικά T κύτταρα είναι υπεύθυνα για αντίδραση DTH και φλεγμονή στις προσβεβλημένες αρθρώσεις. Η νόσος παρουσιάζει ομοιότητα με το πειραματικό μοντέλο στο οποίο είναι γνωστό ότι η αρθρίτιδα οφείλεται σε ειδικά για το αρθρικό κολλαγόνο T κύτταρα. Κυτταρική και χυμική ανοσολογική απάντηση φαίνεται ότι συμμετέχουν στις βλάβες που παρατηρούνται στη ρευματοειδή αρθρίτιδα. CD4+ T κύτταρα, Β-λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα έχουν βρεθεί στη φλεγμαίνουσα άρθρωση και κυτταροκίνες όπως IL-1, IL-8, TNF, IFN- γ έχουν μετρηθεί στο αρθρικό υγρό. Οι παραγόμενες κυτταροκίνες ενεργοποιούν τα κύτταρα της άρθρωσης που παράγουν υδρολυτικά ένζυμα, όπως κολλαγενάση, συμμετέχοντας στην ιστική καταστροφή. Αν και η ρευματοειδής αρθρίτις παρουσιάζει στοιχεία τύπου TH1, η παρουσία CD30+ TH2/TH0 κυττάρων στα σημεία της φλεγμονής φαίνεται ότι οφείλεται σε μηχανισμό ομοιοστασίας στην προσπάθεια να αντιμετωπισθεί η προφλεγμονώδης TH1 αντίδραση. Το φαινόμενο της συνύπαρξης και των δύο υποπληθυσμών είναι συνηθισμένο εύρημα σε αυτοάνοσες νόσους και συνηγορεί υπέρ μιας δυναμικής ισορροπίας μεταξύ TH1/TH2 αντιδράσεων ανάλογα με το στάδιο της νόσου: επικράτηση TH2 φαινότυπου και παραγωγή IL-4 και IL-10 σε προσπάθεια αυτοπεριορισμού της νόσου, ισορροπία μεταξύ TH1/TH2 φαινότυπου στην ύφεση και επικράτηση TH1 φαινότυπου στη χρόνια νόσο (11).

B) TH2 φαινότυπος και νοσήματα

TH2 φαινότυπος και ανοσολογική απάντηση που κατευθύνεται από IgE αντίσωμα σε ειδικά αλλεργιογόνα παρατηρείται σε ασθενείς με αλλεργικές αντιδράσεις και έχει συσχετισθεί με γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Η ανοσολογική απάντηση ξεκινά από τη σύνδεση του αλλεργιογόνου με την ανοσοσφαιρίνη IgE που είναι σταθεροποιημένη σε μαστοκύτταρα ή βασεόφιλα κύτταρα. Η σύνδεση αντιγόνου-αντισώματος οδηγεί στην απελευθέρωση παραγόντων φλεγμονής όπως προσταγλανδίνες και λευκοτριένια, ισταμίνη, κυτταροκίνες και κυτταρολυτικά ένζυμα. Η αντίδραση άμεσης υπερευαισθησίας χαρακτηρίζεται από φλεγμονώδη αντίδραση, αγγειοδιαστολή και εξοίδηση πλάσματος. Η φλεγμονώδης αντίδραση χαρακτηρίζεται από διήθηση με ηωζινόφιλα, βασεόφιλα και TH2 κύτταρα. Διάφορα όργανα παρουσιάζουν διαφορετικές κλινικές εικόνες άμεσης αντίδρασης υπερευαισθησίας στις οποίες συμμετέχουν διάφοροι φλεγμονώδεις παράγοντες και κύτταρα στόχοι. Η αλλεργία μπορεί να εκδηλωθεί με την εικόνα άσθματος, αλλεργικής ρινίτιδας, αλλεργίας από τρόφιμα, άμεσης υπερευαισθησίας στο δέρμα με ερυθρότητα και οίδημα ή σαν χρόνια αντίδραση με τη μορφή χρόνιου εκζέματος (6,12).

Μελετώντας την ανοσοϊστοπαθολογία του αλλεργικού άσθματος, υψηλές συγκεντρώσεις mRNA του μεταγραφικού παράγοντα GATA-3, ο οποίος περιορίζεται σε TH2 κύτταρα, βρέθηκαν σε βρογχικές βιοψίες ασθενών με άσθμα. Στους ασθενείς τα περισσότερα κύτταρα του βρογχοκυψελιδικού εκκρίματος περιέχουν mRNA των κυτταροκινών IL-3, IL-4, IL-5 και GM-CSF σε αντίθεση με το βρογχοκυψελιδικό έκκριμα φυσιολογικών ατόμων. Αντίθετα ο αριθμός των κυττάρων που εκφράζουν mRNA της IFN- γ ήταν ίδιος στις δύο ομάδες. Εφόσον η IFN- γ παρεμποδίζει τη σύνθεση της IgE και τη διαφοροποίηση των πρόδρομων Th κυττάρων σε TH2 κύτταρα, η θεωρία ότι απουσία IFN- γ θα προκαλούσε την επικράτηση TH2 φαινότυπου και την ενίσχυση της αλλεργικής φλεγμονής φαίνεται πολύ πιθανή. Όμως, παρατηρήσεις από in vivo μελέτες στο άσθμα είναι αντίθετες με την υπόθεση αυτή. Έχει βρεθεί ότι η ποσότητα IFN- γ είναι αυξημένη τόσο στον ορό ασθενών με βαρύ άσθμα όσο και στα υπερκείμενα των καλλιέργειών των κυττάρων του βρογχοκυψελιδικού υγρού. Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η IFN- γ ενισχύει την ενεργοποίηση των ηωζινοφίλων κυττάρων και πιθανότατα ενισχύει τη φλεγμονή. Οι παρατηρήσεις αυτές επιβεβαιώνουν την άποψη ότι η άμεση σύνδεση της φλεγμονώδους αντίδρασης στην αλλεργία με TH2 στροφή της ανοσολογικής απάντησης είναι μια εξαιρετικά απλοποιημένη άποψη (13,14).

Η αυξημένη συχνότητα της εμφάνισης άσθματος στις κοινότητες της δύσης έχει οδηγήσει στην υπόθεση της "υγιούς ωρίμανσης" του ανοσολογικού συστήματος. Είναι γνωστό ότι το ανοσολογικό σύστημα του νεογνού παρουσιάζει στροφή προς TH2 φαινότυπο και χρειάζεται χρόνο και το κατάλληλο περιβάλλον για να επιτύχει μια ισορροπημένη ανοσολογική απάντηση. Οι παράγοντες που ενισχύουν την TH1 αντίδραση και συσχετίζονται με ελαττωμένη εμφάνιση αλλεργίας, άσθματος ή και των δύο, περιλαμβάνουν έκθεση σε λοιμογόνους παράγοντες λόγω επαφής με άλλα αδέρφια ή παιδιά στους σταθμούς φύλαξης βρεφών κατά τους πρώτους 6 μήνες της ζωής. Η διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ TH1 και TH2 κυττάρων μπορεί να επηρεασθεί από τη συχνή χορή-

γηση αντιβιοτικών από το στόμα που επιφέρει αλλαγές στην κλωρίδα του γαστρεντερικού συστήματος. Αν και οι παρατηρήσεις αυτές παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, τα συχνά αντικρουόμενα αποτελέσματα δεν επιτρέπουν συγκεκριμένα συμπεράσματα για την σημασία της υπόθεσης αυτής (14).

Συμπέρασμα

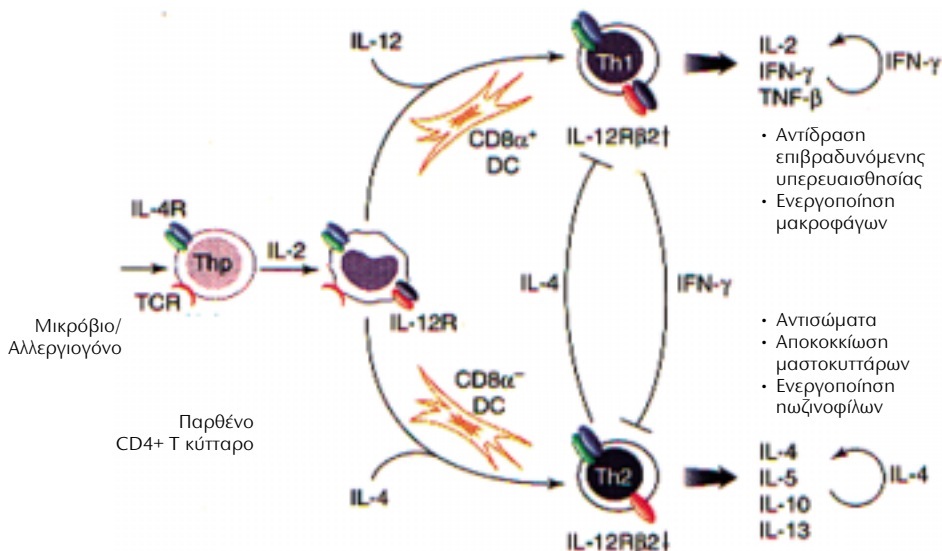
Δύο διαφορετικοί υποπληθυσμοί Τη λεμφοκυττάρων ανάλογα με τις κυτταροκίνες που παράγουν, TH1 και TH2 κύτταρα, κατευθύνουν την ανοσολογική απάντηση σε ξένα ή ίδια αντιγόνα με αποτέλεσμα άμυνα του οργανισμού ή ιστική καταστροφή και νόσο, που είναι το αποτέλεσμα της φλεγμονώδους διαδικασίας.

TH1 φαινότυπος επικρατεί σε οργανοειδικά αυτοάνοσα νοσήματα, δερματίτιδα εξ επαφής ή σε χρόνιες φλεγμονώδεις βλάβες από ενδοκυττάρια βακτήρια. Οι βλάβες στις περιπτώσεις αυτές οφείλονται σε αντίδραση επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας και ενεργοποίηση μακροφάγων και ειδικών Τ κυτταροτοξικών κυττάρων. TH2 φαινότυπος χαρακτηρίζει κυρίως αλλεργικά νοσήματα και η βλάβη οφείλεται στη φλεγμονή από την αποκοκκίωση βασηοφίλων λεμφοκυττάρων με τη συμμετοχή ειδικών IgE αντισωμάτων και την ενεργοποίηση ηωζινοφίλων κυττάρων. Αν και η θεωρία της TH1/TH2 ανοσολογικής απάντησης προτείνει ένα χρήσιμο πλαίσιο για την κατανόηση των ανοσολογικών μηχανισμών, είναι εξαιρετικά απλοποιημένο να σκεφτεί κανείς ότι κάθε ανοσολογική απάντηση σε ένα αντιγόνο θα στρέφεται προς TH1 ή TH2 φαινότυπο με τη μια αντίδραση να είναι προστατευτική και την άλλη καταστροφική. Η περιπλοκότητα των φλεγμονωδών και λοιμωδών αντιδράσεων δείχνει ότι ορισμένες κυτταροκίνες (ή μια κυτταροκίνη) από τις ομάδες TH1 ή TH2 μπορεί να παρουσιάζουν επικαλυπτόμενη ή αντίθετη δράση. Στην πραγματικότητα προσεκτικές μελέτες αποκαλύπτουν ότι στα αρχικά στάδια της νόσου οι δύο υποπληθυσμοί συνήθως συνυπάρχουν με επικράτηση του ενός ή του άλλου σε μια προσπάθεια ρύθμισης της φλεγμονώδους διαδικασίας. Σαφής διαφοροποίηση προς TH1 ή TH2 φαινότυπο έχει παρατηρηθεί μετά χρόνιο ανοσολογικό ερέθισμα. Είναι φανερό ότι μόνο η ακριβής γνώση των μηχανισμών ρύθμισης της ανοσολογικής φύσης της φλεγμονής θα επιτρέψει στις περιπτώσεις αυτές την παρέμβαση με σκοπό την επαναφορά της TH1/TH2 φυσιολογικής ισορροπίας στο ανοσολογικό σύστημα και την αντιμετώπιση της νόσου.

Π ί ν α κ α ς

Μη λοιμώδεις καταστάσεις που συσχετίζονται με την επικράτηση TH1 ή TH2 φαινότυπου (9).

TH1	TH1
<p>Σκλήρυνση κατά πλάκας Αυτοάνοσος θυρεοειδίτις Νόσος Graves Ρευματοειδής αρθρίτις Αρθρίτις Lyme Αντιδραστική αρθρίτις Δερματίτις εξ επαφής</p>	<p>Διαβήτης τύπου Ι Οζώδες ερύθημα Επαναλαμβανόμενες αποβολές Ψωρίαση Απόρριψη νεφρικού μοσχεύματος Πνευμονική σαρκοείδωση Νόσος του Crohn</p>
TH2	TH2
<p>Άσθμα Ατοπική δερματίτις Εαρινή επιπεφυκίτις Κύηση Ιδιοπαθής ηωσινοφιλία</p>	<p>Σύνδρομο Omenn Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος Σκληροδερμία Χρόνιο GVHD (αντίδραση μοσχεύματος κατά ξενιστή)</p>



Εικόνα. Η διαφοροποίηση πρόδρομων Th κυττάρων (Thp) μετά ένα αντιγονικό ερέθισμα (4).DC: δενδριτικό κύτταρο

Βιβλιογραφία

1. Lanzavecchia A, Sallustro F. Dynamics of T lymphocyte responses: Intermediates, effectors and memory cells. *Science* 2000, 290:92-97.
2. Abbas A, Lichtman A, Pober J. Cytokines. *Cellular and Molecular Immunology*, Chapter 11. Saunders, 2000:235-269.
3. Reiner LS. Helper T cell differentiation, inside and out. *Curr Opin Immunol* 2001, 13(3):351-355.
4. Rengarajan J, Szabo S, Glimcher L. Transcriptional regulation of TH1/TH2 polarization. *Immunology Today* 2000, 21(10):479-483.
5. Abbas A, Singer G. Regulatory and effector functions of CD4+ T lymphocytes. *Clinical Immunology*, Chapter 17. Rich R, ed. 1996: 264-275.
6. Sell S. Immunopathology. *Clinical Immunology*, Chapter 28. Rich R, ed. 1996:449-477.
7. Kaufmann S. Immunity to intracellular bacteria and protozoa. *The Immunologist* 1995, 3(5/6):221-225.
8. Jankovic D, Sher A, Yap G. Th1/Th2 effector choice in parasitic infection: decision making by committee. *Curr Opin Immunol* 2001, 13(4):403-409.
9. Holdsworth S, Kitching R, Tipping P. Th1 and Th2 helper cell subsets affect patterns of injury and outcomes in glomerulonephritis. *Kidney International* 1999, 55:1198-1216.
10. Abbas A, Lichtman A, Pober J. Diseases caused by immune responses: Hypersensitivity and autoimmunity. *Clinical and Molecular Immunology*, Chapter 18. Saunders, 2000:404-423.
11. Gerli R, Lunardi C, Vinante F, et al. Role of CD30+ T cells in rheumatoid arthritis: a counter regulatory paradigm for Th1 driven diseases. *Trends in Immunology* 2001, 22(2):72-77.
12. Abbas A, Lichtman A, Pober J. Immediate Hypersensitivity. *Clinical and Molecular Immunology*, Chapter 19. Saunders, 2000:424-444.
13. Girolomoni G, Sebastiani S, Albanesi C, et al. T cell subpopulations in the development of atopic and contact allergy. *Curr Opin Immunol* 2001, 13(6):733-737.
14. Busse W, Lemanske R. Asthma. *New Engl J Med* 2001, 344(5): 350-362.

Γενικές αρχές: Το σύστημα του συμπληρώματος αναφέρεται για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία στα τέλη του 19ου αιώνα (1) σαν μια «θερμο-ευαίσθητη» ουσία η οποία έπρεπε να προστεθεί 'συμπληρωματικά' σε μια «θερμο-ανθεκτική» ουσία (αντίσωμα) ώστε να προκληθεί λύση των κυττάρων κατά τη διάρκεια βακτηριοκτόνων ή αιμολυτικών δοκιμασιών. Το σύστημα του συμπληρώματος αποτελούν πρωτεΐνες οι οποίες συνεργάζονται και αλληλεπιδρούν σε έναν καταρράκτη ενεργοποίησης με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή δραστικών προϊόντων. Οι πρωτεΐνες αυτές εκκρίνονται μετά διέγερση από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες -TNF, IL-11, IL-6- κυρίως από το ππατοκύτταρο αλλά και από άλλους ιστούς όπως: επιθηλιακά κύτταρα πεπτικού, ουροποιογεννητικού, κύτταρα του μεσάγγειου των νεφρών, κυψελιδικά μακροφάγα, μονοκύτταρα και λεμφοκύτταρα.

Οδοί ενεργοποίησης: Η διαδικασία ενεργοποίησης του συμπληρώματος ακολουθεί δύο διαφορετικούς δρόμους: την κλασσική και την εναλλακτική οδό. Τα τελευταία χρόνια αναγνωρίστηκε μία ακόμη ακολουθία ενεργοποίησης: η οδός της μανόζης, η οποία ενεργοποιείται από τη μανόζη του τοιχώματος των μικροβίων και ακολουθεί τα στάδια της κλασσικής οδού. Η εναλλακτική οδός θεωρείται ότι είναι πιο αρχέγονη και ότι αποτελεί μέρος της φυσικής ανοσίας, ενώ η κλασσική οδός θεωρείται ότι δημιουργήθηκε αργότερα στην εξέλιξη με στόχο την ενσωμάτωση στο σύστημα της έννοιας της «ειδικότητας» του ανοσολογικού μηχανισμού, όπως αυτή αντανακλάται από την αναγνώριση του αντιγόνου από το αντίσωμα.

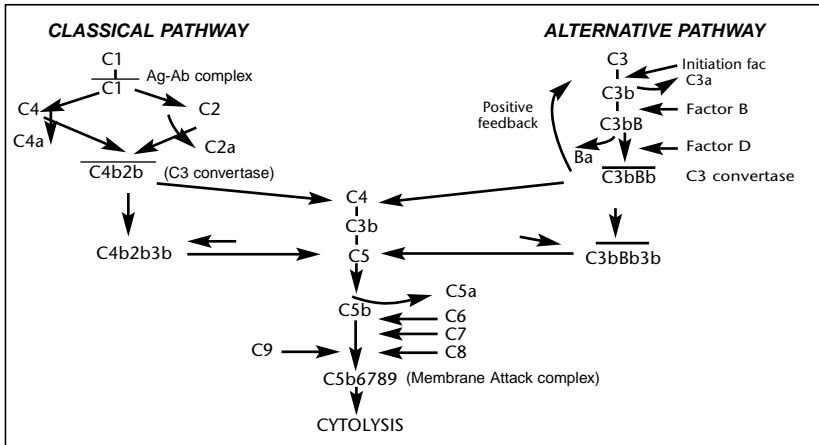
Η αρίθμηση των επιμέρους κλασμάτων (C1,C2, C3 κλπ) έγινε ανάλογα με το χρόνο της ανακαλυψής τους και για τον λόγο αυτό ο καταρράκτης της ενεργοποίησης των πρωτεϊνών δεν ακολουθεί αλληλουχία αριθμών. Ενώ λοιπόν στην κλασσική οδό ενεργοποιείται πρώτα το κλάσμα C1, στην εναλλακτική οδό η ενεργοποίηση ξεκινάει από το C3. Και οι δύο οδοί συγκλίνουν στο κλάσμα C3 μετά τη διάσπαση του οποίου ακολουθούν κοινή πορεία. Λόγω στερεοχημείας το C1 ενεργοποιείται εφ'όσον προσκολληθεί σε μεγαλομοριακά σύμπλοκα όπως είναι οι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες αντιγόνου που αναγνωρίζονται από κάποιο αντίσωμα, δηλαδή ανοσοσυμπλέγματα. Αντίθετα το C3 (πρώτο κλάσμα της εναλλακτικής οδού), βρίσκεται σε υγρή μορφή και μπορεί να αυτοενεργοποιηθεί (αυτοδραστικός μηχανισμός) διατηρώντας το σύστημα σε μια κατάσταση ετοιμότητας. Βασικός ενεργοποιητής αυτής της οδού είναι οι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες πολυσακχαριτών (τοιχίωμα μικροβίων).

Κατ'αρχήν είναι εμφανές ότι ανεπάρκεια η οποία αφορά κλάσματα της κλασσικής οδού οδηγεί πρωταρχικά σε νοσήματα από ανοσοσυμπλέγματα, ενώ ανεπάρκεια η οποία αφορά την εναλλακτική οδό οδηγεί σε λοιμώξεις κυρίως.

Και οι δύο οδοί ενεργοποίησης όπως και το σύστημα της πήξης διαθέτουν αυτοενισχυτικούς μηχανισμούς οι οποίοι βασίζονται στη διάσπαση αδρανών μορφών πρωτεϊνών από παράγοντες με ενζυμική δραστηριότητα (πρωτεασών δηλαδή) με αποτέλεσμα να γίνονται οι ίδιες πρωτεάσες που διασπούν άλλες αδρανείς πρωτεΐνες κοκ. Τελικά το οικοδόμημα που λέγεται σύστημα συμπληρώματος κτίζεται με σταδιακή προσθήκη παραγόντων ώστε να δημιουργούνται μεγαλομοριακές ενώσεις όπως οι διάφορες κομβερτάσες (πρωτεάσες) και το τελικό σύμπλοκο (MAC: membrane attack complex).

Αδρά ο καταρράκτης των οδών ενεργοποίησης έχει ως εξής:

A) Κλασσική οδός: Το C1 είναι ένα σύμπλοκο 3 μορίων C1q, C1r, και C1s. Το C1q αποτελείται από 6 κεφαλές και η δέσμευση του σε ανοσοσυμπλέγματα ή άλλες μεγαλομοριακές ενώσεις προκαλεί τη διάσπαση και ενεργοποίηση του C1r το οποίο με τη σειρά του ενεργοποιεί και διασπά το C1s. Ακολουθεί η ενεργοποίηση και διάσπαση των C4 και C2 σε -a- και -b- τμήματα από τα οποία το -a- τμήμα κυκλοφορεί στον ορό σαν διαλυτή πρωτεΐνη, ενώ το -b-τμήμα προσκολλάται στην επιφάνεια του κυττάρου-στόχου. Τα C4b και C2b σχηματίζουν την κομβερτάση του C3 (C4b2b) και έτσι τώρα ως ένζυμο μπορούν να διασπάσουν το C3 σε αντίστοιχα -a- και -b- τμήματα που με την ίδια λογική το C3a κυκλοφορεί στον ορό (αναφυλατοξίνη) ενώ το C3b προσκολλάται στην επιφάνεια του κυττάρου στόχου και μαζί με το C4b2b μόριο σχηματίζουν την κομβερτάση του C5 (C4b2b3b). Το C5 διασπάται σε C5a και C5b. Ακολουθεί η ενεργοποίηση των C6, C7, C8, C9 τα οποία προσκολλώνται μαζί με το C5b στη μεμβράνη του κυττάρου στόχου με αποτέλεσμα τον σχηματισμό του τελικού συμπλόκου.



Σχήμα 1: οδοί ενεργοποίησης του συμπληρώματος

Β) Εναλλακτική οδός: Εδώ ανήκουν δύο πρωτεΐνες με πρωτεολυτική δραστηριότητα ο παράγοντας Β και ο παράγοντας D. Μια τρίτη πρωτεΐνη η προπερδίνη σταθεροποιεί την αλληλεπίδραση πρωτεΐνης-πρωτεΐνης ώστε να εμποδίζει την απενεργοποίηση της C3 κομβερτάσης αυτής της οδού. Το C3 που συνεχώς βρίσκεται σε μια κατάσταση αυτοενεργοποίησης-αδρανείωσης, όπως ήδη έχει αναφερθεί, αλληλεπιδρά με τον παράγοντα Β ο οποίος διασπάται σε Βa και Βb από τον παράγοντα D. Το σύμπλοκο C3bBb στην μεμβράνη του κυττάρου στόχου αποτελεί την C3 κομβερτάση αυτής της οδού η οποία διασπά και άλλα μόρια C3 σε C3a και C3b. Το C3a κυκλοφορεί ενώ το C3b δεσμεύεται στη μεμβράνη του κυττάρου στόχου και σχηματίζει την κομβερτάση του C5 (C3bBb3b). Από το σημείο αυτό η ενεργοποίηση συνεχίζεται όπως και στην κλασική οδό.

Υποδοχείς συμπληρώματος: Οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος εκδηλώνουν τη βιολογική τους δράση μέσω υποδοχών υψηλής χημικής συγγένειας και ειδικότητας.

Α) Υποδοχέας C1q: Συμμετέχει στην οψωνοποίηση των ανοσοσυμπλεγμάτων με αποτέλεσμα την «πυροδότηση» της φαγοκυττάρωσης, της αναπνευστικής έκρηξης από τα ουδετερόφιλα, την έκκριση κυτταροκινών από τα μακροφάγα και την έκκριση ανοσοσφαιρινών από τα Β λεμφοκύτταρα.

Β) Υποδοχέας συμπληρώματος 1 (CR1): υποδοχέας για τα C3b και C4b. Βρίσκεται στα ερυθροκύτταρα, μονοκύτταρα, πολυμορφοπύρρηνα, Β λεμφοκύτταρα και μικρό ποσοστό Τ κυττάρων. Επειδή τα ερυθροκύτταρα στερούνται υποδοχών για το Fc τμήμα της ανοσοσφαιρίνης ο CR1 υποδοχέας αποτελεί το μοναδικό μέσο με το οποίο τα ανοσοσυμπλέγματα δεσμεύονται στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων ώστε στην συνέχεια μέσω της κυκλοφορίας να περάσουν από τα όργανα του ΔΕΣ όπου θα πραγματοποιηθεί η καθαροσί τους μέσω φαγοκυττάρωσης (σχήμα 2).

Γ) Υποδοχέας συμπληρώματος 2 (CR2): υποδοχέας για τον ιό Epstein Barr και για μια πρωτεΐνη που κωδικοποιείται ως CD23 η οποία ενεργοποιεί τα Β λεμφοκύτταρα.

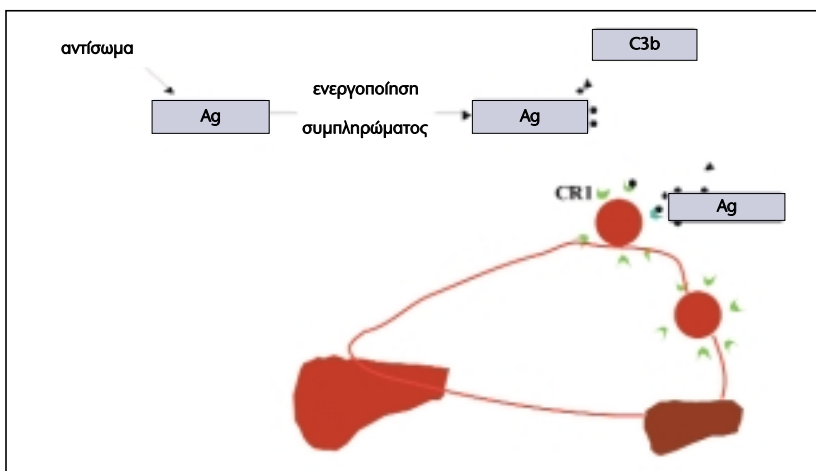
Δ) Υποδοχέας συμπληρώματος 3 (CR3): υποδοχέας για το C3 που συμμετέχει στη διαμόρφωση του κυτταροσκελετού και της μεμβράνης κατά την προσκόλληση των κυττάρων και την φαγοκυττάρωση.

Ε) Υποδοχέας συμπληρώματος 4 (CR4): υποδοχέας για το C3b. Αγνωστη βιολογική δράση

ΣΤ) Υποδοχείς των αναφυλατοξινών C3a, C4a, C5a

Έλλειψη και μηχανισμοί του συμπληρώματος που οδηγούν σε συστηματική αυτοανοσία

Η ομόζυγη ανεπάρκεια κλασμάτων του συμπληρώματος είναι σπάνια. Η πιο συχνή είναι η ανεπάρκεια του C2 που στους Καυκάσιους εμφανίζεται με συχνότητα 1/20000 άτομα. Περίπου το 1% των ασθενών με ΣΕΛ εμφανίζουν ομόζυγη ανεπάρκεια συμπληρώματος ενώ περισσότεροι από το 90% των ασθενών με C1q ανεπάρκεια εκδηλώνουν ΣΕΛ κατά την παιδική ή εφηβική ηλικία. Αντίθετως η επίκτητη ανεπάρκεια σε ασθενείς με ΣΕΛ είναι εξαιρετικά συχνή με τα μειωμένα επίπεδα των κλασμάτων της κλασικής οδού και του C3 να αποτελούν δείκτες ενεργότητας νόσου (2). Είναι πιθανό ότι αυτή η επίκτητη ανεπάρκεια συνεργεί στη διατήρηση της δραστηριότητας της νόσου.



Σχήμα 2: μεταφορά και κάθαρση ανοσοσυμπλεγμάτων

Υπάρχει μια ιεραρχία στην ανεπάρκεια των πρωτεϊνών της κλασσικής οδού όσον αφορά την βαρύτητα και την επιρρέπεια στη νόσο. Η ανεπάρκεια του C1q συσχετίζεται με την μεγαλύτερη συχνότητα της νόσου η οποία είναι βαρεία και με πρώιμη έναρξη. Η ανεπάρκεια των C1r, C1s και C4 συσχετίζεται επίσης με βαρεία και με πρώιμου ενάρξεως νόσο (3). Η ανεπάρκεια του C2 συσχετίζεται με εκδήλωση ΣΕΛ μόνο στο 33% των ασθενών. Αντίθετα μόνο ένα μικρό ποσοστό ασθενών με C3 ανεπάρκεια εμφανίζουν σημεία αυτοανοσίας, κυρίως με εκδήλωση σπειραματονεφρίτιδας, ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό εκδηλώνει βακτηριακές λοιμώξεις. Αυτή η διαφορά μεταξύ C1q και C3 ανεπάρκειας αποτελεί μάλλον παράδοξο, αφού η πρωτεΐνη C3 υπερέχει ποσοτικά από τις άλλες και είναι υπεύθυνη για πολλές από τις δράσεις του συμπληρώματος. Η ανεπάρκεια του C1q συσχετίζεται με υποτροπιάζουσες δερματικές βλάβες, χρόνιες λοιμώξεις, ΣΕΛ ή νοσήματα που προσομοιάζουν με ΣΕΛ, καθώς και με μεσαγγειοίπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα (4).

Σε ασθενείς με ΣΕΛ χωρίς ανεπάρκεια του C1q συχνό εύρημα αποτελεί η ανίχνευση αντι-C1q αντισωμάτων (5). Τα αντισώματα αυτά αποδεσμεύουν το C1r και το C1s από το C1q. Η πιο συχνή κλινική εκδήλωση της παρουσίας των αντι-C1q αντισωμάτων είναι μια ποικιλία συνδυασμού κνιδωτικής αγγειίτιδας, αρθρίτιδας, αποφρακτικής βρογχίτιδας και σπειραματονεφρίτιδας. Η παρουσία τους επίσης συσχετίζεται με χαμηλό συμπλήρωμα και σπειραματονεφρίτιδα σε ασθενείς με ΣΕΛ. Ακόμη δεν μπορούμε να πούμε με βεβαιότητα ότι τα αντισώματα αυτά είναι παθογόνα. Είναι πιθανό ότι δημιουργώντας ανοσοσυμπλέγματα προωθούν την ενεργοποίηση του συμπληρώματος στους ιστούς. Την άποψη αυτή στηρίζει το γεγονός ότι αντι-C1q αντισώματα που απομονώθηκαν από τον ορό ασθενών καθιζάνουν στα πειράματα νεφρού πειραματόζωων εαν προστεθεί C1q (6).

Δεν είναι ακόμη πλήρως γνωστός ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός που οδηγεί στην ανάπτυξη αυτοανόσων νοσημάτων σε ασθενείς με κληρονομικές ανεπάρκειες του συμπληρώματος.

Από τις δραστηριότητες του συμπληρώματος οι παρακάτω θεωρείται ότι προστατεύουν από την εκδήλωση αυτοανοσίας και άρα η νόσος οφείλεται σε διαταραχή αυτών:

- Η μεταφορά και κάθαρση ανοσοσυμπλεγμάτων
- Η παρουσίαση του αντιγόνου και ενεργοποίηση του Β λεμφοκυττάρου
- Η συμμετοχή στην άμυνα κατά των λοιμώξεων

Η πιο δημοφιλής υπόθεση για τον μηχανισμό ανάπτυξης αυτοανοσίας βασίζεται στο ρόλο του συμπληρώματος στη μεταφορά και κάθαρση των ανοσοσυμπλεγμάτων. Το σύστημα του συμπληρώματος αλληλεπιδρά με τα ανοσοσυμπλέγματα μέσω διαφόρων μηχανισμών:

i) τα C3b μόρια με ιδιότητες ενεργού οψωνίνης ενισχύουν τη φαγοκυττάρωση των διαλυτών ανοσοσυμπλεγμάτων (7). ii) ήδη από τα πειράματα του Heidelberger την δεκαετία του '40 είναι γνωστό ότι η ενεργοποίηση του συμπληρώματος συμβάλλει στο να διατηρούνται τα ανοσοσυμπλέγματα σε διαλυτή μορφή προλαμβάνοντας την καθίζησή τους σε ιστούς ενώ παράλληλα τα επαναφέρει σε διαλυτή μορφή εαν αυτά έχουν ήδη καθιζάνει (8). iii) τα ανοσοσυ-

μπλέγματα δεσμεύονται στη μεμβράνη του ερυθροκυττάρου μέσω του CR1 υποδοχέα. Όταν τα ερυθροκύτταρα περάσουν από το ήπαρ τα κύτταρα Kupffer αποσπούν τα ανοσοσυμπλέγματα από την επιφάνεια των ερυθροκυττάρων τα οποία με την σειρά τους επιστρέφουν στην κυκλοφορία. Με τον τρόπο αυτό αποφεύγεται η εναπόθεση ανοσοσυμπλεγμάτων σε όργανα όπως οι νεφροί. Από μελέτες φαίνεται ότι σε περιπτώσεις κληρονομικής ή επίκτητης ανεπάρκειας του συμπληρώματος η κάθαρση των ανοσοσυμπλεγμάτων διαταράσσεται (9). Η λειτουργία της φαγοκυττάρωσης από τα φαγοκύτταρα του ήπατος μειώνεται ενώ απουσιάζει πλήρως η λειτουργία της φαγοκυττάρωσης από τον σπλήνα.

Η άλλη θεωρία βασίζεται στο ρόλο του συμπληρώματος στην ανάπτυξη επαρκούς αντισωματικής απόκρισης από το ανοσολογικό σύστημα. Ασθενείς με κληρονομική ανεπάρκεια των C1, C2, C4 ή C3 έχουν μειωμένη αντισωματική απόκριση τόσο σε T-εξαρτώμενα όσο και σε T-μη εξαρτώμενα αντιγόνα (10). Το συμπλήρωμα φαίνεται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εγκατάσταση του αντιγόνου με τη μορφή ανοσοσυμπλεγμάτων στην επιφάνεια των δενδριτικών κυττάρων των λεμφοζιδίων ενώ επιπλέον διεγείρει την παραγωγή αντισωμάτων καθώς και τη δημιουργία B κυττάρων μνήμης στα βλαστικά κέντρα των λεμφαδένων. Ασθενείς με ανεπάρκεια των κλασμάτων της κλασσικής οδού αλλά και του C3 δεν έχουν τη δυνατότητα μετατροπής της αντισωματικής απάντησης από IgM σε IgG και επιπλέον έχουν ελαττωμένα επίπεδα ανοσοσφαιρινών IgG4 και IgG2 (11). Το παράδοξο στην περίπτωση αυτή είναι ότι ενώ η ανεπάρκεια του συμπληρώματος συσχετίζεται με μειωμένη ενεργοποίηση του B λεμφοκυττάρου, μειωμένη αντισωματική απόκριση σε ξένα αντιγόνα και με μειωμένη ανάπτυξη κυττάρων μνήμης, εν τούτοις η ανεπάρκεια αυτή συνοδεύεται από αυξημένα επίπεδα αυτοαντισωμάτων!

Τα γονίδια των κλασμάτων C4, C2 και παράγοντα B βρίσκονται μεταξύ του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) στο χρωμόσωμα 6. Ετσι είναι πιθανό ότι τα αυτοάνοσα νοσήματα που εμφανίζονται με αυξημένη συχνότητα σε ασθενείς με ανεπάρκεια του C4 ή του C2 να συσχετίζονται με συγκεκριμένα αλληλία άλλων γονιδίων μέσα στο σύστημα ιστοσυμβατότητας (πχ. HLA-A, HLA-B, HLA-DR) το οποίο επηρεάζει τη λειτουργία του ανοσολογικού συστήματος. Όμως η θεωρία αυτή δεν ευσταθεί για ανεπάρκειες των C1 και C3, τα γονίδια των οποίων δεν βρίσκονται σε περιοχές που έχουν σχέση με το ανοσολογικό σύστημα.

Τέλος, όσον αφορά το ρόλο του συμπληρώματος στην άμυνα κατά των λοιμώξεων, παρότι είναι γνωστός ο καταλυτικός ρόλος του στην προστασία κατά των πυογόνων βακτηριδίων δεν φαίνεται να συμμετέχει στην άμυνα κατά των ιών. Όμως in vitro δεδομένα υποστηρίζουν ότι το συμπλήρωμα μπορεί να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην άμυνα κατά των ρετροϊών οι οποίοι περιβάλλονται από τη λιπιδική στιβάδα της μεμβράνης των κυττάρων του ξενιστή (12). Όμως κάτι τέτοιο δεν θα μπορούσε να εξηγήσει γιατί η ανεπάρκεια του C1q συσχετίζεται περισσότερο με την ανάπτυξη αυτοανοσίας απ' ό,τι η ανεπάρκεια του C3.

Όπως τρεις είναι οι υποθέσεις για τους πιθανούς μηχανισμούς εμπλοκής του συμπληρώματος στην ανάπτυξη αυτοανοσίας, τρία είναι και τα παράδοξα που χαρακτηρίζουν την συσχέτιση συμπληρώματος και του βασικού εκπροσώπου των νοσημάτων αυτών, του ΣΕΛ:

- Ενώ το συμπλήρωμα ευθύνεται για τις φλεγμονώδεις αλλοιώσεις που εμφανίζονται στον ΣΕΛ, η ομόζυγη ανεπάρκεια ορισμένων κλασμάτων συνοδεύεται από την εκδήλωση ΣΕΛ
- Ενώ η ανεπάρκεια του C1q έχει την μεγαλύτερη συσχέτιση με την εκδήλωση ΣΕΛ, ασθενείς με ΣΕΛ που δεν έχουν C1q ανεπάρκεια συχνά αναπτύσσουν αντισώματα κατά του C1q
- Ενώ η ανεπάρκεια του συμπληρώματος συνοδεύεται από μειωμένη αντισωματική απάντηση σε T-εξαρτώμενα αντιγόνα, ο ΣΕΛ χαρακτηρίζεται από την παρουσία αυξημένων επιπέδων αυτοαντισωμάτων τα οποία στρέφονται κατά επιφανειακών αλλά και ενδοκυττάρων αντιγόνων.

Μέχρι τώρα τα δεδομένα μας βοηθούν να οικοδομούμε υποθέσεις. Τα ερωτηματικά όμως παραμένουν και η έρευνα για την αποσαφήνιση των μηχανισμών που προάγουν στην εκδήλωση αυτοανόσων νοσημάτων σε ασθενείς με ανεπάρκεια του συμπληρώματος είναι ακόμη σε εξέλιξη.

Βιβλιογραφία

1. V. Michael Holers (1996): Complement. Clinical Immunology Editor: Robert R. Rich
2. A.J. Swaak, J. Groenwold, W. Bronsveld (1986): Predictive value of complement profiles and anti-dsDNA in systemic lupus erythematosus. Ann. Rheum. Dis. 45:359-366
3. P. Bowness, K.A. Davies, P.J. Norsworthy et al (1994): Hereditary C1q deficiency and systemic lupus erythematosus. QJM 87:455-464

4. M. Loos, H.P. Heinz (1986): Component deficiencies. The first component: C1q, C1r, C1s. *Prog. Allergy* 39: 212-231
5. M.H. Wener, S. Uwatoko, M. Mannik (1989) Antibodies to the collagen-like region of C1q in sera of patients with autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.* 32: 544-551
6. S. Uwatoko, V.J. Gauthier, M. Mannik (1991): Autoantibodies to the collagen-like region of C1q deposit in glomeruli via C1q in immune deposits. *Clin. Immun. Immunopathol.* 61: 268-273
7. A. Erdel, G. Fust, J. Gergely (1991): The role of C3 in immune response. *Immunol. Today.* 12:332-337
8. M. Heidelberger (1941): Quantitative chemical studies on complement or alexin: IA *Method. J. Exp. Med.* 73: 691-694
9. K.A. Davies, K. Erlendsson, H.L. Beynon et al (1993): Splenic uptake of immune complexes in man is complement dependent. *J. Immunol.* 151: 3866-3873
10. H.D. Ochs, R.J. Wedgewood, M.M. Frank et al (1983): The role of complement in the induction of antibody responses. *Clin. Exp. Immunol.* 53: 208-213
11. P.Bird, P.J. Lachmann (1988): The regulation of IgG subclass production in man: low serum IgG4 in inherited deficiencies of the classical pathway of C3 activation. *Eur. J. Immunol.* 18: 1217-1222
12. Y. Takeuchi, F.L. Cosset, P.J. Lachmann et al (1994): Type C retrovirus inactivation by human complement is determined by both the viral genome and the producer cell. *J. Virol.* 68: 8001-8007

ΕΙΡΗΝΗ ΓΕΡΓΙΑΝΑΚΗ ΚΑΙ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Τ. ΜΠΟΥΜΠΑΣ

Περιεχόμενα

Εισαγωγή

I. Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

A. Τρόποι διεγέρσεως Τ λεμφοκυττάρων

1. Διέγερση μέσω αντιγονικού υποδοχέα και συνδιεγερτών
2. Διέγερση μέσω κυτταροκινών

B. Οδοί μετάδοσης σημάτων

1. Οδός MAPKs
2. Οδός Καλσινευρίνης

II. Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

A. Τρόποι διεγέρσεως Β λεμφοκυττάρων

1. Διέγερση μέσω αντιγονικού υποδοχέα
2. Διέγερση μέσω υποδοχών του συμπληρώματος
3. Διέγερση μέσω βοηθών Τ κυττάρων

III. ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ

A. Τρόποι διεγέρσεως μακροφάγων

1. Διέγερση μέσω Toll- like υποδοχών
2. Διέγερση μέσω ιντερφερόνης γ

B. Οδοί μετάδοσης σημάτων

IV. ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΣΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΝΟΣΟΣ

V. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΔΙΑΚΟΠΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΣΗΜΑΤΩΝ

- A. Γλυκοκορτικοειδή
- B. Ανοσοκατασταλτικά που προσδένονται σε ανοσοφιλίνες
- Γ. Αναστολείς MAPKs
- Δ. Αναστολείς NF-kB
- E. Αναστολείς υποδοχών κυτταροκινών

Εισαγωγή

Η μετάδοση σημάτων στα κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος συνδέει την αναγνώριση του αντιγόνου με τη λειτουργική κυτταρική απάντηση. Η αναγνώριση του αντιγόνου πυροδοτεί αλληλουχία βιοχημικών σημάτων, με αποτέλεσμα ενεργοποίηση γονιδίων που κωδικοποιούν πολλές από τις πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην ανοσολογική απάντηση. Η ανεύρεση ουσιών που αναστέλλουν σηματοδοτικά μόρια αυτών των οδών, εκτός από την πληρέστερη κατανόηση νόσων με απορρυθμισμένη σηματοδότηση, μπορεί να συμβάλλει ουσιαστικά στην ανάπτυξη νέων θεραπειών.

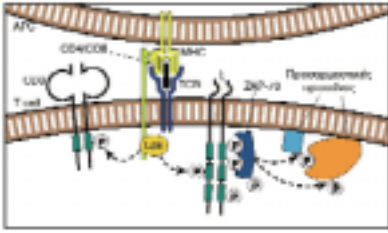
I. Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

A. Τρόποι διεγέρσεως Τ λεμφοκυττάρων

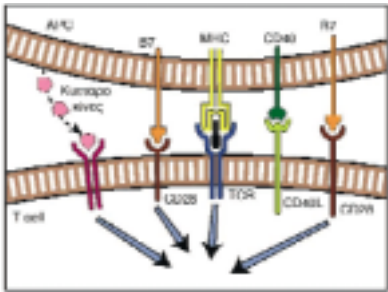
1. Διέγερση μέσω αντιγονικού υποδοχέα και συνδιεγερτών.

Το πρώτο σήμα που απαιτείται για τη διέγερση των Τ κυττάρων παράγεται από την πρόσδεση του αντιγόνου στον υποδοχέα του Τ κυττάρου, TCR (T cell receptor). Ακολουθεί φωσφορυλίωση τυροσινών σε περιοχές των CD3 και ζ αλύσων του TCR, που ονομάζονται ITAMs (Immunoreceptor tyrosine-based activation motifs). Οι φωσφοτυροσίνες γίνονται θέσεις πρόσδεσης (docking sites) για πρωτεϊνικές κινάσες τυροσίνης όπως η Lck, η οποία βρίσκεται στα κυτταροπλασματικά άκρα των CD4 και CD8 μορίων. Η ενεργοποιημένη Lck θα αποτελέσει θέση πρόσδεσης για την κινάση ZAP-70 (70kd- ζ associated protein) που προσδένεται στη ζ αλυσίδα. Η ενεργοποιημένη ZAP-70 φωσφορυλιώνει διάφορα υποστρώματα που δρουν ως προσαρμοστικές πρωτεΐνες (adaptor proteins) για τα επόμενα σηματοδοτικά μόρια (Εικ.1).

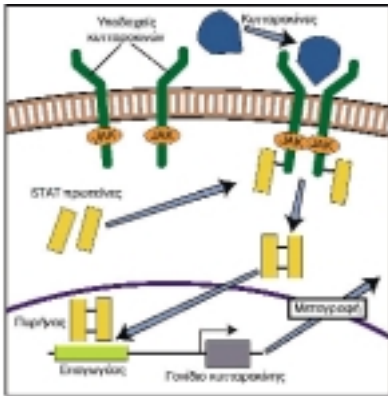
Το δεύτερο σήμα παράγεται από μόρια αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (συνδιεγέρτες, costimulators) που δρουν μαζί με το αντιγόνο, για να διεγείρουν τα Τ κύτταρα. Οι κύριοι συνδιε-



Εικ.1. Αρχικός καταρράκτης φωσφορυλιώσεων στη διέγερση των T κυττάρων. Μετά την αναγνώριση του αντιγόνου από τον υποδοχέα TCR, η CD8-προσδεσμένη κινάση Lck ενεργοποιείται και φωσφορυλιώνει (ενεργοποιεί) τις CD3 και ζ αλυσίδες του TCR, οι οποίες με τη σειρά τους φωσφορυλιώνουν την ZAP-70 (70kd ζ-associated protein) που προσδέεται στη ζ αλυσίδα. Η ZAP-70 φωσφορυλιώνει διάφορα υποστρώματα που δρουν ως προσαρμοστικές πρωτεΐνες, προσδένουν δηλαδή τα επόμενα σηματοδοτικά μόρια. APC αντιγόνοπαρουσιαστικό κύτταρο. MHC μείζον σύμπλεγμα ιστούσυμβατότητας. P φωσφορικές ομάδες.



Εικ.2 Διέγερση του T κυττάρου μέσω συνδιεγερτών. Οι κύριοι συνδιεγερτές είναι τα μόρια B7 των αντιγόνοπαρουσιαστικών κυττάρων (APC) που προσδέονται στο μόριο CD28 του T κυττάρου. Η αναγνώριση του αντιγόνου οδηγεί στην σύνδεση CD40- CD40L, η οποία καθιστά τα APC "καλύτερα", αφού διεγείρει περισσότερο την έκφραση των B7 συνδιεγερτών. Οι B7 συνδιεγερτές ενισχύουν τη διέγερση των T κυττάρων, μεταξύ άλλων και με παραγωγή κυτταροκινών.



Εικ.3. Σηματοδότηση κυτταροκινών μέσω της οδού JAK/STAT. Οι Janus κινάσες (JAKs) είναι κυτταροπλασματικές τυροσινό-κινάσες που στην ανενεργή τους μορφή συνδέονται χαλαρά με κυτταροπλασματικές περιοχές υποδοχέων κυτταροκινών. Μετά την πρόσδεση ενός μορίου κυτταροκίνης, οι Janus κινάσες ενεργοποιούνται και φωσφορυλιώνουν υπολείμματα τυροσίνης στις κυτταροπλασματικές περιοχές του υποδοχέα. Οι μεταγραφικοί παράγοντες STATs (signal transducers and activators), προσδέονται στον υποδοχέα, φωσφορυλιώνονται από τις JAK κινάσες, σχηματίζουν διμερή σύμπλοκα μεταξύ τους και αποδεσμεύονται από τον υποδοχέα. Τα διμερή STAT μεταναστεύουν στον πυρήνα, προσδέονται στον επαγωγέα και ενεργοποιούν τη μεταγραφή κυτταροκινών.

γέρτες των T κυττάρων είναι οι πρωτεΐνες B7-1 (CD80) και B7-2 (CD86) που αναγνωρίζονται από το μόριο CD28 του T κυττάρου. Η πρόσδεση των B7 μορίων στο CD28 μεταφέρει σήματα που ενισχύουν πολλές απαντήσεις των T κυττάρων στο αντιγόνο, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής κυτταροκινών (Εικ.2)

2. Διέγερση μέσω κυτταροκινών

Η διέγερση των T κυττάρων από τα αντιγόνα και τους συνδιεγερτές οδηγεί στην ενεργοποίηση της μεταγραφής γονιδίου και στη σύνθεση και έκκριση της IL-2. Η IL-2 δρα ως παράγοντας ανάπτυξης για τα αντιγόνο-διειρημόμενα T κύτταρα και είναι υπεύθυνη για τον πολλαπλασιασμό τους. Η πρόσδεση της IL-2 στον υποδοχέα της έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση πολλών οδών μετάδοσης σημάτων με κυριότερη την οδό JAK /STAT. Η αλληλουχία των γεγονότων στην οδό JAK /STAT φαίνεται στην εικόνα 3.

Β. Οδοί μετάδοσης σημάτων

1. Οδός MAPKS

Το μόριο Ras είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη που στην ανενεργή της μορφή είναι συνδεδεμένη με GDP. Κατά τη διέγερση του T κυττάρου, η ενεργοποίηση του Ras γίνεται μέσω της πρωτεΐνης Sos (παράγοντας ανταλλαγής GDP/GTP) που στρατολογείται στην κυτταρική μεμβράνη από ZAP-70 ενεργοποιημένες-προσαρμοστικές πρωτεΐνες όπως οι LAT, Grb-2 κλπ. (Εικ.4). Η γένεση του ενεργού μορίου Ras- GTP ενεργοποιεί, στη συνέχεια, ένα καταρράκτη ενζύμων που ονομάζονται μιτογόνο-ενεργοποιούμενες πρωτεϊνικές κινάσες ή MAPKS (mitogen-activated protein kinases). Τελικά, η οδός Ras/MAPKS οδηγεί στην παραγωγή της ενεργοποιούμενης από εξωκυττάριο υποδοχέα- κινάσης ERK (extracellular receptor-activated kinase). Η ERK, το πρότυπο μόριο της οικογένειας των MAP κινασών και είναι απαραίτητη στην ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων. Παράλληλος ενζυμικός καταρράκτης οδηγεί στην ενεργοποίηση της c-Jun N- terminal κινάσης (JNK) η οποία καλείται και στρεσοενεργοποιούμενη πρωτεϊνική κινάση ή SAP (stress-activated protein) κινάση διότι σε πολλά κύτταρα ενεργοποιείται από βλαπτικά ερεθίσματα όπως προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (λ.χ TNF ή η IL-1). Ένα άλλο μέλος της οικογένειας SAP κινασών είναι η p38.

2. Οδός Καλινευρίνης

Η μετάδοση σημάτων από το σύμπλεγμα TCR οδηγεί στην ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C (PLC γ1) από τη ZAP-70. Η PLCγ 1 καταλύει την υδρόλυση της 4,5 διφωσφορικής ινοσιτόλης οπότε παράγονται δύο προϊόντα : η 1,4,5-τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3) και η διάκυλογλυκερόλη (DAG), όπως φαίνεται στην εικ.5. Η IP3 προκαλεί ταχεία αύξηση στο ελεύθερο κυτταροπλασματικό ασβέστιο. Η δράση της ασκείται μέσω ειδικού υποδοχέα (IP3R) Ο IP3R βρίσκεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, και αποτελείται από ένα άνομο αμινοτελικό άκρο στο οποίο προσδέεται η IP3, ένα καρβοξυτελικό άκρο το οποίο σχηματίζει δίαυλο ασβεστίου και μια μεσαία ρυθμιστική περιοχή. Όταν προσδεθεί η IP3, ο δίαυλος ασβεστίου ανοίγει για να απελευθερωθεί ασβέστιο στο κυτταρόπλασμα. Το ασβέστιο που απελευθερώνεται προσδέεται στην πρωτεΐνη καλμοδουλίνη και το σύμπλεγμα ασβεστίου-καλμοδουλίνης ενεργοποιεί αρκετά ένζυμα, μεταξύ αυτών και μια φωσφατάση σερίνης/θρεονίνης που ονομάζεται καλινευρίνη και είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση μεταγραφικών

παραγόντων. Η διακυλογλυκερόλη ενεργοποιεί το ένζυμο πρωτεϊνική κινάση C (PKC) που συμμετέχει, επίσης, στην ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων.

Ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων: Το "τελικό" αποτέλεσμα της σηματοδότησης.

Τρεις μεταγραφικοί παράγοντες φαίνεται να είναι ζωτικής σημασίας για τις κυτταρικές απαντήσεις: ο NFAT, η AP-1 και ο NF-κB (Εικ.6).

α. Πυρηνικός παράγοντας ενεργοποιημένων T κυττάρων (nuclear factor of activated T cells, NFAT).

Ενεργοποιείται από την καλσινευρίνη και είναι απαραίτητος για την έκφραση των IL-2, IL-4, TNF και άλλων κυτταροκινών. Η καλσινευρίνη αποφωσφορυλιώνει την ανενεργό (κυτταροπλασματική) μορφή του NFAT, οπότε του επιτρέπει να μεταφερθεί στον πυρήνα όπου προσδένεται σε ρυθμιστικές περιοχές γονιδίων κυτταροκινών (συνήθως σε συνδυασμό με την AP-1)

β. Πρωτεΐνη Ενεργοποίησης-1 (activation protein 1, AP-1)

Ενεργοποιείται ειδικά στα T κύτταρα μετά από διέγερση τους μέσω TCR. Η AP-1 αποτελείται από τις πρωτεΐνες fos και Jun. Η ενεργοποίηση της AP-1 δεν απαιτεί μεταφορά στον πυρήνα προαποθηκευμένης κυτταροπλασματικής μορφής αλλά τυπικά περιλαμβάνει μεταγραφική του γονιδίου fos (το οποίο διεγείρεται από την ERK-εξαρτώμενη πρωτεΐνη ELK) και φωσφορύλιωση της προϋπάρχουσας πρωτεΐνης Jun (η οποία ενεργοποιείται από την JNK). Επομένως πρόκειται για ένα σημείο συνάντησης διαφορετικών οδών σηματοδότησης.

γ. Πυρηνικός Παράγοντας κB (nuclear factor κB, NF-κB)

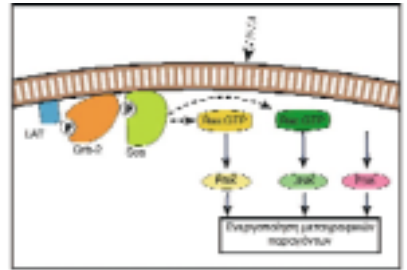
Ενεργοποιείται μέσω του TRC με μηχανισμό που δεν έχει ξεκαθαριστεί πλήρως (ίσως από την πρωτεϊνική κινάση C). Εν ηρεμία, ο NF-κB ευρίσκεται στο κυτταρόπλασμα των T κυττάρων σε μορφή συμπλέγματος με άλλες πρωτεΐνες που ονομάζονται αναστολείς του NFκB (IκBs). Τα σήματα από τον TCR οδηγούν σε φωσφορύλιωση του IκB, μέσω IκBs κινασών. Η επακόλουθη πρόσδεση μορίων ουμπικουϊτίνης (ubiquitin) στον IκB τον οδηγεί σε υδρόλυση στο πρωτεάσωμα (proteasome), που είναι ένα σύμπλεγμα πολυενζυμικής πρωτεάσης. Ο αποδομημένος αναστολέας IκB δεν μπορεί να προσδεθεί στον NFκB, οπότε ο NFκB απελευθερώνεται και μετατίθεται στον πυρήνα.

II. Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

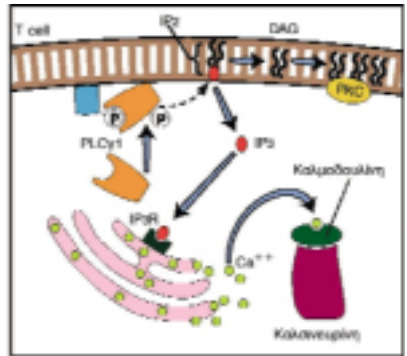
A. Τρόποι διεγέρσεως Β λεμφοκυττάρων

1. Διέγερση μέσω αντιγονικού υποδοχέα

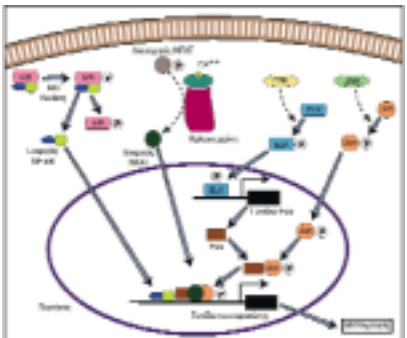
Το πρώτο σήμα που απαιτείται για τη διέγερση των Β κυττάρων παράγεται από την πρόσδεση του αντιγόνου σε μεμβρανικά μόρια ανοσοσφαιρινών Ig. Τα Ig- μεσολαβούμενα σήματα στην πραγματικότητα μεταδίδονται με τα μόρια Igα και Igβ, που είναι συνδεδεμένα στη μεμβρανική Ig σχηματίζοντας το "σύμπλεγμα αντιγονικού υποδοχέα του Β λεμφοκυττάρου". Οι Igα και Igβ, δηλαδή, έχουν την ίδια δράση με τις CD3 και ζ πρωτεΐνες του συμπλέγματος TCR. Όπως και στις CD3 και ζ, οι κυτταροπλασματικές περιοχές των Igα και Igβ περιέχουν μοτίβα ITAMs και τα πρώιμα γεγονότα σηματοδότησης είναι όμοια με αυτά των T κυττάρων. Εντός μερικών λεπτών από την πρόσδεση της μεμβρα-



Εικ.4 Η οδός των μιτογόνο ενεργοποιούμενων πρωτεϊνικών κινασών MAPKs (mitogen-activated protein kinases). Η ενεργοποιούμενη από εξωκυττάριο υποδοχέα- κινάση ERK (extracellular receptor- activated kinase), η c-Jun N-terminal κινάση (JNK) και η β 3 που παράγονται είναι απαραίτητες στην ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων.



Εικ.5 Η οδός της καλσινευρίνης. Η φωσφολιπάση C (PLC γ 1) διασπά την 4,5 διφωσφορική ινοσιτόλη (IP2) σε 1,4,5-τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3) και DAG (διακυλογλυκερόλη). Η IP3 μέσω υποδοχέα (IP3R) αυξάνει το κυτταροπλασματικό ασβέστιο, το οποίο προσδένεται στην καλμοδουλίλη, ενεργοποιώντας στη συνέχεια την καλσινευρίνη. Η καλσινευρίνη είναι μια φωσφατάση απαραίτητη για την ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων. Η DAG μέσω της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) εμπλέκεται και αυτή στην ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων.



Εικ.6 Ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων. Οι διάφοροι οδοί σηματοδότησης οδηγούν στην ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων με κυριότερους τον πυρηνικό παράγοντα ενεργοποιημένων T κυττάρων NFAT, την πρωτεΐνη ενεργοποίησης-1, AP-1) και τον πυρηνικό παράγοντα NF-κB. Η AP-1 αποτελείται από τις πρωτεΐνες fos (που διεγείρεται από την ERK-εξαρτώμενη πρωτεΐνη ELK) και Jun (που ενεργοποιείται από την JNK). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο NF-κB, που σε ανενεργή μορφή είναι συνδεδεμένος με τους αναστολείς του (IκBs). Στο διεγερμένο T κύτταρο οι αναστολείς φωσφορυλιώνονται από ειδική κινάση οπότε ο NFκB απελευθερώνεται από τον αποδομημένο πια αναστολέα του. Οι μεταγραφικοί παράγοντες αυνεργάζονται για την ενεργοποίηση γονιδίων και οι οδοί που φρονιται στην εικόνα παρουσιάζουν μεταξύ τους σημαντική αλληλεπικάλυψη. P φωσφορικές ομάδες.

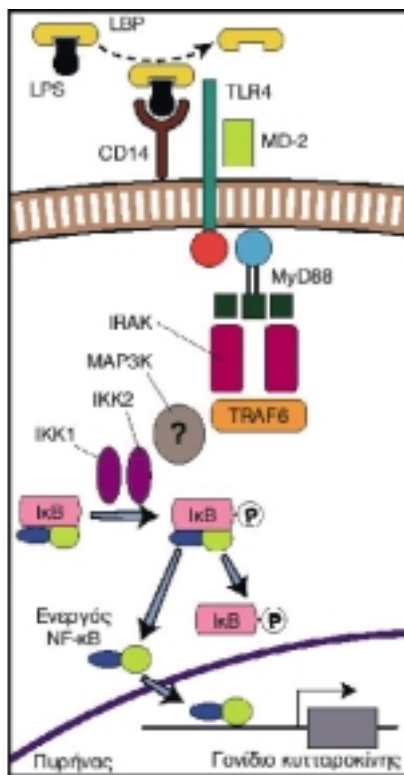
νικής Ig με το αντιγόνο, οι τυροσίνες των ITAMs φωσφορυλιώνονται μέσω πρωτεϊνικών τυροσινοκινάσων (Lyn, Blk, Fyn). Η τυροσινοκίνηση Syk (αντίστοιχη της ZAP-70 κινάσης στα T κύτταρα) προσδένεται στις Igα και Igβ και ενεργοποιεί σηματοδοτικά μόρια που πυροδοτούν τις οδούς της καλσιευρίνης, του Ras κλπ. Αυτοί οι ενζυμικοί καταρράκτες τελικά ενεργοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες (Fos, JunB, NF-κB, Μyc).

2. Διέγερση μέσω πρωτεϊνών του συμπληρώματος

Το δεύτερο σήμα που απαιτείται για τη διέγερση των B κυττάρων παράγεται από τις πρωτεΐνες του συμπληρώματος. Το μόριο CR2 (complement receptor type 2 ή CR2) είναι ο υποδοχέας της πρωτεΐνης του συμπληρώματος Cd3. Το σύμπλοκο των Cd3-αντιγόνου προσδένεται στα B κύτταρα, με τον CR2 να αναγνωρίζει την προσδεσμένη Cd3 και την μεμβρανική Ig να αναγνωρίζει το αντιγόνο. Ο CR2 εκφράζεται στα ώριμα B κύτταρα συνδεδεμένος και με άλλες μεμβρανικές πρωτεΐνες, σχηματίζοντας το σύμπλεγμα συνυποδοχέα του B κυττάρου, επειδή ο CR2 προσδένεται στην Cd3 την ίδια στιγμή που η μεμβρανική Ig προσδένεται απευθείας στο αντιγόνο, ενισχύοντας τη σηματοδότηση.

3. Διέγερση μέσω βοηθών T κυττάρων

Τα βοηθητικά T λεμφοκύτταρα εκφράζουν στην επιφάνειά τους το μόριο CD40L που προσδένεται στον υποδοχέα του B κυττάρου, CD40. Η πρόσδεσή αυτή οδηγεί σε ολιγομερισμό των μορίων του CD40 και αυτό επάγει την σύνδεση πρωτεϊνών στις κυτταροπλασματικές περιοχές του CD40. Οι πρωτεΐνες αυτές (TNF receptor-associated factors) πυροδοτούν ενζυμικούς καταρράκτες, που οδηγούν σε ενεργοποίηση και μετάθεση στον πυρήνα μεταγραφικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των NF-κB και AP-1. Τα διεγερμένα T λεμφοκύτταρα εκκρίνουν, επίσης, κυτταροκίνες που συνεργούν με το CD40L για να διεγείρουν τα B λεμφοκύτταρα. Ο ρόλος των κυτταροκινών στην χυμική ανοσία είναι διπλός. Αφενός μεν ενισχύουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των B κυττάρων αφεντέρου δε καθορίζουν τον τύπο του αντισώματος που παράγεται.



Εικ.7 Οδός σηματοδότησης μέσω Toll-like υποδοχέα
Η πρόσδεση του λιποπυλυσακχαρίτη LPS στον υποδοχέα του CD14, επάγει τη σύνδεση του Toll like υποδοχέα TLR4-MD2 συμπλέγματος. Ο TLR4 στρατολογεί την προσαρμοστική πρωτεΐνη MyD88, που είναι συνδεδεμένη με την κινάση IRAK. Η IRAK φωσφορυλιώνει την προσαρμοστική πρωτεΐνη TRAF-6 που θεωρείται ότι ενεργοποιεί την μιτογόνο-ενεργοποιημένη πρωτεϊνική κινάση MAP3K. Η MAP3K οδηγεί στη ενεργοποίηση κινάσων των αναστολέων του NF-κB, (IKK1 και IKK2). Οι κινάσες αυτές φωσφορυλιώνουν τον αναστολέα του NF-κB, IκB δηλαδή τον αποδομούν και αποδεσμεύουν τον NF-κB. Ο ελεύθερος NF-κB μεταφέρεται στον πυρήνα και επάγει την μεταγραφική επαγωγή γονιδίων που ενέχονται στις ανοσολογικές και φλεγμονώδεις απαντήσεις. LBP, LPS -προσδεσμούσα πρωτεΐνη

III. ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ

A. Τρόποι διεγέρσεως μακροφάγων

1. Διέγερση μέσω Toll-like υποδοχέων

Οι υποδοχείς που προσομοιάζουν με Toll (Toll-like receptors) ή TLRs είναι οι κύριοι "αισθητήρες" του συστήματος της μη ειδικής ανοσίας. Η αναγνώρισή τους ήταν το τελικό αποτέλεσμα τριών αιώνων έρευνας για την προέλευση της σήψης και ειδικότερα για το μηχανισμό απάντησης στη βακτηριακή ενδοτοξίνη, ή λιποπυλυσακχαρίτη (LPS) που βρίσκεται στην επιφάνεια των Gram- αρνητικών βακτηρίων. Η πρώτη σημαντική ανακάλυψη για τους TLRs έγινε μόλις το 1965, και επρόκειτο για τα στελέχη C3H/HeJ ποντικών που δεν αναγνώριζαν τον LPS. Το 1998 ο επίτοπος του γονιδίου "Ips" που φερόταν ως υπεύθυνο της μετάλλαξης στα συγκεκριμένα ποντίκια κλωνοποιήθηκε και βρέθηκε να προκαλεί μετάλλαξη στην πρωτεΐνη TLR4. Ο πρώτος υποδοχέας της οικογένειας Toll είχε αναγνωριστεί στη *Drosophila*, με ρόλο στην ανάπτυξη του εμβρύου της. Ανάλυση του γονιδίου της έδειξε ομοιότητα του υποδοχέα Toll με τον υποδοχέα της IL-2 των θηλαστικών (Toll/IL-1 ή TIR motif) ενώ παράλληλα φάνηκε ότι και οι δυο υποδοχείς επάγουν σηματοδοτικές οδούς που ενεργοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες της οικογένειας NF-κB. Στα θηλαστικά έχουν αναγνωριστεί 10 υποδοχείς ομόλογοι των υποδοχέων της *Drosophila*. Οι περισσότεροι -αν όχι όλοι- θεωρείται ότι δρουν ως υποδοχείς στην αναγνώριση παθογόνο-συνδεδεμένων μοριακών μοτίβων

Εκτός από τον LPS-TLR4 μελέτες εξάλειψης γονιδίων αποκάλυψαν ότι μεταλλάξεις στον TLR2 διακόπτουν την απάντηση στην πεπτιδογλυκάνη και σε βακτηριδιακά λιποπεπτιδία. Οι TLR1 και TLR6 συνδέονται με τον TLR2 σε σύμπλεγμα, επηρεάζοντας την ειδικότητα της απάντησης. Παρόμοιες δράσεις έχουν βρεθεί και για άλλα μέλη της οικογένειας TLRs. Προς το παρόν δεν έχουν διευκρινιστεί απόλυτα οι ρόλοι των TLR3, TLR7 και TLR8.

2. Διέγερση μέσω ιντερφερόνης-γ

Η ιντερφερόνη-γ που εκκρίνεται από NK κύτταρα διεγείρει τα μακροφάγα ώστε τα τελευταία να θανατώσουν τα φαγοκυτταρωμένα μικρόβια. Η ιντερφερόνη-γ ενεργοποιεί τους μεταγραφικούς παράγοντες STAT1 και IRF-1 (INF response factor-1), οι οποίοι συνεργάζονται με τους μεταγραφικούς παράγοντες NF-κB και AP-1 στην επαγωγή νέων γονιδίων.

B. Οδοί μετάδοσης σημάτων

1. Οδός σηματοδότησης μέσω TLR4

Ο LPS καταρχήν συνδέεται με την LPS-προσδένουσα πρωτεΐνη του πλάσματος, LBP (LPS-binding protein) μέσω της οποίας μεταφέρεται στον LPS-υποδοχέα που εντοπίζεται στην επιφάνεια των μακροφάγων (CD14), όπως φαίνεται στην εικ.7. Η πρόσδεση του LPS στον CD14 πιθανόν οδηγεί στη σύνδεση και του συμπλέγματος TLR4-MD2 και επάγει το διμερισμό του TLR4. Ο ενεργοποιημένος TLR4 στρατολογεί την προσαρμοστική πρωτεΐνη MyD88, που είναι συνδεδεμένη με την κινάση IRAK (Interleukin-1 receptor associated kinase). Η IRAK φωσφορυλιώνει την προσαρμοστική πρωτεΐνη TRAF-6 (tumor necrosis factor-associated factor-6) που θεωρείται ότι ενεργοποιεί την μιτογόνο-ενεργοποιούμενη πρωτεϊνική κινάση MAPK3K. Η MAPK3K άμεσα ή έμμεσα οδηγεί στην ενεργοποίηση κινασών των αναστολέων του NF-κB, (IKK1 και IKK2). Με τη σειρά τους οι κινάσες αυτές φωσφορυλιώνουν τον αναστολέα του NF-κB, IκB δηλαδή τον αποδορούν και αποδεσμεύουν τον NF-κB. Ο ελεύθερος NF-κB μεταφέρεται στον πυρήνα και επάγει την μεταγραφική επαγωγή γονιδίων που ενέχονται στις ανοσολογικές και φλεγμονώδεις απαντήσεις. Η υπόθεση ότι μέλη της μιτογόνο-ενεργοποιούμενης κινάσης MAP3K, συνδέουν τον TRAF-6 με το σύμπλεγμα κινασών των αναστολέων του NF-κB, αμφισβητείται από ορισμένους συγγραφείς. Προτείνεται ότι ο TRAF-6 συνδέεται με την ομπικουϊτίνη και μαζί με συμπαραγοντες μεσολαβούν για τη "συναρμολόγηση" της ομπικουϊτίνης που είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση των IKK. Οι IKK σε αυτή την περίπτωση αυτοφωσφορυλιώνονται και ενισχύουν την ενεργοποίηση των IKK. Γενικά, δεν είναι ακόμα πλήρως γνωστό πως η οδός των MAPKs ενεργοποιείται από τον LPS.

V. ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΚΑΙ ΝΟΣΟΣ

α. Οι MAPK οδοί σηματοδότησης στις φλεγμονώδεις νόσους.

Είναι γνωστό ότι η διέγερση των λευκοκυττάρων από τις προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες είναι το αποτέλεσμα ενεργοποίησης της MAPK p38. Οι επιδράσεις της MAPK p38 στην στρατολόγηση των λευκοκυττάρων, όπως για παράδειγμα στην προσκόλληση, στη μετανάστευση, στην αποκοκκιοποίηση, τη χημειοταξία κλπ πρόσφατα έχουν αρχίσει να διερευνούνται.

β. Μη ειδική ανοσία και νόσοι

Τόσο η ειδική όσο και η μη ειδική ανοσία εμπλέκονται στις φλεγμονώδεις νόσους. Σε συγκεκριμένα παραδείγματα η μία επικρατεί έναντι της άλλης. Η σήψη, για παράδειγμα, που παράγεται από τον LPS είναι ένα σύνδρομο, στο οποίο εμπλέκεται η φυσική ανοσία. Από την άλλη πλευρά, κλασικά αυτοάνοσα νοσήματα εξαρτώνται από λεμφοκύτταρα. Ένας δεσμός μεταξύ των δύο συστημάτων είναι ο TNF, που αν και ξεκάθαρα είναι προϊόν μικροβιακού ερεθίσματος (οι επιδράσεις του οποίου εμπλέκουν τους TLRs) παράγεται επίσης ως απάντηση σε -ακόμη άγνωστες ενδογενείς οδούς- στη ρευματοειδή αρθρίτιδα και στη νόσο του Crohn.

Πολλά αυτοάνοσα νοσήματα σχετίζονται με "παρεκτρεπόμενες" οδούς σηματοδότησης κυτταρικού θανάτου. Η πρωτεΐνη MyD88 έχει δύο "περιοχές θανάτου" (death domains) με τις οποίες συνδέεται με τον IRAK. Ο LPS όμως είναι γνωστό ότι μπορεί να προκαλέσει κυτταρικό θάνατο υπό κάποιες προϋποθέσεις και είναι πιθανό ότι η MyD88 σηματοδότηση μερικές φορές παρεκτρέπεται στην ενεργοποίηση του καταρράκτη της κασπάσης που οδηγεί τα T κύτταρα σε απόπτωση. Το ερώτημα αν οι TLRs ενέχονται σε ρευματολογικές παθήσεις παραμένει ενώ οι δράσεις των περισσότερων γονιδίων της μη ειδικής ανοσίας είναι άγνωστες. Η κατάσταση αυτή, που αναφέρεται ως "φαινοτυπικό κενό" αποτελεί μια από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στις βιολογικές επιστήμες.

VI.ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΔΙΑΚΟΠΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΣΗΜΑΤΩΝ

A. Γλυκοκορτικοειδή

Οι επιδράσεις των γλυκοκορτικοειδών (Glucocorticoids, GC) μεσολαβούνται κυρίως από ειδικούς υποδοχείς, κυτταροπλασματικές δηλαδή πρωτεΐνες που δρουν ως ορμονικά-ενεργοποιού-

μενοι μεταγραφικοί ρυθμιστές. Οι υποδοχείς των γλυκοκορτικοειδών (Glucocorticoids Receptors, CRs) όταν είναι ανενεργοί είναι προσδεμένοι σε συγκεκριμένες πρωτεΐνες θερμικού στρες (λ.χ. HSP90, HSP70) και σε ανοσοφιλίνες. Με την πρόσδεση των γλυκοκορτικοειδών οι υποδοχείς αποδεσμεύονται από αυτές τις πρωτεΐνες και μεταφέρονται στον πυρήνα όπου συνδέονται με περιοχές του DNA που ονομάζονται στοιχεία απάντησης στα γλυκοκορτικοειδή (glucocorticoid responsive elements, GRE) με θετικές και αρνητικές επιδράσεις ενεργοποίησης. Εναλλακτικά, οι GRs μέσω πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων μπορούν να επηρεάσουν τη λειτουργία μεταγραφικών παραγόντων όπως οι AP-1, NF-κB, και STATs. Η επαγωγή της μεταγραφής του αναστολέα του NF-κB (IκBα) από το GR και η έμμεση αναστολή των NF-κB -εξαρτώμενων γονιδίων προφλεγμονωδών παραγόντων είναι ένας ακόμη μηχανισμός δράσης. Τέλος, οι GRs μπορούν να δράσουν μετα-μεταγραφικά και να οδηγήσουν σε μειωμένη ή αυξημένη σταθερότητα του αγγελιοφόρου mRNA των γονιδίων των κυτταροκινών. Παράλληλα με τις επιδράσεις τους στη μεταγραφή του γονιδιώματος -οι οποίες εξαρτώνται από νέα πρωτεϊνοσύνθεση και γι' αυτό εμφανίζονται με καθυστέρηση περίπου 30 λεπτών-, τα γλυκοκορτικοειδή μπορούν να δράσουν και ανεξάρτητα από τους υποδοχείς τους.

Οι ανοσοκατασταλτικές ιδιότητες των κορτικοστεροειδών αφορούν κυρίως την κυτταρική και λιγότερο την χυμική ανοσία και είναι πιο εμφανείς σε ενδιάμεσες και υψηλές δόσεις κορτικοστεροειδών. Η ανοσοκαταστολή που προκαλούν τα γλυκοκορτικοειδή προκαλείται από αναστολή της ενεργοποίησης των T κυττάρων σε διάφορα στάδια, που περιλαμβάνουν τα πρώιμα γεγονότα τυροσινικής φωσφορυλίωσης, την ενεργοποίηση της ασβέστιο/καλμοδουλίνη-εξαρτώμενης πρωτεϊνικής κινάσης II (CaM-kinase II) και τις εξαρτώμενες από την καλσινευρίνη οδούς. Τα κορτικοστεροειδή αναστέλλουν την σύνθεση της IL-2 αλλά και τη σηματοδότηση από αυτή. Η μείωση της έκφρασης των LFA-1, CD-2, CD40L προκαλεί επιπρόσθετη δυσλειτουργία των T κυττάρων. Επίσης, τα γλυκοκορτικοειδή επηρεάζουν τη λειτουργία των T κυττάρων έμμεσα με αναστολή έκφρασης των MHC II και CD80 στα αντιγόνοπαρουσιαστικά κύτταρα. Ακόμα, αναστέλλουν την IL-12 (δηλαδή, μια Th-1 προερχόμενη κυτταροκίνη και όχι τις IL-4 και IL-10), δράση που υποδηλώνει το δυναμικό ρόλο τους σε νόσους όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα που χαρακτηρίζονται από επικράτηση Th-1 προερχόμενων κυτταροκινών. Αν και η κλινική τους χρήση έγκειται στην καταστολή της φλεγμονής ένας αυξανόμενος αριθμός μελετών προσδίδει "παραδόξως" σε αυτές τις ουσίες, ενισχυτικές ανοσολογικές δράσεις.

B. Ειδικό αναστολέας της p38 MAPK

Η ενεργοποίηση του καταρράκτη των κυτταροκινών με αυξημένη παραγωγή του TNF και της IL-1 είναι ένα βασικό γεγονός στη φλεγμονώδη διαδικασία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας γι' αυτό οι MAPKs έχουν γίνει σημαντικοί στόχοι της ανάπτυξης φαρμάκων. Οι πιριδιλιμιδαζόλες αναστέλλουν τόσο την p38α όσο και την p38β. Η p38α είναι η κύρια p38 που εκφράζεται στα ανθρώπινα μακροφάγα, ουδετερόφιλα, CD4+ και ενδοθηλιακά κύτταρα, υποδηλώνοντας ότι οι αναστολείς με την μεγαλύτερη εκλεκτικότητα για την p38α μπορεί να έχουν σημαντικό κλινικό όφελος. Ο SB-281832 είναι ένας ισχυρός εκλεκτικός αναστολέας της p38α. Πειραματικά αποτελέσματα δείχνουν ότι μπορεί να προχωρήσει σε κλινικές μελέτες ώστε να διευκρινιστεί αν είναι ασφαλές και καλά ανεκτό από τον ανθρώπινο οργανισμό. Η δικυκλική πιριδιλιμιδαζόλη SKF 86002 ήταν η πρώτη που αναφέρθηκε να αναστέλλει την LPS- διεγερόμενη παραγωγή κυτταροκινών Στη συνέχεια παρασκευάστηκε μια σειρά από πιριδιλιμιδαζόλες ενώσεις, με πρωτότυπο το SB203580. Άλλοι αναστολείς της p38 που βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές είναι ο VX-745 και ο HEP 689 Ο VX-745 είναι στη φάση II κλινικών δοκιμών για τη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Ισχυρή τοπική αντιφλεγμονώδη δράση έχει δείχθει για το HEP689 και η ουσία αυτή μελετάται κλινικά ως τοπικός θεραπευτικός παράγοντας για την ψωρίαση. Οι πιριδιλιμιδαζόλες έχουν ισχυρή ανασταλτική δράση στην παραγωγή κυτταροκινών in vitro και in vivo, συμπεριλαμβανομένης αντιφλεγμονώδους δράσης σε ποικιλία ζωικών μοντέλων. In vivo μελέτες έδειξαν ότι μπορεί να έχουν χρήση στη θεραπεία διαφόρων φλεγμονωδών καταστάσεων όπως είναι η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η ψωρίαση, φλεγμονώδεις νόσοι των αεραγωγών και άλλες.

Γ. Ανοσοκατασταλτικά που προσδένονται στις ανοσοφιλίνες

Μια άλλη κατηγορία ανοσοκατασταλτικών δρουν μέσω πρόσδεσης στις ανοσοφιλίνες, μια οικογένεια πρωτεϊνών με κοινές ενζυματικές και φαρμακολογικές ιδιότητες, που φαίνεται να συμμετέχουν στη αναδίπλωση πρωτεϊνών. Οι ανοσοφιλίνες διακρίνονται στις κυκλοφιλίνες, που προσδέονται εκλεκτικά την κυκλοσπορίνη A και στις FK-506-δεσμεύουσες πρωτεΐνες (FK-506 binding proteins ή FKBP) που προσδέονται στον FK-506 και τη ραπαμυκίνη. Αν και οι ακριβείς λειτουργίες των ανοσοφιλινών δεν έχουν διευκρινιστεί, έχει διατυπωθεί ότι ενέχονται στην ρύθμιση Ca²⁺-εξαρτώμενων μονοπατιών.

Κυκλοσπορίνη Α (Cyclosporine A, CsA)

Η κυκλοσπορίνη μετά την είσοδό της στα κύτταρα συνδέεται με την κυκλοφιλίνη, δημιουργώντας ένα σύμπλοκο που αναστέλλει τη δραστηριότητα της καλσινευρίνης. Όταν ανασταλλεί η δράση της καλσινευρίνης ως φωσφατάση οι μεταγραφικοί παράγοντες NFAT, AP-1 αλλά και NF-κΒ δεν μεταφέρονται στον πυρήνα για να επάγουν την έκφραση γονιδίων (λ.χ της IL-2). Πρόσφατα, η υπόθεση της αναστολής της καλσινευρίνης έχει αμφισβητηθεί από ορισμένους συγγραφείς και υποστηρίζεται ότι ουσιαστικά η κυκλοσπορίνη αυξάνει την πρόσληψη ασβεστίου από το ενδοπλασματικό δίκτυο και τα μιτοχόνδρια.

Tacrolimus (FK 506)

Ο μηχανισμός δράσης του FK 506 είναι παρόμοιος με αυτόν της CsA. Η διαδικασία ξεκινά με την πρόσδεση του μορίου του FK 506 στην FKBP 12. Ένα σημαντικό εύρημα που ανακοινώθηκε πρόσφατα είναι ότι η FKBP 12 προσδέεται στη ρυθμιστική περιοχή του υποδοχέα IP3R και τον σταθεροποιεί. Όταν η FKBP 12 απομακρύνεται από μέσω του FK 506 ο IP3R απορυθμίζεται. Το σύμπλοκο tacrolimus-FKBP αναστέλλει τελικά τη δράση της καλσινευρίνης. Η αναστολή της καλσινευρίνης εμποδίζει την ασβέστιο-επαγόμενη μετάδοση σημάτων και απενεργοποιεί μεταγραφικούς παράγοντες (NF-AT). Ο FK 506 αναστέλλει την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων *in vitro* 10 έως 100 φορές πιο ισχυρά από την κυκλοσπορίνη Α, πιθανά λόγω υψηλότερης συγγένειας πρόσδεσης στην ανοσοφιλίνη του. Επίσης ο FK 506 καταστέλλει την ενεργοποίηση των Β κυττάρων *in vitro*.

Ραπαμυκίνη (Sirolimus, Rapa, Rapamycin)

Η ραπαμυκίνη έχει παρόμοια δομή με αυτή του FK 506 και συνδέεται με την FKBP25. Η ραπαμυκίνη δεν αναστέλλει την καλσινευρίνη όπως κάνει ο FK506 αλλά δρα σε άλλες πρωτεΐνες στόχους που ονομάζονται "στόχοι της ραπαμυκίνης στα θηλαστικά" ή mTOR (mamalian Targets of Rapamycin). Πρόκειται για πρωτεΐνες οι οποίες σχετίζονται με την μετάβαση του κυττάρου δια της φάσης G1 του κυτταρικού κύκλου. Ο ακριβής πάντως μηχανισμός της αναστολής του κυτταρικού κύκλου μέσω αυτών των πρωτεϊνών δεν είναι γνωστός. Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός της δράσης της ραπαμυκίνης είναι η εκλεκτική αναστολή σύνθεσης ριβοσωμιακών πρωτεϊνών μέσω p70 s6 κίνησης. Η ραπαμυκίνη αναστέλλει επίσης την πρόσδεση μεταγραφικών παραγόντων στον επαγωγέα του πολλαπλασιαζόμενου κυττάρου. Επειδή δεν εμπλέκεται σε πρωμιακά γεγονότα μετά την διέγερση του T κυττάρου η ραπαμυκίνη είναι λιγότερο αποτελεσματικός αναστολέας της σύνθεσης κυτταροκινών από ότι η κυκλοσπορίνη και ο FK506. Ένα χαρακτηριστικό της ραπαμυκίνης είναι ότι αναστέλλει τη σηματοδότηση από παράγοντες ανάπτυξης και σε μη ανοσολογικά κύτταρα, με αντιπολλαπλασιαστική δράση σε ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα, ηπατοκύτταρα και λεία μυϊκά κύτταρα. Μικρή αλληλεπίδραση μεταξύ πρεδνιζολόνης και ραπαμυκίνης έχει παρατηρηθεί ενώ σε *in vitro* και *in vivo* μελέτες σε πειραματόζωα έχει διαπιστωθεί ισχυρή συνεργική δράση με κυκλοσπορίνη. Η ραπαμυκίνη φαίνεται *in vitro* να μην μπορεί να συγχρηνηθεί με τον FK506 αφού και τα δύο φάρμακα χρησιμοποιούν τον ίδιο υποδοχέα αλλά παραδόξως *in vivo* παρατηρείται μεγάλη συνεργική δράση.

Δ. Αναστολείς του NF-κΒ

Η σηματοδοτική οδός του NF-κΒ είναι σημαντικός στόχος για τους αναστολείς του πρωτεοσώματος, μια που η απορύθμισή της χαρακτηρίζει πολλές νεοπλασίες και η ενεργοποίησή της μπορεί να διεγείρει τον πολλαπλασιασμό και/ή να μειώσει την αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας ή της ακτινοθεραπείας. Ο PS-341 είναι ισχυρός και εκλεκτικός υποδοχέας του πρωτεασώματος. Φαίνεται να έχει δράση σε ποικιλία όγκων, μεταξύ άλλων και στο μύελωμα, στον καρκίνο του παγκρέατος και στον καρκίνο του ορθού. Ο PS-341 αποτελεί τον πρώτο από μια κατηγορία παραγόντων με δυναμικά πολύ σημαντικό ρόλο στη θεραπεία νεοπλασμάτων αλλά και σε νόσους που προκαλούνται ή παρουσιάζουν έξαρση από φλεγμονώδεις διαδικασίες, αφού οι μεσολαβητές της φλεγμονής συχνά μπορούν να επηρεαστούν από την πρωτεασώμα-μεσολαβούμενη πρωτεϊνική αποδόμηση.

Η θεραπευτική προσέγγιση του πολλαπλού μυελώματος περιλάμβανε φαρμακευτικές ουσίες όπως τη δεξαμεθαζόνη, τη θαλιδομίδη και τον αναστολέα του πρωτεασώματος PS-341 που αναστέλλουν την δραστηριότητα του NF-κΒ ως μέρος των διαφόρων δράσεων τους. Πρόσφατα η αναστολή του NF-κΒ μελετήθηκε ειδικότερα. Ο παράγοντας SN50, αναστολέας του NF-κΒ, φαίνεται να προκαλεί την απόπτωση των κυττάρων του πολλαπλού μυελώματος (MM) σε κυτταρικές σειρές και σε κύτταρα ασθενών ενώ, παράλληλα τα ευαισθητοποιεί σε TNF-α-επαγόμενη απόπτωση. Επίσης, ο αναστολέας της p38, PD 169316, αν και δεν θανατώνει άμεσα τα

MM κύτταρα, διευκολύνει την αποπτωτική δράση του SN50, υποδηλώνοντας αλληλεπίδραση μεταξύ των οδών p38 και NF- κ B. Ο παράγοντας PS-1145, αναστολέας της I κ B κινάσης όπως και ο αναστολέας του πρωτεασώματος PS-341 εμποδίζουν την ενεργοποίηση του NF- κ B δια της αναστολής και της φωσφορυλίωσης της I κ B αντίστοιχα. Η δεξαμεθαζόνη που ενισχύει την έκφραση της I κ B ενισχύει τη δράση του PS-1145. Επίσης ο PS-1145 εμποδίζει την προστατευτική δράση της IL-6 κατά της αποπτωτικής δράσης της δεξαμεθαζόνης. Αυτές οι μελέτες αναδεικνύουν τον NF- κ B ως σημαντικό στόχο των καινούριων βιολογικών θεραπειών για το πολλαπλό μυέλωμα αλλά και για την εξουδετέρωση πλασματοκυττάρων που παράγουν αυτοαντισώματα καθώς επίσης και τη μείωση της φλεγμονής μέσω του NF- κ B.

E. Αναστολή υποδοχών ιντερλευκινών

Η daclizumab είναι ένας εκλεκτικός αναστολέας του υποδοχέα της IL-2 (IL-2R) σε ενεργοποιημένα T κύτταρα. Πρόκειται για μοριακά κατασκευασμένο ανθρώπινο IG1 μονοκλωνικό αντίσωμα που προσδένεται στον IL-2R. Η daclizumab φαίνεται να μειώνει τη συχνότητα οξείας απόρριψης μοσχεύματος. Σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1, η μεταμόσχευση νησιδίων παγκρέατος μπορεί να οδηγήσει σε απεξάρτησα από ινσουλίνη όταν συνδιαστεί με μη κορτικοστεροειδική ανοσοκατασταλτική θεραπεία (sirolimus, tacrolimus και daclizumab). Η αποτελεσματικότητά της πιθανά σχετίζεται με την εκλεκτική πρόσδεσή στην α -αλυσού του IL-2R που εκφράζεται σχεδόν αποκλειστικά σε ενεργοποιημένα T κύτταρα. Πιθανότατα προσδένεται στα κυκλοφορούντα λεμφοκύτταρα μέσω της α -αλυσού του IL-2R αλλά δεν τα ενεργοποιεί. Τα κύτταρα έτσι δεν έχουν διαθέσιμους υποδοχείς για την IL-2. Επίσης, είναι πιθανό ότι η έκφραση του IL-2R μειώνεται ή αυξάνεται η απελευθέρωση της daclizumab-προσδεμένης α -αλυσού του IL-2R.

ΣΤ. Διάφορα άλλα φάρμακα

Μία από τις πιο συναρπαστικές περιοχές της βιολογικής θεραπείας είναι η αναστολή των συνδεδεμένων μορίων. Κλινικές μελέτες που χρησιμοποιούν αυτή τη προσέγγιση έχουν ξεκινήσει σε PA, ΣΕΛ και άλλες αυτοάνοσες νόσους. Τέλος, σε πειραματικό στάδιο βρίσκονται παράγοντες που αναστέλλουν διάφορα σηματοδοτικά μόρια (ZAP-70, Lck κ.λ.π).

Περίληψη

Η πρόσδεση του αντιγόνου στον αντιγονικό υποδοχέα TCR που ενισχύεται από συνδεδεμένα μόρια και ιντερλευκίνες μεταδίδεται μέσω ποικίλων οδών σηματοδότησης. Οι κυριότερες από αυτές είναι η οδός MAPK κινάσων και η οδός της καλσινευρίνης που οδηγούν σε ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων (NFAT, AP-1, NF- κ B και STAT). Οι μεταγραφικοί παράγοντες συνεργάζονται για την ενεργοποίηση γονιδίων που συμμετέχουν στην ανοσολογική απάντηση. Τα B κύτταρα μπορούν να διεγερθούν μέσω του αντιγόνου υποδοχέα , του Cd3 συστατικού του συμπληρώματος και βοηθών T κυττάρων. Οι σημαντικότερες οδοί διεγέρσεως των μακροφάγων είναι μέσω Toll-like receptors και των υποδοχών των κυτταροκινών. Τα φλεγμονώδη ρευματικά νοσήματα συνοδεύονται από ενεργοποίηση αυτών των οδών που μπορεί να αποκατασταθεί εν μέρει με τη βοήθεια μιας σειράς φαρμακευτικών ουσιών και βιολογικών παραγόντων.

Επιλεγμένη βιβλιογραφία

1. Abbas AK., Lichtman AH., Pober JS: Cellular and Molecular Immunology, 4th edition, 2000
2. Medzhitov R., Janeway C.: Innate Immunity, N Eng J Med; 343: 338-343, 2001
3. Imler JL., Hoffmann JA.: Toll receptors in innate immunity, Trends Cell Biol; 11:304-310, 2001
4. Kirou KA. , Boumpas DT.: Systemic glyocorticoid therapy In: Dubois Lupus Erythematosus, 2001
5. Herlaar E. and Brown Z: P38 MAPK signaling cascades in inflammatory disease, Mol Med Today; 5: 439-447
6. Lee., Kumar S., Griswold D. et al: Inhibition of p38 MAP kinase as a therapeutic strategy, Immunopharmacology; 47:185-201, 2000
7. Smaili SS, Stellato KA., Burnett P. et al: Cyclosporin A Inhibits Inositol 1,4,5-Trisphosphate-dependent Ca²⁺ Signals by Enhancing Ca²⁺ Uptake into the Endoplasmic Reticulum and Mitochondria, J. Biol. Chem.; 276 :23329-23340, 2001
8. Gummert JF., Ikonen T. , Morris RE. : Newer Immunosuppressive Drugs: A Review, J Am Soc Nephrol 10: 1366-1380, 1999
9. Μπερτσιός Γ., Μπούμπας ΔΤ.: Ανοσοκατασταλτικά-ανοσορρυθμιστικά φάρμακα στη Ρευματολογία, Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Ρευματολογίας, Ελληνική Ρευματολογική Εταιρεία, 2001
10. Saunders RN., Metcalfe MS., Nicholson ML: Rapamycin in transplantation: A review of the evidence, Kidney Transplant, 59:3-16, 2001
11. Sharibo J., Lakey J., Ryan E. et al: Islet transplantation in seven patients with type1diabetes mellitus using a glyocorticoid-

free immunosuppressive regimen, *N Eng J Med*, 323:230-8, 2000

12. Hideshima T., Chauhan D, Richardson P.: NF-kappa B as a therapeutic target in multiple myeloma, *J Biol Chem*, 277:16639-47, 2002

13. Mitsiades N., Mitsiades CS, Poulaki V. et al: Biologic Sequelae of nuclear factor-kappaB blockage in multiple myeloma: therapeutic applications, *Blood*, 99:4079-86, 2002

14. Adams J: Development of Proteasome Inhibitor PS-341, *Oncologist* 7:9-16, 2002

15. Vinceti F., Kirkman R., Light S. et al: Interleukin-2 Receptor Blockage with Daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation *N Eng J* 338: 161-5, 2002

16. Beniaminovitz A., Itescu S., Lietz K. et al: Prevention of rejection in cardiac transplantation by blockage of the Interleukine-2 Receptor with a monoclonal antibody,, *N Eng J Med*, 342:613-9, 2000

17. Katz SM, Hong JC, Kahan BC: New Immunosuppressive Agents, *Transplant Proceed*, 32:620-621, 2000.

Πριν περίπου 30 χρόνια, οι Bretscher και Cohn, προκειμένου να εξηγήσουν την ανοσολογική διάκριση του εαυτού από το ξένο (self and non-self), πρότειναν το λεγόμενο μοντέλο των "δύο μηνυμάτων" για την ενεργοποίηση των Τ λεμφοκυττάρων. Αυτό το θεωρητικό μοντέλο αποδείχθηκε ιδιαίτερα χρήσιμο και στην βασική του μορφή παραμένει λειτουργικό. Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό (και όπως ειδικότερα έχει μορφοποιηθεί στην συνέχεια), για την αποτελεσματική ενεργοποίηση τους από τα αντιγόνο-παρουσιαστικά κύτταρα (ΑΠΚ), τα Τ λεμφοκύτταρα χρειάζονται το μήνυμα της αντιγονικής αναγνώρισης (μήνυμα-1) μαζί με πρόσθετα μηνύματα (που συλλογικά καλούνται "μήνυμα-2" ή συνενεργοποιητικά μηνύματα). Όταν λείπει το μήνυμα-2, τα Τ λεμφοκύτταρα δεν αποκρίνονται αποτελεσματικά και εισέρχονται σε μια κατάσταση λειτουργικής απευαισθητοποίησης που λέγεται "ανέργεια". Το μήνυμα-1 προκύπτει από τη σύνδεση του αντιγονοειδικού Τ-κυτταρικού υποδοχέα (T cell antigen receptor) με το σύμπλεγμα του ΜHC και του αντιγονικού πεπτιδίου, και είναι υπεύθυνο για την ειδικότητα της ανοσολογικής απόκρισης. Το μήνυμα-2 δεν είναι ειδικό – αλλά δρα ενισχυτικά και παρέχεται από την αλληλεπίδραση των λεγόμενων "συνενεργοποιητικών μορίων" στην επιφάνεια των Τ κυττάρων και των ΑΠΚ (συνενεργοποιητικοί υποδοχείς και συνδέτες, costimulatory receptors and ligands). Τέτοιες συνθήκες συνενεργοποίησης παρέχονται τυπικά από εξειδικευμένα κύτταρα, όπως τα δενδριτικά κύτταρα, τα μακροφάγα και τα ενεργοποιημένα Β λεμφοκύτταρα. Πιστεύεται ότι η ικανότητα αυτών των κλασικών ΑΠΚ να επάγουν πρωτογενείς Τ κυτταρικές αποκρίσεις σχετίζεται, μεταξύ άλλων, και με την ικανότητά τους να εκφράζουν λειτουργικά συνενεργοποιητικά μόρια. Η συνενεργοποίηση έχει ιδιαίτερο θεραπευτικό ενδιαφέρον για καταστάσεις με ανεπιθύμητες ανοσολογικές αντιδράσεις, όπως οι μεταμοσχεύσεις και τα αυτοάνοσα νοσήματα, αφού η τροποποίηση των συνενεργοποιητικών μηνυμάτων είναι πιθανό να προσφέρει ένα πρόσφορο τρόπο για την αποδυνάμωση ή και την διακοπή των ανοσολογικών αποκρίσεων.

Οικογένειες συνενεργοποιητικών μορίων και συνενεργοποιητικές οδοί

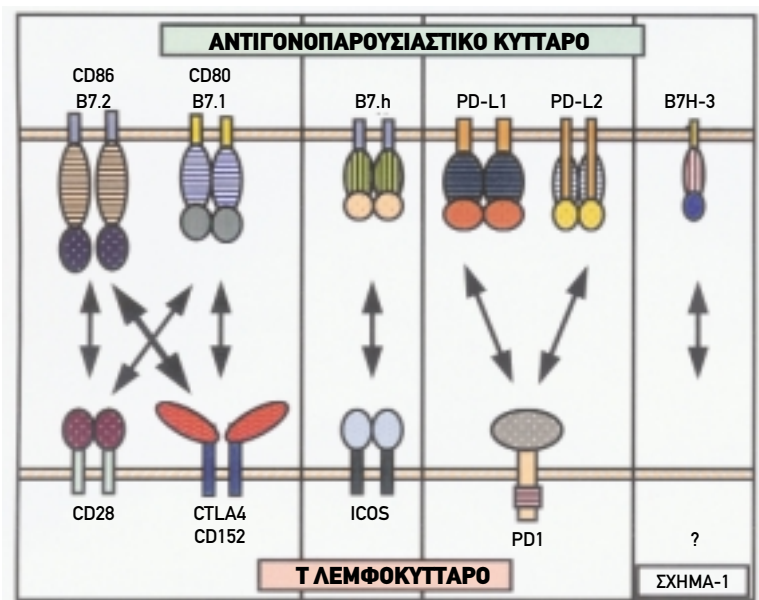
Δομικά, τα συνενεργοποιητικά μόρια κατατάσσονται σε δύο διακριτές οικογένειες: α) την οικογένεια CD28-B7 και β) την οικογένεια του παράγοντα νεκρώσεως όγκων και του υποδοχέα αυτού (tumor necrosis factor/tumor necrosis factor receptor, TNF-TNFR). Κάθε οικογένεια περιλαμβάνει πολλαπλά ζεύγη συνενεργοποιητικών μορίων (αλλά και μόρια που κατά τα φαινόμενα δεν έχουν συνενεργοποιητική λειτουργία) τα οποία τυπικά εκφράζονται από την μια πλευρά στα Τ κύτταρα και από την άλλη στα ΑΠΚ. Τα ζεύγη αυτά θεωρούνται ότι λειτουργούν ως υποδοχείς και συνδέτες σε διακριτές «συνενεργοποιητικές οδούς». Ωστόσο, όπως και σε άλλα συστήματα μεταγωγής βιολογικής πληροφορίας, η σχηματοποίηση τους ως μεμονωμένες βιολογικές οδούς υπαγορεύεται περισσότερο από την ανάγκη κατανόησης και διδακτικής παρουσίας παρά ανταποκρίνεται στην αλήθεια. Κατ' ουσία, η κάθε συνενεργοποιητική οδός βρίσκεται σε δυναμική αλληλεπίδραση με ποικίλες άλλες που συμμετέχουν στην ρύθμιση των Τ και Β λεμφοκυττάρων και των ΑΠΚ, έτσι ώστε να εμφανίζονται περισσότερο σαν τμήματα ενός δικτύου βιολογικών μονοπατιών που δρουν συντονισμένα, παρά ως απομονωμένα συστήματα. Σήμερα πιστεύεται ότι η συνενεργοποίηση των Τ λεμφοκυττάρων περιλαμβάνει ποικίλα μόρια επιφανείας των οποίων η διέγερση επάγει την ενεργοποίηση (ή προάγει την επιβίωση) των Τ λεμφοκυττάρων είτε άμεσα, είτε έμμεσα μέσω της δευτερογενούς επαγωγής άλλων συνενεργοποιητικών μορίων στα ίδια τα Τ λεμφοκύτταρα ή στα ΑΠΚ.

Η οικογένεια CD28-B7

Η οικογένεια CD28-B7 περιλαμβάνει τρία κυρίως ζεύγη υποδοχέων-συνδετών με παρόμοια δομή μεταξύ τους (που θα ονομάσουμε συλλογικά: CD28-υποδοχείς και B7-συνδέτες, από τα κύρια μόρια-εκπρόσωπους). Ένα τέταρτο ζεύγος που πιθανά αναλογεί σε ένα μόριο που μοιάζει με μόριο-συνδέτης B7 έχει επίσης αποκαλυφθεί, ωστόσο δεν είναι γνωστό ακόμη το μόριο-υποδοχέας στο οποίο αντιστοιχεί (Πίνακας-1 και Σχήμα 1).

Τα μόρια της ομάδας των CD28-υποδοχέων αποτελούνται από ένα σφαιροειδές τμήμα πρόσδεσης προσομοιάζον στην IgV περιοχή του μορίου των ανοσοσφαιρινών (IgV-like domain) και

Πίνακας 1. Η οικογένεια συνενεργοποιητικών μορίων CD28 – B7	
Υποδοχείς (T κύτταρο)	Συνδέτες (Αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο)
CD28	CD80 (B7.1)
CD152 (CTLA4)	CD86 (B7.2)
ICOS	B7h (B7RP-1, B7H-2, LICOS, GL50)
PD1	PD-L1 PD-L2
?	B7H-3



ΣΧΗΜΑ-1. Τα μόρια της οικογένειας CD28/B7

από ένα στέλεχος. Σχηματίζουν ομοδιμερή και κωδικογραφούνται στο χρωμόσωμα 2q33 (όλα εκτός του PD1). Στην κυτταρική μεμβράνη των ΑΠΚ, τα μόρια της ομάδας των B7-συνδέτων εμφανίζουν δύο σφαιροειδή τμήματα, ένα άπω που προσομοιάζει στην περιοχή IgV των ανοσοσφαιρινών (IgV-like domain, τμήμα πρόσδεσης) και ένα επί τα εγγύς, που προσομοιάζει στην περιοχή IgC (IgC-like domain). Και αυτά φαίνεται ότι σχηματίζουν ομοδιμερή και κωδικογραφούνται στο χρωμόσωμα 2q23.

Όπως συμπεραίνεται από την κρυσταλλογραφική μελέτη τους, τα άπω σφαιροειδή τμήματα των μορίων CD28 και B7 εκτείνονται κάθετα προς την κυτταρική επιφάνεια, ενώ το αντίστοιχο του CD152(CTLA4) φαίνεται ότι στρέφεται παράλληλα με την κυτταρική επιφάνεια. Με βάση αυτή την μοριακή δομή, τον σχηματισμό ομοδιμερών καθώς και τρισδιάστατα μοντέλα προβλέψεως της διαμοριακής σύνδεσης τους, πιστεύεται ότι τα μόρια αυτά στην μεταξύ τους σύνδεση σχηματίζουν ένα εκτεταμένο δομικό σύμπλεγμα που καλύπτει την σύναψη μεταξύ του ΑΠΚ και T κυττάρου.

Η ομάδα μορίων CD28/ B7: η πρότυπη συνενεργοποιητική οδός

Η συνενεργοποιητική οδός των μορίων CD28/B7 συνιστά την πιο καλά μελετημένη και πρότυπη συνενεργοποιητική οδό. Η δράση του υποδοχέα CD28 είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση των παρθένων T κυττάρων, πράγμα που γίνεται ιδιαίτερα εμφανές στα πλαίσια της αλληλεπίδρασης των κυττάρων αυτών με τα B λεμφοκύτταρα. Έτσι, τα CD28-ελλειμματικά ποντίκια, (CD28-deficient, δηλαδή ποντίκια τα οποία έχουν υποστεί τεχνητή αχρήστευση του γονιδίου)

παρουσιάζουν λειτουργική διαταραχή των Τ-εξαρτημένων Β λεμφοκυτταρικών αποκρίσεων, ενώ η γένεση των CD8 κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων παραμένουν άθικτες. Η διασταύρωση των ποντικών αυτών με πρότυπες σειρές ποντικών τα οποία προδιατίθενται για αυτοάνοσα νοσήματα, συνήθως έχει σαν αποτέλεσμα ηπιότερη νόσο (αλλά όχι πάντα, βλ. πιο κάτω). Τα Τ κύτταρα μνήμης δεν χρειάζονται το μόριο CD28 για την επανενεργοποίησή τους, και έτσι πιστεύεται ότι γενικά δεν απαιτούν συνενεργοποιητικά μηνύματα.

Ένα γενικό χαρακτηριστικό της συνενεργοποιητικής οδού CD28 είναι ότι είναι αυτοενισχυόμενη και αυτοπεριοριζόμενη. Το μόριο CD28 εμφανίζει συντεταγμένη έκφραση (constitutive expression) στα ήρεμα παρθένα Τ λεμφοκύτταρα, ενώ το μόριο συνδέτης του CD86(B7.2) παρουσιάζει επίσης χαμηλή συντεταγμένη έκφραση στα ΑΠΚ. Η αλληλεπίδραση των δύο αυτών μεμβρανικών στοιχείων λαμβάνει χώρα με την γειννίαση των μεμβρανών (δημιουργία «σύνσπης»). Το συνενεργοποιητικό μήνυμα προωθεί περαιτέρω την κυτταρική ενεργοποίηση. Η όλη διεργασία αυτοενισχύεται, αφού τα μόρια CD28 και CD86 αυξάνουν την έκφραση τους κατά τις πρώτες ώρες της αλληλεπίδρασης, ενώ παράλληλα τα σήματα ενισχύονται επιπλέον με την συνεργιστική δράση της οδού CD40/CD40L (βλέπε στην συνέχεια). Στην συνέχεια, μετά από 2 ημέρες, δύο νέα μόρια εμφανίζονται: το CTLA4 (CD152) στα Τ λεμφοκύτταρα και το CD80(B7.1) στα ΑΠΚ. Η μεταξύ τους συγγένεια είναι ιδιαίτερα υψηλή, ενώ το CD80 έχει ικανότητα σύνδεσης και με το CD28. Ωστόσο, κατά το διάστημα αυτό, η κύρια αλληλεπίδραση γίνεται μεταξύ των CTLA4 και CD80 που μεταδίδει ένα ισχυρό κατασταλτικό μήνυμα στο Τ λεμφοκύτταρο, με επόμενο την απενεργοποίησή του. Είναι ενδιαφέρον ότι το CTLA4, προκειμένου να εκφραστεί, χρειάζεται την συνενεργοποιητική επίδραση του CD28, αλλά στην συνέχεια η δράση του συνίσταται στο να εμποδίζει τις δραστηριότητες που επάγει το CD28. Έτσι, το CTLA4 μεταδίδει ενδοκυττάρια μηνύματα που διακόπτουν την παραγωγή της IL-2, την έκφραση των υποδοχέων της IL-2 και την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου. Τα CTLA4-ελλειμματικά ποντίκια παρουσιάζουν έντονες πολυκλωνικές αποκρίσεις με αδιάπτωτο πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων που τα οδηγεί στον θάνατο σε νεαρή ηλικία. Τα λεμφοειδή όργανα των ποντικών αυτών χαρακτηρίζονται από έντονη υπερπλασία που αποτελείται από ενεργοποιημένα Τ κύτταρα που φέρουν φαινοτυπικά χαρακτηριστικά κυττάρων μνήμης.

Η συνενεργοποιητική οδός του CD28 είναι κατά κύριο λόγο η βασική οδός για την επαγωγή των πρωτογενών ανοσολογικών αποκρίσεων. Δεν είναι ακόμα σαφές εάν και κατά πόσο η οδός αυτή συμμετέχει στην επιλογή μεταξύ των αποκρίσεων των Τ-βοηθητικών κυττάρων τύπου TH1 και τύπου TH2. Ωστόσο, οι επιδράσεις της φαίνεται ότι συμπεριλαμβάνουν ένα σημαντικό ευρύτερο φάσμα ανοσολογικών λειτουργιών, όπως η μετανάστευση των ανοσοκυττάρων και η ανοσορύθμιση. Για παράδειγμα έχει δείχθει ότι ο ερεθισμός των μορίων CD28 στα Τ λεμφοκύτταρα οδηγεί στην επαγωγή της έκφρασης ειδικών υποδοχέων χημειοκινών στα κύτταρα αυτά, και με τον τρόπο αυτό τα ενεργοποιημένα κύτταρα "καθοδηγούνται" να μεταναστεύσουν στην κατάλληλη περιοχή του οργανισμού. Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν ενδείξεις ότι η συνενεργοποιητική οδός του CD28 ενέχεται στην ανάπτυξη ανοσοκατασταλτικών υποπληθυσμών κυττάρων (όπως τα CD25+CD4+ κύτταρα), και το γεγονός αυτό πιθανότατα εξηγεί την κατ' αρχήν παράδοση επιδείνωση αυτοάνοσων διεργασιών σε CD28-ελλειμματικά ποντίκια. Τέλος, Επιπλέον, κατά φαινομενικά παράδοξο τρόπο, έχει δείχθει ότι ο υποδοχέας CD28 συμμετέχει στην ενδοκυττάρια μεταβίβαση μηνυμάτων που επάγουν την αρνητική επιλογή στον θύμο, αφού τα CD28-ελλειμματικά ποντίκια παρουσιάζουν αύξηση κατά 50% των θυμοκυττάρων που επιβιώνουν της διαδικασίας αυτής.

Τα μόρια B7.1 και B7.2 εκφράζονται συντεταγμένα στα δενδριτικά κύτταρα και επάγονται στα ενεργοποιημένα μακροφάγα και Β κύτταρα. Ποικίλοι εξωκυττάριοι και ενδοκυττάριοι παράγοντες φαίνεται να ελέγχουν την επαγωγή των μορίων B7. Κυτταροκίνες, όπως η IFN γ , η IL-2, η IL-4 και η IL-7, καθώς και ενδοκυττάρια σήματα που δημιουργούνται από το κυτταροπλασματικό άκρο των μορίων MHC τάξεως II μετά την αλληλεπίδρασή τους με τον TcR, μπορεί να επάγουν ή να αυξάνουν την έκφραση των B7.1 και B7.2, ενώ η IL-10 είναι ανασταλτική. Εκτός από τα κλασσικά ΑΠΚ, επιφανειακή έκφραση των μορίων B7 έχει δείχθει σε ποικίλους τύπους φυσιολογικών κυττάρων ανθρώπου και ζώων, όπως ενεργοποιημένα Τ κύτταρα, επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα, καθώς επίσης και σε διάφορες κακοήθειες κυτταρικές σειρές. Πρωταρχικές μελέτες έχουν υποδείξει την ικανότητα αυτών των μη-κλασσικών ΑΠΚ κυττάρων να παρέχουν συνενεργοποιητικά μηνύματα. Η διασαφήνιση του ακριβούς ρόλου της έκφρασης των μορίων B7 από τα αγγειακά και παρεγχυματικά επιθηλιακά κύτταρα για την επαγωγή πρωτογενών Τ κυτταρικών αποκρίσεων πιθανά να αποβεί χρήσιμη για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας των αυτοάνοσων ασθενειών και των διαδικασιών απόρριψης των μοσχευμάτων καθώς και της ανοσίας των όγκων.

Τα μόρια ICOS / B7h

Η οδός του λεγόμενου επαγώγιμου συνενεργοποιητικού μορίου ICOS (Inducible COStimulator) και του συνδέτη του B7h δραστηριοποιείται 2-4 ημέρες μετά την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων και συμμετέχει στην παραγωγή IL-2 και IL-4, αλλά όχι ιντερφερόνης-γ ή IL-10. Τα παραπάνω μόρια εκφράζονται στα T κύτταρα και στα ΑΠΚ, αντίστοιχα, μετά την ενεργοποίησή τους. Τα ICOS-ελλειμματικά ποντίκια εμφανίζουν διαταραχές στις πρωτογενείς T κυτταρικές αποκρίσεις και στην ισοτυπική στροφή των ανοσοσφαιρινών (immunoglobulin class switch). Δεδομένου ότι η διέγερση της συνενεργοποιητικής οδού CD40 στα ποντίκια αυτά αναπληρώνει σημαντικά τις βλάβες, υποδεικνύει την φυσική συνεργία των οδών ICOS και CD40. Εκτός από τις πρωτογενείς T κυτταρικές αποκρίσεις, η οδός αυτή φαίνεται να συμμετέχει και στην επέκταση των κυττάρων μνήμης και να δρα απ' ευθείας και στην ενεργοποίηση των B λεμφοκυττάρων. Η χορήγηση αντισωμάτων κατά του ICOS (ή διαλυτή πρωτεΐνη ICOS-Ig) μαζί με κυκλοσπορίνη έχουν δείξει σημαντική αποτελεσματικότητα σε πειραματικά πρότυπα αλλομεταμοσχεύσεων.

Τα μόρια PD1 / PDL-1 & PDL-2

Ο υποδοχέας PD1 εκφράζεται σε ενεργοποιημένα T και B κύτταρα. Οι συνδέτες του PD1 είναι τα μόρια PDL-1 και PDL-2 που ανευρίσκονται με συντεταγμένη έκφραση σε ποικίλους επιθηλιακούς ιστούς ακόμη και σε μερικές νεοπλαστικές σειρές, ενώ τα δενδριτικά κύτταρα τα εκφράζουν μόνο μετά την ενεργοποίησή τους. Το μόριο PD1 μοιάζει δομικά με τα μόρια CD28, CTLA4(CD152) και ICOS. Ωστόσο, διαφέρει από αυτά στο ότι το γονίδιο του βρίσκεται σε άλλο χρωμόσωμα (2q37.3) και στο ότι το ενδοκυτταροπλασματικό του στέλεχος περιέχει το λεγόμενο μοτίβο ITIM (αλληλουχία αμινοξέων) που εμφανίζεται σε μόρια με κατασταλτικές ιδιότητες. Αυτό επιβεβαιώθηκε με την τεχνητή αχρήστευση του γονιδίου που δημιούργησε ποντίκια επιρρεπή σε αυτοάνοσα νοσήματα, και μάλιστα σε διαφορετικά νοσήματα, ανάλογα με το γενετικό τους υπόστρωμα. Έτσι, τα PD1-ελλειμματικά C57BL6 ποντίκια εμφανίζουν σύνδρομο λύκου και αρθρίτιδας, ενώ τα PD1-ελλειμματικά BALB/C ποντίκια πάσχουν από διατακτική μυοκαρδιοπάθεια με εναποθέσεις IgG και αυτοαντισώματα. Η διασταύρωση των PD1-γονιδίων ποντικών με διαγονιδιακά ποντίκια που φέρουν αυτοδραστικό T-κυτταρικό υποδοχέα εμφανίζουν σύνδρομο που μοιάζει με την νόσο μוסχέυματος κατά ξενιστή.

Η Οικογένεια TNF / TNFR

Η οικογένεια TNF-TNFR περιλαμβάνει επίσης μια μεγάλη και επεκτεινόμενη ομάδα μορίων υποδοχέων (ομοιοζόντων στους TNFR) και συνδέτων (ομοιοζόντων στον TNF) που έχουν παρόμοια δομή μεταξύ τους. Εκτός από τα μόρια TNF-TNFR, περιλαμβάνονται οι υποδοχείς NGF-NGFR, τα σχετικά με την απόπτωση μόρια Fas και FasL και άλλα. Τόσο, οι υποδοχείς όσο και οι συνδέτες μπορούν να μεταδίδουν ενδοκυττάρια μηνύματα. Γενικά, οι υποδοχείς της οικογένειας αυτής φαίνεται ότι μεταφέρουν μηνύματα που αφορούν είτε την επιβίωση (μέσω διέγερσης του μεταγραφικού παράγοντα NFκB) είτε την επαγωγή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου στα κύτταρα που τους φέρουν. Τα μόρια της οικογένειας TNF-TNFR που κυρίως αφορούν την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Τα μόρια CD40 / CD40L

Τα μόρια CD40/ CD40L συνιστούν ένα από τα πλέον χαρακτηριστικά συνενεργοποιητικά συστήματα της οικογένειας TNF/TNFR. Η πρωτεΐνη CD40 αναγνωρίστηκε αρχικά ως B κυτταρικό αντιγόνο και είναι καλά διαπιστωμένο ότι κατευθύνει την ενεργοποίηση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των B κυττάρων, τα οποία και αποτρέπει από τη διαδικασία της απόπτωσης. Τα τελευταία χρόνια, έκφραση του CD40 (συντεταγμένη ή επαγόμενη από κυτταροκίνες) έχει διαπιστωθεί σε μια ποικιλία κυτταρικών τύπων, τα οποία περιλαμβάνουν λεμφοειδή, επιθηλιακά, ενδοθηλιακά κ.α.

Το CD40L εκφράζεται στην επιφάνεια των παρθένων T κυττάρων μέσα σε λίγες ώρες μετά την ενεργοποίησή τους, μέσω του αντιγονικού υποδοχέα (μήνυμα 1), ενώ η έκφραση του αυξάνεται περαιτέρω κάτω από την επίδραση των μηνυμάτων της συνενεργοποιητικής οδού CD28. Ο ερεθισμός του CD40L από το CD40, με την σειρά του υπερεπάγει το CD28, και αργότερα το ICOS στα T κύτταρα. Από την άλλη πλευρά, στα ΑΠΚ η μετάδοση μηνύματος μέσω του CD40 οδηγεί στην επαγωγή διαφόρων ανοσολογικών αποκρίσεων, όπως έκφραση συνενεργοποιητικών και προσκολλητικών μορίων και παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών. Στο πλαίσιο όλων αυτών των δράσεων, η συνενεργοποιητική οδός του CD40 έχει θεωρηθεί ότι συμμετέχει στην παθογένεια διάφορων χρόνιων φλεγμονωδών νοσημάτων και ως εκ τούτου αντιπροσωπεύει έναν πιθανό στόχο για θεραπευτική ανοσολογική παρέμβαση.

Τα μόρια OX40 / OX40L

Το OX40 εκφράζεται στην επιφάνεια των παρθένων T κυττάρων μέσα σε λίγες ώρες μετά την συνδυασμένη ενεργοποίησή τους, μέσω του αντιγονικού υποδοχέα και του CD28. Ο συνδέτης του OX40, OX40L εκφράζεται αποκλειστικά σε δενδριτικά κύτταρα τα οποία έχουν ενεργοποιηθεί από το CD40L των πρώιμα ενεργοποιημένων παρθένων T κυττάρων. Τα OX40-ελλειμματικά ποντίκια παρουσιάζουν διαταραγμένη πρωτογενή T λεμφοκυτταρική απόκριση, ενώ τα ποντίκια με διαγονιδιακή (μόνιμη) υπερέκφραση OX40 στα δενδριτικά κύτταρα εμφανίζουν συσσώρευση ενεργοποιημένων T κυττάρων μνήμης Εκτός από την επίδραση του στην ενεργοποίηση και πολλαπλασιασμό, ο ερεθισμός του OX40 σε συνεργασία με το CD28, επιφέρει επαγωγή των υποδοχέων χημειοκινών τύπου CXCR5 στα T κύτταρα, γεγονός που τα οδηγεί στα λεμφικά θυλάκια και στον σχηματισμό των βλαστικών κέντρων. Τέλος, είναι πιθανόν η οδός ενεργοποίησης του OX40 να συμμετέχει στην παραγωγή των TH2 κυττάρων, καθώς και στην μετανάστευση των ενεργοποιημένων T κυττάρων μνήμης στους περιφερικούς ιστούς.

Άλλα μόρια της οικογένειας TNF / TNFR

Από τα υπόλοιπα μόρια που ανήκουν στην οικογένεια TNF/TNFR και αφορούν την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων, αξίζει να αναφερθούμε:

α) στο μόριο CD137 (4-1BB) που ανευρίσκεται σε ενεργοποιημένα CD4 και CD8 T κύτταρα, καθώς και σε NK και ορισμένα επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα. Η πρόσδεση του συνδέτη του CD137L (4-1BBL, που εκφράζεται σε δενδριτικά κύτταρα, μακροφάγα και B κύτταρα), κάτω από συνθήκες συνενεργοποίησης, επάγει κυρίως την παραγωγή κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων (ενεργός συμμετοχή στις αποκρίσεις κατά όγκων και στις αντιδράσεις μοσχεύματος κατά ξενιστή), αλλά και την παραγωγή IL-2.

β) στο μόριο-συνδέτης TRANCE (TNF-Related Activation iNduced Cytokine) που εκφράζεται σε ενεργοποιημένα T κύτταρα των λεμφαδένων και αντιδρά ισχυρά και ενεργοποιεί τα δενδριτικά κύτταρα μέσω του μορίου-υποδοχέα RANK (TNF-R-like Activator of NF-κB). Το TRANCE φαίνεται ότι συμμετέχει στις T λεμφοκυτταρικές αποκρίσεις κατά ιών και κατά αλλομοσχευμάτων.

γ) στο μόριο- υποδοχέα CD27 που εκφράζεται σε παρθένα T κύτταρα και σε ώριμα B κύτταρα, ενώ υπερεπάγεται πρώιμα και προσωρινά στα ενεργοποιημένα T κύτταρα. Φαίνεται ότι έχει ρόλο στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ T-B, T-T και B-B λεμφοκυττάρων, αφού ο συνδέτης του CD70, εκφράζεται αποκλειστικά από ενεργοποιημένα T και B κύτταρα. Τα CD27-ελλειμματικά ποντίκια παρουσιάζουν διαταραχή στην έκπτυξη των παρθένων T κυττάρων και στην ανάπτυξη κυτταροτοξικών CD8 κυττάρων μνήμης.

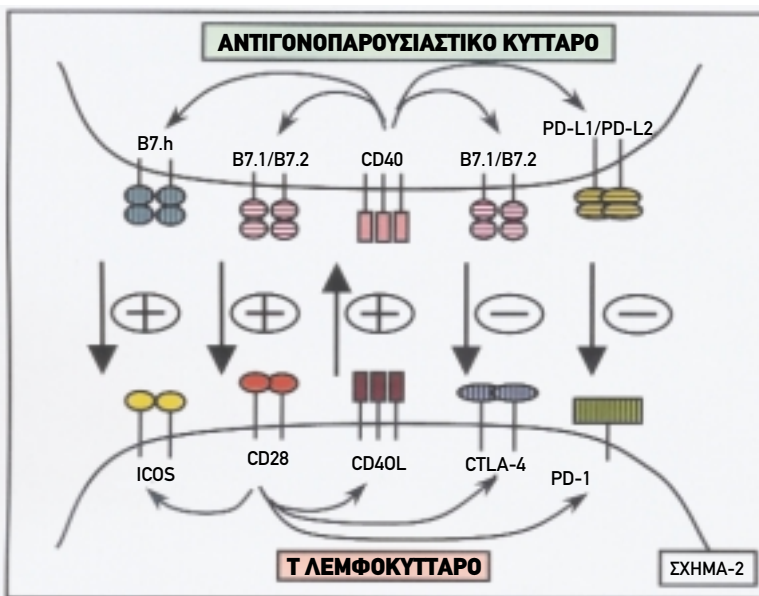
Πίνακας 2. Τα T- συνενεργοποιητικά μόρια της οικογένειας TNF/ TNFR	
Υποδοχείς (ομοιάζοντες στους TNFR)	Συνδέτες (ομοιάζοντες στον TNF)
CD40	CD154 (CD40L)
CD134 (OX40)	CD134L (OX40L)
CD137 (4-1BB)	CD137L (4-1BBL)
RANK	TRANCE
CD27	CD70

Κλινικές μελέτες - Αυτοάνοσα νοσήματα

Οι αυτοάνοσες ασθένειες χαρακτηρίζονται γενικά από B ή/και T κυτταρικές αποκρίσεις έναντι ποικίλων κυτταρικών αυτοαντιγόνων. Αν και στις περισσότερες ασθένειες το εμπλεκόμενο αντιγόνο(α) είναι άγνωστο, οι αυτοδραστικές αποκρίσεις πιστεύεται ότι είναι αντιγονοκαθοδηγούμενες, εξαρτώνται από τα T κύτταρα και περιλαμβάνουν κλασσικούς μηχανισμούς αντιγονικής παρουσίασης και T κυτταρικής ενεργοποίησης. Η έκφραση μάλιστα των συνενεργοποιητικών πρωτεϊνών B7.1 και B7.2 από τα B κύτταρα έχει δείξει ότι είναι κρίσιμη για τη δημιουργία αυτοδραστικών T κυτταρικών αποκρίσεων in vivo. Επιπλέον, ορισμένοι πολυμορφισμοί του γονιδίου CTLA4 έχουν συσχετισθεί με ποικίλα αυτοάνοσα νοσήματα.

Στα συστηματικά αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα, η επίτευξη μιας κατάστασης ειδικής ανο-

σοανοχής (immune tolerance) κατά των εκάστοτε ειδικών αυτοαντιγονικών ιστικών στόχων ίσως να αποτελεί πρόσφορη θεραπευτική επιδίωξη, με την αποφυγή της χρόνιας χορήγησης ανοσοκατασταλτικής θεραπείας. Μια πρακτική προσέγγιση για την επαγωγή μιας τέτοιας αντιγονο-ειδικής ανοσοανοχής για την θεραπεία των αυτοάνοσων ρευματικών νοσημάτων είναι δυνατόν να αποτελεί η παρεμπόδιση της συνενεργοποιητικής λειτουργίας και κατά συνέπεια την πραγματοποίηση λειτουργικής απευαισθητοποίησης. Πιθανότατα, αυτό είναι εφικτό, δεδομένου ότι μελέτες σε πειραματικά ζωικά πρότυπα μεταμοσχεύσεως καθώς και μελέτες *in vitro* έχουν υποδείξει ότι η εμπόδιση των συνενεργοποιητικών μηνυμάτων με κατάλληλα φάρμακα (ειδικά αντισώματα ή διαλυτές ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες, όπως το CTLA4Ig που παρεμβαίνουν στην αλληλεπίδραση των κυτταρικών συνενεργοποιητικών μορίων CD28-B7) οδηγεί σε ειδική T λεμφοκυτταρική ανέργεια καθώς και σε παρατεταμένη ή ακόμα και μόνιμη επιβίωση αλλομοσχευμάτων. Η εξωσωματική επαγωγή αλλοαντιγονο-ειδικής ανέργειας με την χρήση διαλυτής πρωτεΐνης CTLA4-Ig (για την παρεμπόδιση της αλληλεπίδρασης μεταξύ των μορίων CD28-B7) έχει επιτρέψει την μεταμόσχευση ασύμβατου μυελού των οστών σε ανθρώπους. Ωστόσο, στα πειραματόζωα η τεχνητή παρεμπόδιση ή ακύρωση μιας συνενεργοποιητικής οδού συνήθως αποκαλύπτει την αλληλοεπικάλυψη και τον πλεοναστικό (redundant) χαρακτήρα των συνενεργοποιητικών οδών. Μια ενδεχόμενη πρόσφορη προοπτική αποτελεί ο συνδυασμός παρεμπόδισης CD28/B7 με την στόχευση σε άλλα συνενεργοποιητικά μόρια. Για παράδειγμα εφ' όσον η πρόσδεση των μορίων CD40 των ΑΠΚ στα CD40L των ενεργοποιημένων T λεμφοκυττάρων επάγει την έκφραση των μορίων B7 στα ΑΠΚ, είναι αναμενόμενο ότι η ταυτόχρονη παρεμπόδιση των CD28/B7 και CD40L/CD40 θα έχει συνεργιστικό αποτέλεσμα. Στο πλαίσιο αυτό η πρόσφατα αναφερθείσα μακρόχρονη βελτίωση εγκατεστημένης αυτοάνοσης παθολογίας σε αυτοάνοσα διαβητικά ποντίκια με την φαρμακολογική παρεμπόδιση της αλληλεπίδρασης των προσκολλητικών μορίων LFA-1/ICAM1 είναι πολύ ενδιαφέροντα.



ΣΧΗΜΑ-2. Η συνενεργοποίηση περιλαμβάνει ανταποδοτικά και διαδοχικά μηνύματα μεταξύ των ΑΠΚ και των T κυττάρων. Η αλληλεπίδραση ξεκινά με την αντίδραση του αντιγονικού υποδοχέα των T κυττάρων με το σύμπλεγμα MHC-πεπτιδίου (που δεν φαίνεται στην εικόνα). Τα μόρια B7.1/B7.2 έχουν χαμηλή έκφραση στα ΑΠΚ αλλά μέσω του CD28 ενεργοποιούν τα T κύτταρα και επάγουν την έκφραση του CD40L. Αυτό με την σειρά του μέσω του CD40L των ΑΠΚ επάγει την έκφραση των μορίων B7 και ενισχύει την οδό CD28/CD40. Ένα δεύτερο κύμα ενεργοποίησης περιλαμβάνει τα μόρια ICOS/B7h, ενώ ένα τρίτο κύμα επάγει τα μόρια καταστολής των αντιδράσεων CTLA4 και PD-1 (Σχήμα τροποποιηθέν από την δημοσίευση των Frauwirth και Thompson, J Clin Invest. 2002, 109:295).

Έχει δείχθει ότι η χορήγηση CTLA4Ig σε ποντίκια με λύκο (NZB/NZW[F1]) προκάλεσε αναστολή της παραγωγής αυτοαντισωμάτων και βελτίωσε την επιβίωση. Επίσης, σε ποντίκια με βαριά νόσο η συνδυασμένη θεραπεία με κυκλοφωσφαμίδη και CTLA4Ig (αλλά όχι η μονήρης θεραπεία) βελτίωσε την πρωτεϊνουρία κατά 70% και την επιβίωση. Τέλος, η βραχύχρονη συνδυασμένη χορήγηση CTLA4Ig και αντι-CD40L σε ποντίκια NZB/NZW ήταν ικανή να αναχαιτίσει την έναρξη της νόσου, να προκαλέσει μακροχρόνια ύφεση της νεφρικής νόσου, να καταστείλει την παραγωγή των αντι-DNA αντισωμάτων και να παρατείνει την επιβίωση. Ωστόσο, αυτά τα πειραματικά πρωτόκολλα δεν φαίνονται ικανά να επάγουν μόνιμη ανοσοανοχή, γεγονός που πιθανά οφείλεται στην δυσχέρεια τροποποίησης της αυτοάνοσης απόκρισης μνήμης εφ' όσον αυτή έχει εγκαθιδρυθεί. Κατά παρόμοιο τρόπο, σε αρχικές μελέτες ασθενών που έχουν υποβληθεί σε αλλομεταμόσχευση, η χρησιμοποίηση φαρμάκων που παρεμβαίνουν στην συνενεργοποιητική οδό των μορίων B7, αν και επιτυχής ως προς την αποτροπή της απόρριψης μοσχεύματος, δεν έχουν οδηγήσει στην μόνιμη τροποποίηση της ανοσολογικής απόκρισης και στην απαλλαγή από τα φάρμακα.

Κλινικές μελέτες φάσεων I και II με την χρησιμοποίηση ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης CTLA4Ig έχουν διενεργηθεί σε ασθενείς με νόσο μοσχεύματος κατά ξενιστή, ψωρίαση και ρευματοειδή αρθρίτιδα. Σε μια μελέτη του CTLA4Ig φάσεως I (χορήγηση κατά τις ημέρες 1, 3, 16 και 29, σε ποικίλες δόσεις) σε 43 ασθενείς με ψωρίαση, αναφέρθηκε βελτίωση περισσότερο από 50% σε 9 από 11 ασθενείς που έλαβαν τις υψηλές δόσεις (25 και 50mg/kg). Η ύφεση διατηρήθηκε κατά την διάρκεια της 6-μηνιας παρακολούθησης, ωστόσο, οι ασθενείς παρουσίασαν υποτροπή μετά 2 χρόνια. Σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα, η χορήγηση CTLA4Ig ή LEA29Y (τροποποιημένη πρωτεΐνη CTLA4 με αυξημένη προσδετική ικανότητα) έχει ομοίως δείξει ικανοποιητική ασφάλεια και ενθαρρυντική κλινική βελτίωση. Σε προκαταρκτικά πειράματα ορισμένα μονοκλωνικά αντισώματα κατά CD40L έχει συσχετισθεί με αυξημένα θρομβοεμβολικά επεισόδια σε ασθενείς και σε πρωτεύοντα θηλαστικά, με μηχανισμό που πιθανά περιλαμβάνει την έκφραση των μορίων CD40L από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και τα ενδοθήλια. Ωστόσο, ένας άλλος τύπος μονοκλωνικού αντι-CD40L αντισώματος (IDEC-131) φαίνεται ότι είναι ασφαλές. Σε πρόσφατη μελέτη φάσεως I η εφ' άπαξ χορήγηση IDEC-131 σε ασθενείς με συστηματικό ερυθηματώδη λύκο υπέδειξε ικανοποιητική ασφάλεια.

Βιβλιογραφία

1. Azuma, M. et al. B70 antigen is a second ligand for CTLA-4 and CD28. *Nature* 366, 76-79 (1993).
2. Abrams JR, Lebwohl MG, Guzzo CA, et al. CTLA4Ig-mediated blockade of T-cell costimulation in patients with psoriasis vulgaris. *J Clin Invest* 1999 May;103(9):1243-52
3. Careno BM, Collins M. The B7 family of ligands and its receptors: new pathways for costimulation and inhibition of immune responses. *Annu Rev Immunol.* 2002;20:29-53.
4. Davis JC Jr, Todoritis MC, Rosenberg J, Sklenar TA, Wofsy D. Phase I clinical trial of a monoclonal antibody against CD40-ligand (IDEC-131) in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2001 Jan;28(1):95-101
5. Daikh DI, Wofsy D. Treatment of autoimmunity by inhibition of T cell costimulation. *Adv Exp Med Biol.* 2001;490:113-7.
6. Frauwirth KA, Thompson CB. Activation and inhibition of lymphocytes by costimulation. *J Clin Invest.* 2002 Feb;109(3):295-9
7. Freeman, G. J. et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J. Exp. Med.* 192, 1-9 (2000).
8. Freeman, G. J. et al. Cloning of B7-2: a CTLA4 counter-receptor that costimulates human T cell proliferation. *Science* 262, 909-911 (1993).
9. Finck, B K; Linsley, P S; Wofsy, D Treatment of murine lupus with CTLA4Ig. *Science*, 1994, 265:1225-1227
10. Guinan EC, Boussiotis VA, Neuberg D, et al. Transplantation of anergic histoincompatible bone marrow allografts. *N Engl J Med* 1999 Jun 3;340(22):1704-14
11. Grewal, I. S., and R. A. Flavell. 1996. The role of CD40 ligand in costimulation and T-cell activation. *Immunol. Rev.* 153:85
12. Hutloff, A. et al. ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28. *Nature* 397, 263-266 (1999).
13. Klaus, S. J., L. M. Pinchuk, H. D. Ochs, C. L. Law, W. C. Fanslow, R. J. Armitage, and E. A. Clark. 1994. Costimulation through CD28 enhances T cell-dependent B cell activation via CD40-CD40L interaction. *J. Immunol.* 152:5643.
14. Ling, V. et al. Cutting edge: identification of GL50, a novel B7-like protein that functionally binds to ICOS receptor. *J. Immunol.* 164, 1653-1657 (2000).
15. Moreland LW, Alten R, Van den Bosch F, Appelboom et al. Costimulatory blockade in patients with rheumatoid arthritis:

- a pilot, dose-finding, double-blind, placebo-controlled clinical trial evaluating CTLA-4Ig and LEA29Y eighty-five days after the first infusion. *Arthritis Rheum* 2002 Jun;46(6):1470-9
16. Sharpe AH, Freeman GJ. The B7-CD28 superfamily. *Nature Rev. Immunol.* 2002, 2: 116-26.
 17. Sporic RA, Perrin PJ. Costimulation of memory T-cells by ICOS: a potential therapeutic target for autoimmunity? *Clin Immunol.* 2001 Sep;100(3):263-9.
 18. Swallow, M. M., Wallin, J. J. & Sha, W. C. B7h, a novel costimulatory homolog of B7.1 and B7.2, is induced by TNF. *Immunity* 11, 423-432 (1999).
 19. van Kooten, C., and J. Banchereau. 2000. CD40-CD40 ligand. *J. Leukocyte Biol.*67:2.

ΜΑΡΓΑΡΙΤΑ ΑΝΑΠΛΙΩΤΟΥ

Τα γοναδικά στεροειδή (Οιστραδιόλη, Τεστοστερόνη, Προγεστερόνη) έχουν σαφώς ανοσορρυθμιστική δράση στο ανοσολογικό σύστημα. Στην ανοσολογική συμπεριφορά μεταξύ των δύο φύλων υπάρχει φυλετικός διμορφισμός. Τα δεδομένα πειραματοζώνων και ανθρώπων καταδεικνύουν μεγαλύτερη ανοσολογική δραστηριότητα των θηλέων που χαρακτηρίζεται με υψηλότερα επίπεδα ανοσοσφαιρινών μετά διεγερτικά ερεθίσματα, με υπερίσχυση απαντήσεων τύπου κυτταρικής ανοσίας, μεγαλύτερη επίπτωση των αυτοανώσων νοσημάτων στις γυναίκες (πιν.1), που υποδηλώνει την πλέον έντονη απάντηση του θήλεος οργανισμού σε αντιγονικά (αυτοαντιγονικά) ερεθίσματα σε σχέση με τους άνδρες, όπως και διαφοροποίηση της κλινικής έκφρασης των αυτοανώσων νοσημάτων ανάλογα με το οιστρογονικό περιβάλλον (αναπαραγωγικός κύκλος, εγκυμοσύνη, εφηβεία, εμμηνόπαυση). (1),

Νόσημα	Γυναίκες : Άνδρες (αναλογία)	
Λεμφοκυτταρική θυρεοειδίτις	25:1	~ 50:1
Graves	4: 1	~ 8:1
Ερυθρηματώδης Λύκος	9:1	
Ρευματοειδής Αρθρίτις	4:1	
Sjogren `s syndrome	9:1	
Σκληρόδερμα	2:1	~ 4:1
Myasthenia Gravis	2:1	
Σκλήρυνση κατά πλάκας	5:1	
Αυτοάνοσος διαβήτης	5:1	

Δράση των γοναδικών στεροειδών στο Ανοσολογικό σύστημα

Λαμβάνοντας κανείς υπόψη τον φυλετικό διμορφισμό των ανοσολογικών απαντήσεων (2) αντιλαμβάνεται τον ανοσοτροποποιητικό ρόλο που έχουν τα γοναδικά στεροειδή. Η ευρεία χρήση τόσο αντισυλληπτικών δισκίων στην αντιμετώπιση διαφόρων διαταραχών του κύκλου, πέραν της αντισύλληψης, όσο και η εφαρμογή θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης καθιστά αναγκαία τη γνώση της δυνατότητας εφαρμογής των παραπάνω θεραπειών κατά περίπτωση. Επιπλέον, φαίνεται ότι ανοίγονται προοπτικές θεραπευτικών παρεμβάσεων με γοναδικά στεροειδή στην αντιμετώπιση αυτοανώσων νοσημάτων (2-5).

Δράση γοναδικών στεροειδών στη Χυμική ανοσία(Β-λεμφοποίηση και παραγωγή Αντισωμάτων) Β Λεμφοποίηση – Μ.Ο

Α). Οιστρογόνα. Πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν το κατασταλτικό αποτέλεσμα των μεγάλων συγκεντρώσεων οιστρογόνων στον Μ.Ο, που ίσως δικαιολογεί και την καταστολή της Β λεμφοποίησης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης(2,6). Η καταστολή αυτή που εκφράζεται στα πολύ αρχικά στάδια πολλαπλασιασμού των Β λεμφοκυττάρων (προ -Β) (7), ασκείται δια μέσου και των δύο υποτύπων των οιστρογονικών υποδοχέων (ER α, ER β) οι οποίοι έχουν βρεθεί στα κύτταρα του στρώματος του Μ.Ο και όχι στα λεμφοκύτταρα (8). Η τροποποίηση της δραστηριότητας των κυττάρων του στρώματος από τα οιστρογόνα διαφοροποιεί το αποτέλεσμα της παρακρινικής τους δράσης στις διαδικασίες πολλαπλασιασμού, και επιβίωσης των Β λεμφοκυττάρων προκαλώντας τελικά μείωση των διεργασιών αυτών(7,8). Δεδομένα από διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκφράζουν το bcl2 (αντιαποπτωτικό πρωτο-ογκογονίδιο) υποστηρίζουν ότι η δράση των οιστρογόνων φαίνεται ότι καθορίζει την έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στον κύκλο επιβίωσης των Β λεμφοκυττάρων(7).

Β) Ανδρογόνα. Η γοναδεκτομή σε αρσενικά ποντίκια οδηγεί σε υπερπλασία των Β -λεμφοκυττάρων του Μ.Ο, που υποστέφει μετά τη χορήγηση ανδρογόνων (2), δράση που ασκείται από το ανδρογονικό μόριο αυτό καθαυτό και όχι δια μέσου μεταβολισμού του σε οιστρογόνα (2,8). Η κατασταλτική αυτή επίδραση στη Β-λεμφοποίηση των ανδρογόνων, υποστηρίζεται ότι ασκείται δια μέσου ανδρογονικών υποδοχέων (AR). In vitro δεδομένα έχουν καταδείξει την ύπαρξη AR σε όλες τις κυτταρικές σειρές του Μ.Ο, όπως και στα κύτταρα του στρώματος του Μ,Ο πλην των λεμφοκυττάρων (8,9). Ισχύει και για την κατασταλτική δράση των ανδρογόνων στη Β-λεμφοποίηση

η ίδια θεώρηση της επίδρασης δια μέσου τροποποίησης της δραστηριότητας των κυττάρων του στρώματος (8).

Συμπερασματικά, η δράση τόσο των οιστρογόνων όσο και των ανδρογόνων στην Β- λεμφοποίηση του Μ.Ο είναι κατασταλτική, με επίδραση πάνω στα κύτταρα του στρώματος που ρυθμίζουν παρακρινικά τον πολλαπλασιασμό, την επιβίωση και την διαφοροποίηση των Β-λεμφοκυττάρων.

Περιφερική Δραστηριότητα Β-λεμφοκυττάρων/πλασματοκυττάρων – Παραγωγή αντισωμάτων

Α) Οιστρογόνα Παρότι, όπως προαναφέρθηκε η δράση των οιστρογόνων προκαλεί μείωση των προδρόμων μορφών των Β- λεμφοκυττάρων, εντούτοις δεν υπάρχει επηρεασμός του αριθμού των Β- κυττάρων στην περιφέρεια. Επιπλέον, η χορήγηση οιστρογόνων τόσο σε γοναδεκτομηθέντα θήλεα και άρρενα πειραματόζωα προκαλεί επαύξηση της ανοσολογικής απάντησης σε αντιγονικά ερεθίσματα με αύξηση της παραγωγής των IgG, IgM (10). Η δράση των οιστρογόνων στα περιφερικά Β- λεμφοκύτταρα υποστηρίζεται ότι ασκείται άμεσα δια μέσου πριμοδοτήσεως των μεταγραφικών μηχανισμών του bcl 2 γονιδίου (11), με δεδομένο ότι στην περιοχή προώθησης της μεταγραφής του υπάρχουν στοιχεία που απαντούν στα οιστρογόνα (ERE) (11). Ο προτεινόμενος παθολογοφυσιολογικός μηχανισμός είναι ότι η επαύξηση της έκφρασης του bcl 2 από τα οιστρογόνα στα περιφερικά Β-λεμφοκύτταρα έχει σαν αποτέλεσμα την παράταση της επιβίωσης τόσο των φυσιολογικών όσο και των παθολογικών κλώνων (εκείνων των εναντίων αυτοαντισωμάτων). Ο μηχανισμός αυτός έχει προταθεί για την συσχέτιση της μεγαλύτερης επίπτωσης του Συστηματικού Ερυθηματώδους Λύκου (Σ.Ε.Λ) στις γυναίκες (11). Επίσης κάνει κατανοπτό το πιθανό παθολογοφυσιολογικό υπόστρωμα της επιδείνωσης των νοσημάτων των επαγόμενων από την χυμική ανοσία κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ή με τη λήψη αντισυλληπτικών δισκίων ή τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης. Ιδιαίτερης ίσως σημασίας είναι η παρατήρηση ότι ασθενείς με Σ.Ε.Λ, άνδρες και γυναίκες, είχαν υψηλότερα επίπεδα μεταβολίτου της E2 (16OH E2) από τους υγιείς (12).

Β) Ανδρογόνα Παρόλο που η ορχεκτομή σε επίμυες επιφέρει αύξηση των Β-λεμφοκυττάρων στον σπλήνα εντούτοις δεν έχουν βρεθεί AR στα περιφερικά Β- λεμφοκύτταρα και τα μέχρι τώρα δεδομένα δεν φαίνεται να υποστηρίζουν τη δράση των ανδρογόνων στα κύτταρα αυτά (2).

Συμπερασματικά, από τα γοναδικά στεροειδή τα οιστρογόνα αυξάνουν την επιβίωση των περιφερικών Β- λεμφοκυττάρων, επαυξάνοντας άμεσα την έκφραση του αντιαποπτωτικού πρωτοογκογονιδίου bcl 2 προκαλούν τελικά αυξημένη παραγωγή αντισωμάτων. Για τα ανδρογόνα δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα δεδομένα που να υποστηρίζουν την εμπλοκή τους στη λειτουργικότητα των περιφερικών Β-λεμφοκυττάρων.

Δράση στον Θύμο αδέν

Α) Οιστρογόνα Η δράση των οιστρογόνων στον θύμο είναι διφασική, με την έννοια ότι η παρουσία των οιστρογόνων είναι απαραίτητη για την ωρίμανση των Τ-λεμφοκυττάρων αλλά τα υψηλά επίπεδα του στεροειδούς προκαλούν ατροφία του αδέν (2,13)

Ο ρόλος των οιστρογόνων στη λειτουργία του θύμου καταδεικνύεται σε μοντέλο αρσενικών ERKO επίμυων (με έλλειψη του ERα) από τη μείωση του μεγέθους του αδέν (3,13) και β) για τις διαδικασίες διαφοροποίησης και ωρίμανσης των λεμφοκυττάρων, πιθανόν τροποποιώντας την έκκριση των ορμονών του θύμου και των κυτταροκινών (3,13). Επιπλέον, παρότι τα υψηλά επίπεδα οιστρογόνων επάγουν αυξημένο ρυθμό απόπτωσης των κυττάρων προκαλώντας μείωση του μεγέθους του αδέν, εντούτοις αυξάνουν τον ώριμο υποπληθυσμό των CD4 σε σχέση με τα CD8 (2)

Β) Ανδρογόνα Η άμεση κατασταλτική δράση των ανδρογόνων στον θύμο υποστηρίζεται από τα δεδομένα της αύξησης του μεγέθους του σε επίμυες α) μετά ορχεκτομή όπως και β) με σύνδρομο αντίστασης ανδρογονικών υποδοχέων (15). Η δράση των ανδρογόνων ασκείται δια μέσου AR που εκφράζεται κυρίως στα επιθηλιακά κύτταρα του στρώματος (15,16) και λιγότερο στα ώριμα λεμφοκύτταρα τα CD4-CD8- (17). Η γενομική αυτή δράση των ανδρογόνων φαίνεται ότι επάγει αυξημένους ρυθμούς απόπτωσης των ώριμων μορφών των λεμφοκυττάρων αλλά καθο-

ρίζει ταυτόχρονα τη διαδικασία επιλογής τους προκαλώντας ένα τελικό φαινότυπο με CD4-CD8+ διαφορετικό από εκείνον των οιστρογόνων (2). Πιθανόν και αυτός να είναι ένας από τους μηχανισμούς του διμορφισμού κατά φύλο της ανοσολογικής απάντησης.

Γ) Προγεστερόνη Στην ανοσοκαταστολή που παρατηρείται στην εγκυμοσύνη έχει εμπλακεί και το μόριο της προγεστερόνης (18), παρότι ο ακριβής ανοσορρυθμιστικός ρόλος της (αν υπάρχει) δεν είναι γνωστός.

Συμπερασματικά, τα οιστρογόνα δρουν στα κύτταρα του στρώματος και στις ανώριμες βλαστικές μορφές των λεμφοκυττάρων επάγοντας την ωρίμανση τους και αυξάνοντας τον ώριμο υποπληθυσμό των CD4 σε σχέση με τα CD8, παρότι σε μεγάλες συγκεντρώσεις επάγουν ατροφία του θύμου. Αντιθέτως τα ανδρογόνα ασκούν θυμολυτική δράση επάγοντας την απόπτωση των λεμφοκυττάρων. παρόλα αυτά όμως ευνοούν την υπέρσχυση των CD8+.

Περιφερικά Τ-λεμφοκύτταρα

Α) Οιστρογόνα Τα ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα CD4 έχει καταδειχθεί ότι εκφράζουν και τους δύο υποτύπους οιστρογονικών υποδοχέων α και β (1). Η έκφραση αυτή των ER παρατηρείται τόσο στα φυσιολογικά ανθρώπινα λεμφοκύτταρα όσο και σε εκείνα ασθενών με Σ.Ε.Λ.(19) Η δράση των οιστρογόνων είναι διφασική, και ενώ οι χαμηλές συγκεντρώσεις επαυξάνουν την TH1 ανοσολογική απάντηση οι υψηλές συγκεντρώσεις την αναστέλλουν διαφοροποιώντας τους κυτταρικούς πληθυσμούς και εκτρέποντας την ανοσοαπάντηση σε TH2 τύπο (20). Την ίδια ακριβώς δράση έχουν και τα άλλα οιστρογονικά μόρια όπως E1 και E3 (21). Ένας άλλος υποστηριζόμενος μηχανισμός δράσης είναι και δια μέσου τροποποίησης της έκφρασης των γονιδίων κυτταροκινών, σε ορισμένα εκ των οποίων έχει καταδειχθεί η ύπαρξη ERE στην περιοχή προώθησης της μεταγραφής τους, όπως για τα γονίδια των IFN γ , IL 10, TNF α/β (21). Το ισχύον σενάριο είναι ότι, η τροποποίηση του εκκριτικού profile των κυτταροκινών από τα CD4 σαν αποτέλεσμα δράσης του στεροειδούς επηρεάζει τελικά την τροπή της ανοσολογικής απάντησης ανάλογα σε TH1 (χαμηλές συγκεντρώσεις) ή TH2 τύπο (υψηλές συγκεντρώσεις) (20,21). Παρόμοια δράση με τις υψηλές συγκεντρώσεις των οιστρογονικών μορίων έχουν και οι μεγάλες συγκεντρώσεις της προγεστερόνης, επάγοντας την TH2 απάντηση (21). Όπως έχει αναφερθεί στο βασικό περί ανοσολογικής αρχής μέρος η TH2 απάντηση έχει σαν αποτέλεσμα την δια μέσου κυτταροκινών ενεργοποίηση των B-κυττάρων για παραγωγή αντισωμάτων. Τα παραπάνω δεδομένα ίσως επεξηγούν την ύφεση που παρουσιάζουν ορισμένα αυτοάνοσα νοσήματα επαγόμενα από TH1 ανοσία (κυτταρική) π.χ Ρευματοειδής αρθρίτις, Graves, κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, καθώς επίσης και την έξαρση τους μετά την περίοδο αυτή όταν το περιβάλλον των οιστρογόνων είναι χαμηλό(1, 21).

Β) Ανδρογόνα Η δράση των ανδρογόνων στη δραστηριότητα των ώριμων CD4 λεμφοκυττάρων είναι σαφώς κατασταλτική (22) και ασκείται δια μέσου AR που εκφράζονται, σε χαμηλές συγκεντρώσεις στα κύτταρα αυτά (23). Σαν αποτέλεσμα παρατηρείται μείωση της έκκρισης κυτταροκινών, των IFN γ , IL2 (22,23) και ως εκτούτου επαγωγή ανοσολογικής απάντησης. Εντυπωσιακό είναι το εύρημα ότι τα ώριμα T λεμφοκύτταρα μεταβολίζουν τα ασθενή ανδρογόνα σε δραστηρικά ανδρογονικά μόρια, όπως και το δέρμα, εκφράζοντας δραστηριότητα 17 β HSD καθώς επίσης και 5 α -αναγωγάσης (23)

Η ανοσοκατασταλτική δράση των ανδρογόνων πέραν της διαφορετικής κατά φύλο ανοσολογικής απαντήσεως και της μειωμένης επίπτωσης αυτοανόσων νοσημάτων στους άνδρες δίνει και μια απάντηση στα ικανοποιητικά ανοσοτροποποιητικά αποτελέσματα του θεραπευτικού χειρισμού Σ.Ε.Λ με danazol σε γυναίκες καθώς επίσης και στην ύφεση που παρατηρήθηκε μετά τη χορήγηση Τεστοστερόνης σε ασθενείς με Klinefelter (2).

Μακροφάγα

Α) Οιστρογόνα Η ύπαρξη και των δύο υποτύπων ER(α/β) έχει καταδειχθεί στα μονοκύτταρα μακροφάγα Η δράση του στεροειδούς υποστηρίζεται ότι είναι διφασική, με επαγωγή της δραστηριότητας τους κυρίως σε χαμηλές συγκεντρώσεις του στεροειδούς και μείωση σε υψηλές(24). Η αυξημένη αυτή δραστηριότητα των μακροφάγων εκφράζεται με αυξημένη φαγοκυτταρική ικανότητα, αυξημένη παραγωγή προϊόντων τους, όπως TNF α , ενώ δεν φαίνεται να τροποποιείται η έκκριση των IL1 και IL6 (24-26). Αντιαποπτωτικός μηχανισμός υποστηρίζεται ότι ισχύει και εδώ με επαγωγή της έκφρασης του γονιδίου επιβίωσης bcl 2 μειώνοντας το προαποπτωτικό γονίδιο Nip-2 (28). Παρόμοια δράση φαίνεται ότι ασκούν και ορισμένοι SERMS π.χ η ραλοξιφένη (28) Η δράση αυτή των οιστρογόνων προσφέρει ένα πιθανό σενάριο για την μεγαλύτερη αντοχή των γυναικών σε διάφορες λοιμώξεις αλλά ταυτόχρονα θέτει και τον προβληματισμό της επιμονής της

βλαπτικής διεργασίας που παρατηρείται στην αυτοανοσία.

Β) Προγεστερόνη Παρόμοια ακριβώς δράση με την οιστραδιόλη, με διφασικό τύπο απάντησης, έχει καταδειχθεί και για την προγεστερόνη υποστηριζόμενου και πάλι αντιαποπρωτικού μηχανισμού δράσης (24,28)

Γ) Ανδρογόνα Η δράση των ανδρογόνων στη δραστηριότητα μακροφάγων φαίνεται ότι είναι σαφώς κατασταλτική. Έχει υποστηριχθεί τόσο η μείωση της φαγοκυτταρικής ικανότητας τους (26) όπως επίσης και μείωση της έκκρισης των προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL1 και IL6 (27).

Συμπερασματικά, η δράση των γοναδικών στεροειδών στα μακροφάγα είναι ανοσοτροποποιητική με διεγερτική επίδραση και αύξηση της επιβίωσης τους σαν αποτέλεσμα των οιστρογόνων και της προγεστερόνης ενώ η δράση των ανδρογόνων είναι σαφώς κατασταλτική της λειτουργίας τους.

Γοναδικά στεροειδή - Αυτοανοσία

Η επίδραση των γοναδικών στεροειδών στο ανοσολογικό σύστημα είναι ανοσοτροποποιητική, όπως αναπτύχθηκε παραπάνω. Συνοπτικά, ενώ τα ανδρογόνα έχουν σαφή ανοσοκατασταλτική δράση σε όλες πρακτικά τις παραμέτρους της ανοσολογικής απάντησης, τα οιστρογόνα έχουν διεγερτική επίδραση δρώντας με διφασικό τρόπο σε χαμηλές πυκνότητες επάγοντας κυρίως την κυτταρική ανοσία (TH1 απάντηση) και σε υψηλές συγκεντρώσεις την χυμική (TH2 απάντηση). Πέραν αυτού τα οιστρογόνα επαυξάνουν την επιβίωση των μακροφάγων και Β-λεμφοκυττάρων. Οι διαφορές αυτές εξηγούν τη διαφορά των ανοσολογικών απαντήσεων μεταξύ γυναικών και ανδρών (2,5,21). Από την άλλη πλευρά γίνεται και κατανοητή η μεγαλύτερη επίπτωση των αυτοανώσων νοσημάτων στις γυναίκες, όπως προαναφέρθηκε στην εισαγωγή. Λαμβάνοντας υπόψη ότι στην αυτοανοσία η ανοσολογική επίθεση στρέφεται εναντίον αυτοαντιγόνων ιστών - οργάνων, με αυτανομία αναστολής της διεργασίας, και τελικό αποτέλεσμα την καταστροφή του ιστού στόχου - οργάνου, είναι προφανές ότι η πριμοδοτική δράση των οιστρογόνων πρακτικά σε όλα τα στάδια της ανοσολογικής απάντησης καθιστά την γυναίκα πλέον ευάλωτη στα αυτοάνοσα νοσήματα. Δεν μπορεί βεβαίως να υποστηριχθεί ότι τα οιστρογόνα προκαλούν αυτοανοσία, αλλά δρουν σε κάποιο προδιαθεσικό υπόστρωμα επάγοντας την έκφραση της όποιας ανωμαλίας υποκρύπτεται (5). Γενετικοί και περιβαλλοντογενείς παράγοντες φαίνεται ότι παίζουν κυριαρχικό ρόλο στο πολυπαραγοντικό υπόστρωμα των αυτοανώσων νοσημάτων. Η γενετική προδιάθεση, που είναι πολυγονιδιακή, υποδηλώνεται από την αυξημένη οικογενειακή επίπτωση των νοσημάτων όπως και από μελέτες μεταξύ μονοζυγωτικών και διζυγωτικών διδύμων (31).

Η ανοσοτροποποιητική δράση των οιστρογόνων εκφράζεται επίσης και από την ίδια την φυσική πορεία και επηρεασμό της κλινικής έντασης των αυτοανώσων νοσημάτων ανάλογα με το οιστρογονικό περιβάλλον. Νοσήματα με υπόστρωμα την κυτταρική ανοσία π.χ Ρευματοειδής, Graves, εμφανίζονται κυρίως στην αναπαραγωγική ηλικία στις γυναίκες. Η ρευματοειδής αρθρίτις, η σκλήρυνση κατά πλάκας παρουσιάζουν έξαρση προεμμηνορροιακά (χαμηλό οιστρογονικό περιβάλλον). Επιπλέον, τα παραπάνω νοσήματα παρουσιάζουν ύφεση κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (υψηλά οιστρογόνα → καταστολή της TH1 απάντησης) με έξαρση τους μετά τον τοκετό. Σε περιπτώσεις ρευματοειδούς αρθρίτιδας η χορήγηση 17β-οιστραδιόλης όπως και αντισυλληπτικών δισκίων είχε σαν αποτέλεσμα την κλινική βελτίωση της νόσου (2,31). Αντίθετο επηρεασμό έχουν νοσήματα των οποίων το υπόστρωμα είναι η χυμική ανοσία - TH2 απάντηση όπως ο Σ.Ε.Λ, τα οποία επιδεινώνονται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, λόγω επαγωγής της χυμικής ανοσίας από τα υψηλά επίπεδα οιστρογόνων. Επίσης έχει σημειωθεί επιβάρυνση της κλινικής τους πορείας μετά τη λήψη αντισυλληπτικών δισκίων και θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης (31). Ενδιαφέροντα είναι τα αποτελέσματα της κλινικής βελτίωσης του ΣΕΛ με τη χορήγηση σκευασμάτων που περιέχουν ανδρογονικό δακτύλιο π.χ danazol, 19-nortestosterone (2,31).

Το όλο πεδίο έχει μεγάλο ενδιαφέρον τόσο για τον ανοσολόγο όσο και για τον ενδοκρινολόγο αναφορικά με την παθογένεια και την κλινική πορεία των συγκεκριμένων νοσημάτων όπως επίσης για τη σωστή χρήση καθημερινών θεραπειών κατά περίπτωση, όπως αυτή με αντισυλληπτικά δισκία και ορμονική υποκατάσταση. Πέραν αυτού διαφαίνονται προοπτικές χρήσης γοναδικών στεροειδών για θεραπευτική τροποποίηση ανοσολογικής συμπεριφοράς στα αυτοάνοσα νοσήματα.

Βιβλιογραφία

1. Tornwall J et al. The journal of Gender-Specific Medicine. 2(5): 33-40, 1999
2. Olsen N and Kovacs W. Endocr. Rev 17:4:369-384, 1996
3. Savino W and Daedenne M. Endocr. Rev 21:4: 412-445, 2000

4. Berger A. *BMJ*. 321: 424-425, 2000
5. Jansson L, R Holmdahl. *Inflammation Research*. 47(290-301), 1998
6. Medina K L, P W Kincade. *Immunology*. 91: 5382-5386, 1994
7. Medina K L et al. *Blood*. 95(6): 2059-2067, 2000
8. Smithson G et al. *The Journal of Immunology*. 161(1): 27-34, 1998
9. Mantalaris A et al. *J Patholol*. 193(3): 361-6, 2001
10. Verthelyi D., S AAhmed. *Endocrinology*. 135(6): 2615-2622, 1994
11. Bynoe MS et al. *PNAS*. 97(6), 2703-2708, 2000
12. Lahita R. G et al. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 53(1), 174-178, 1981
13. J E et al. *The Journal of Immunology*. 163(8): 4168-4174, 1999
14. Gulino A. et al. *Endocrinology*. 117(1): 47-54, 1985
15. Olsen N J et al. *Endocrinology*. 142(3): 1278-83, 2001
16. Kumar N J et al. *Endocrinology*. 136(11): 4887-4893, 1995
17. Viselli S M et al. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 109: 19-26, 1995
18. Pearce P T et al. *Endocrinology*. 113(4): 1287-1291, 1983
19. Suenaga R et al. *Lupus*. 10: 116-122, 2001
20. Salem M L et al. *Int Arch Allergy immunol*. Vol. 121(2): 161-9, 2000
21. Correale J et al. *The Journal of Immunology*. 161: 3365-3374, 1998
22. Viselli S M et al. *Immunology*. Vol. 84: 337-342, 1995
23. Zhou .Z et al. *Molecular and Cellular Endocrinology*. Vol. 138: 61-69, 1998
24. Chao T.C et al. *American Journal of Reproductive Immunology*. 44: 310-318, 2000
25. Chao TC et al. *Cell Immunology*. 160(1): 43-9, 1995
26. Chao TC et al. *American Journal of Reproductive Immunology*. 35(106-113), 1996.
27. Angele M. K. et al. *Cell Physiology*. 277(1), C35-C42, 1999
28. Vegeto E et al. *The FASEB journal*. 13(793-803), 1999
29. Da Silva J.A.P. *Annals New York Academy of Sciences*: 102-118, 1999.
30. Wilder R. *Ann.Rev.Immunol*.13:307-38 ,1995
31. Whitacre. C.C et al *Science*: 283: 1277-78, 1999