



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ

ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΨΥΛΛΑΣ

**ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ
ΤΟΥ ΠΤΕΡΥΓΙΟΥ ΤΟΥ ΟΦΘΑΛΜΟΥ
ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

ΤΣΙΡΩΝΗ Α. ΣΕΒΑΣΤΗ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2001



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000345855





ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ

ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΨΥΛΛΑΣ

**ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ
ΤΟΥ ΠΤΕΡΥΓΙΟΥ ΤΟΥ ΟΦΘΑΛΜΟΥ
ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

ΤΣΙΡΩΝΗ Α. ΣΕΒΑΣΤΗ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2001



«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων
του συγγραφέα ».

(Νόμος 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2)



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων : Ψύλλας Κωνσταντίνος – Καθηγητής Οφθαλμολογίας Ιατρικής

Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Μέλη : Αγνάντη Νίκη – Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής

Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Ασπιώτης Μιλτιάδης – Αναπληρωτής Καθηγητής Οφθαλμολογίας

Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.



ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- **Ψύλλας Κωνσταντίνος :** Καθηγητής Οφθαλμολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- **Αγνάντη Νίκη:** Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- **Κυρίτσης Αθανάσιος:** Καθηγητής Νευρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- **Σκεύας Αντώνιος:** Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- **Ασπιώτης Μιλτιάδης:** Αναπληρωτής Καθηγητής Οφθαλμολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- **Μαλάμου-Μήτση Βασιλική:** Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- **Στεφάνου Δημήτριος:** Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.



Στην οικογένειά μου



Στους καθηγητές μου.

Τον κ. Κωνσταντίνο Ψύλλα για όσα πολύτιμα με δίδαξε στην Οφθαλμολογία και για την δυνατότητα που μου έδωσε να πραγματοποιήσω αυτήν την διατριβή

Την κ. Νίκη Αγνάντη για την καθοδήγηση και την απλόχερη και γενναιόδωρη βοήθεια της ίδιας, όσο και του τμήματός της

Τον κ. Μιλτιάδη Ασπιώτη για την βοήθεια και την υπομονή του, όσο και για το κουράγιο και το «κέφι» που μου ενέπνευσε σε όλη την διάρκεια αυτής της προσπάθειας



Στην κ. Έλλη Ιωακείμ,

που με άπειρη υπομονή με «μύησε» στον χώρο της Ανοσοϊστοχημείας
και της Παθολογικής Ανατομικής και στάθηκε δίπλα μου
ως συνεργάτης, ως επιστήμων και ως αληθινή φίλη
σε κάθε φάση αυτής της προσπάθειας,
που θα ήταν ανέφικτη χωρίς την ανεκτίμητη συμβολή της !



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο όρος «περύγιο» προέρχεται από την ελληνική λέξη «πτερόν» και αποτελεί νοσολογική οντότητα που παρατηρήθηκε και περιγράφηκε από την αρχαιότητα.

Όμως, παρά τους αιώνες που πέρασαν και την αλματώδη ανάπτυξη της Ιατρικής επιστήμης, και της Οφθαλμολογίας ειδικότερα, η αιτιολογία, η παθογένεια και το κυριότερο, ίσως, η αντιμετώπιση του περυγίου αποτελούν ακόμη θέμα συζήτησης, έρευνας, διαφωνίας και προβληματισμού.

Καθώς το περύγιο εμφανίζεται σε περιοχές κοντά στον Ισημερινό, παρουσιάζει αρκετά μεγάλη επίπτωση στην χώρα μας. Το γεγονός αυτό συντέλεσε στην σύλληψη της ιδέας της ερευνητικής αυτής μελέτης, καθώς και στην δυνατότητα πραγματοποίησής της, εφόσον τα περύγια εμφανίζονται σε πληθώρα στην Ελλάδα, ιδίως μάλιστα στην επαρχία.

Στόχος μας ήταν να μελετήσουμε την κλινική πορεία των χειρουργηθέντων περυγίων, να φέρουμε στο φως νέα δεδομένα για την σύσταση και την κυτταρική συμπεριφορά του ιστού, και να οδηγηθούμε σε νέες πληροφορίες και συμπεράσματα σχετικά με την νοσολογική αυτή οντότητα.

Στην εργασία μας μελετήθηκαν 100 περύγια, τόσο κλινικά, όσο και ανοσοϊστοχημικά. Πιο συγκεκριμένα τα περύγια εξαιρέθηκαν με ειδική χειρουργική τεχνική και ακολούθησε παρακολούθηση της κλινικής πορείας των ασθενών επί τρία περίπου έτη. Τα περύγια που εξαιρέθηκαν υποβλήθηκαν σε ιστολογική και ανοσοϊστοχημική μελέτη. Ακολούθησε στατιστική επεξεργασία των έυρημάτων ώστε να προκύψουν χρήσιμα κλινικά και εργαστηριακά συμπεράσματα αλλά και συσχετίσεις. Για να πλουτιστούν και να ισχυροποιηθούν περισσότερο τα αποτελέσματα της ερευνητικής αυτής προσπάθειας, μελετήθηκαν ως μάρτυρες, παράλληλα με τα περύγια, και με την ίδια ακριβώς μεθοδολογία, 20 δείγματα φυσιολογικού επιπεφυκότα, και 20 στεάτια.



ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

	1
• Φυσική Ιστορία	3
• Επιδημιολογία	4
• Συμπτωματολογία	4
• Ιστολογική εικόνα	6
• Διαφορική διάγνωση	7
• Παθογένεια	8
Ιστορική αναδρομή	8
Νεώτερες αντιλήψεις σχετικά με την παθογένεια	12
Ο ανοσολογικός μηχανισμός στην παθογένεια του πτερυγίου	16
• Θεραπευτική αντιμετώπιση πτερυγίου	20
Συντηρητική θεραπεία	20
Χειρουργική θεραπεία	20
• Περί ανοσοϊστοχημείας	24
HLA-DR	25
S100 πρωτεΐνη	26
Κύτταρα Langerhans'	27
T – λεμφοκύτταρα	27
Μακροφάγα μονοκύτταρα (CD68)	29
Κυτοκίνες	29
Δείκτες πολλαπλασιασμού:	30
PCNA και Ki67	30
Μεταλλοθειονίνη	31

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

	35
• Εισαγωγή	37
• Ασθενείς – Υλικό – Χειρουργική μέθοδος.	38
• Ανοσοϊστοχημική μελέτη – Ειδικό μέρος	61
• Ανοσοϊστοχημική αξιολόγηση	64
• Περί στατιστικής ανάλυσης	65
• Κλινικά αποτελέσματα	65
• Εργαστηριακά αποτελέσματα – Στατιστικές συσχετίσεις	67
Ανοσοϊστοχημική χρώση στο πτερύγιο	67
Ανοσοϊστοχημική χρώση στον φυσιολογικό επιπεφυκότα	68
Ανοσοϊστοχημική χρώση στο στεάτιο	69
• Συζήτηση	103
Περί κλινικών αποτελεσμάτων και συσχετίσεων	103
Περί ανοσοϊστοχημικών ευρημάτων	108
• Συμπεράσματα	117

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

SUMMARY

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

119

121

123



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ

Σύμφωνα με τον κλασσικό ορισμό κατά Duke-Elder το πτερύγιο είναι μια εκφυλιστική και υπερπλαστική εξεργασία του επιπεφυκότα που «εισβάλλει» και «διεισδύει» στον κερατοειδή.

Το πτερύγιο είναι ετερόπλευρο και συχνά αμφοτερόπλευρο αλλά μη συμμετρικό. Συνήθως εμφανίζεται ρινικά, κάποτε είναι ρινικό και κροταφικό (διπλό), και σπανιότατα είναι μόνον κροταφικό.

Αρχίζει από το μεσοβλεφάριο διάστημα και συνήθως ελαφρά κάτω από τον οριζόντιο άξονα. Αρχικά μοιάζει με στεάτιο, σαν μια υπεργερμένη κιτρινωπή μάζα βολβικού επιπεφυκότα 1-2mm περιφερικά του σκληροκερατοειδούς ορίου (ΣΚΟ).

Συχνά παρατηρούνται γκριζωπές αδιαφανείς κυκλικές περιοχές στον κερατοειδή κοντά στο ΣΚΟ και ρικνώσεις του βλεννογόνου του επιπεφυκότα.

Εμφάνιση διεσταλμένων ακτινοειδών αγγείων πάνω στο αρχόμενο πτερύγιο και το ΣΚΟ είναι τα συχνά σημάδια μιας περιόδου ταχείας ανάπτυξης.

Καθώς αναπτύσσεται το πτερύγιο, η τριγωνική κορυφή του (κεφαλή) είναι αμβλύα και μπροστά απ' αυτήν διακρίνονται στην σχισμοειδή λυχνία μικρές, ακανόνιστες θολερότητες ή μια ενιαία θολερή άλως στο επίπεδο της μεμβράνης του Bowman. Στην ίδια περιοχή μπορεί να δούμε μικρές φυσαλίδες σαν κύστεις, όπου κατ' άλλους περνούν στην Bowman ιερατικά νεύρα ή κατ' άλλους υπάρχουν ομάδες μεταναστευόντων κερατοβλαστών. Αυτά πάντως είναι σίγουρα στοιχεία και σημεία καταστροφής της Bowman. Ακριβώς μπροστά απ' την θολερή άλω διακρίνεται συχνά μια αφοριστική γραμμή υπέρχρωσης, είτε λόγω ρήξεως της μεμβράνης, είτε λόγω εναπόθεσης σιδήρου (Stocker's line). Η προαναφερθείσα "γραμμή" δείχνει στασιμότητα, καθώς σ' ένα αναπτυσσόμενο πτερύγιο δεν υπάρχει η χρονική δυνατότητα να εναποτεθεί σε σταθερή περιοχή υλικό απ' την δακρυϊκή στιβάδα.

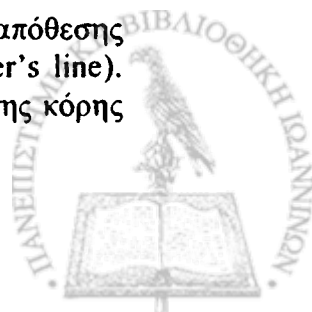
Το πτερύγιο μπορεί να διακριθεί σε τρία μέρη:

- 1) Κεφαλή: Η κορυφή του τριγώνου που εισβάλλει στον κερατοειδή και καταλήγει στην τοξοειδή γκριζόλευκη ανάγγειο ζώνη που αποτελεί την οδηγό αυξητική περιοχή του πτερυγίου. (Η μεμβράνη Bowman καταστρέφεται τμηματικά 1-2 mm μπροστά απ' την κεφαλή).
- 2) Αυχένας: Η περιοχή πίσω από την κεφαλή και ως το ΣΚΟ, η οποία συνέχεια στερεά με τον κερατοειδή.
- 3) Σώμα: Αποτελεί την μεγαλύτερη και πλατύτερη περιοχή του πτερυγίου, η οποία είναι πτυχωτή και καταδύεται κάτω από τον βολβικό επιπεφυκότα, με την βάση στραμμένη στον κανθό. Συνέχεται ελαφρά με τον σκληρό και συνήθως είναι πολύ μεγαλύτερη απ' όσο διακρίνεται πάνω από τον επιπεφυκότα.

Καθώς το πτερύγιο μεγαλώνει είναι σαρκώδες και υπεραιμικό με περιόδους έξαρσης. Για άγνωστους λόγους η αύξηση του πτερυγίου μπορεί να σταματήσει σε κάποιο στάδιο. Τότε μειώνεται η αγγειοβρίθεια, επιπεδώνεται κάπως η βλάβη και καταλήγει γκριζόλευκο, αναιμικό και μεμβρανώδες, αλλά δεν εξαφανίζεται ποτέ. (Υπάρχει μόνο μια αναφορά αυτόματης υποστροφής στην βιβλιογραφία).

Η βλάβη μπορεί να μείνει ανενεργός ή σε κάποια στιγμή να αρχίσει να αυξάνεται ξανά.

Παλιές στατικές βλάβες συχνά συνδέονται με μια τοξοειδή γραμμή εναπόθεσης σιδήρου (Fe) στον κερατοειδή, αμέσως κεντρικότερα της κεφαλής (Stocker's line). Ένα ενεργό πτερύγιο μπορεί να αναπτυχθεί στον κερατοειδή έως το μέσο της κόρης αλλά σχεδόν ποτέ δεν ξεπερνά τον οπτικό άξονα.



ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Το πτερύγιο εμφανίζεται σπάνια σε ηλικία μικρότερη των 20 ετών. Εμφανίζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό στις ηλικίες 20 έως 49 με peak στην δεκαετία των 50. Από επιδημιολογικές μελέτες έχει προκύψει μεγαλύτερη επίπτωση στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες, εκτός αν είναι της ίδιας δραστηριότητας.

Παρουσιάζει αυξημένη επίπτωση σε ανθρώπους της υπαίθρου και σε ορισμένες εργασιακές ομάδες, όπως οι εργάτες αλευρόμυλων, οι οξυγονοκολλητές και οι ανθρακωρύχοι.

Εμφανίζεται σ' όλο τον κόσμο αλλά προέχει στα θερμά και ξηρά κλίματα και μάλιστα στην ζώνη της Γης 40° εκατέρωθεν του Ισημερινού. Πιο συγκεκριμένα, εμφανίζεται σε ποσοστό 22.5% στο προαναφερόμενο γεωγραφικό πλάτος, ενώ σε ποσοστό μικρότερο του 2% πάνω από τον 40° παράλληλο. Η γεωγραφική κατανομή του πτερυγίου φαίνεται καλύτερα στον σχετικό χάρτη του Cameron. (Σχήμα 1)

ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

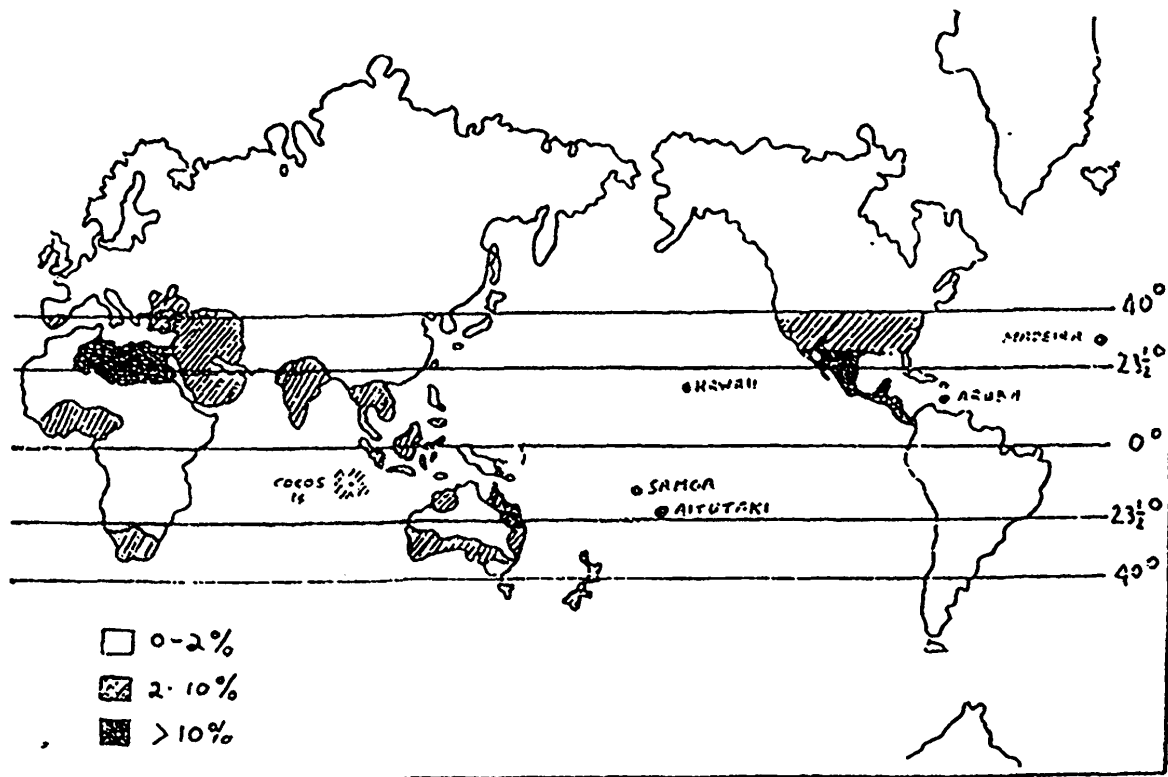
Υπάρχουν ερεθιστικά συμπτώματα όπως, αίσθημα ξένου σώματος και αίσθημα καύσους. Συχνά προκαλείται δακρύρροια και φωτοφοβία. Πρόδρομα δεδομένα για το πτερύγιο με την μέθοδο της εντυπωτικής κυτταρολογίας, κατέδειξε μικρό αριθμό κυττάρων με μεταπλασία. Ο παράγοντας αυτός, καθώς και βιβλιογραφικές αναφορές για ελάττωση του χρόνου διασπάσεως του δακρυϊκού φιλμ και για αλλοιωμένο τύπο βλέννης που συνοδεύουν τα πτερύγια, βοηθούν στην εξήγηση μερικών απ' τα συμπτώματα των ασθενών, ακόμη και με μη φλεγμονώδη πτερύγια.

Μείωση της όρασης μπορεί να προκύψει λόγω αστιγματισμού, απώλειας οπτικού πεδίου (αρχικά περιφερικά), Glare, μείωσης της Contrast sensitivity και μείωσης της οπτικής οξύτητας. Ειδικά ο αστιγματισμός που προκαλεί το πτερύγιο έχει γίνει αντικείμενο πολυάριθμων ερευνών. Είναι γενικώς παραδεκτό ότι υπάρχει συσχετισμός μεταξύ του μεγέθους και των αλλοιώσεων του πτερυγίου, που αν εκτείνεται σε απόσταση μεγαλύτερη του 45% από το οριζόντιο σκληροκερατοειδικό όριο μέχρι τον οπτικό άξονα, ή αν οι βλάβες βρίσκονται εντός ακτίνας 3.2 χιλιοστών από τον οπτικό άξονα, τότε προκαλούν αυξημένο βαθμό αστιγματισμού.

Επίσης μπορεί να υπάρξουν επιπτώσεις στην οφθαλμοκινητικότητα με περιορισμό απαγωγής, που είναι δυνατό να προκαλέσει διπλωπία. Σπάνια μπορεί να εμφανιστεί συμβλέφαρο.



Σχήμα 1: "Ο χάρτης του Cameron". Κατασκευάστηκε από τον ερευνητή στα 1965 και δείχνει την παγκόσμια επίπτωση του πτερυγίου.



World Incidence of Pterygium. (Modified from CAMERON 1965)

ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Το πτερύγιο καλύπτεται από επιθήλιο του επιπεφυκότα. Συνήθως έχει επίπεδα πλακώδη κύτταρα στην κεφαλή και τον αυχένα και κυλινδρικά στην βάση. Στην κεφαλή του πτερυγίου η μετάβαση απ' το επιθήλιο του επιπεφυκότα στον κερατοειδή, άλλοτε είναι οξεία, άλλοτε σταδιακή. Κάποτε η κεφαλή του πτερυγίου καλύπτεται από επιθήλιο κερατοειδούς. Μερικές φορές όμως το επιθήλιο του επιπεφυκότα εκτείνεται μέσα στον κερατοειδή μπροστά απ' την κεφαλή, όπως άλλωστε συμβαίνει πάντοτε στις πλευρικές επιφάνειες. Στην επιθηλιακή στιβάδα μπορεί να υπάρχει μελάγχρωση.

Είναι ενδιαφέρον και ιδιαίτερα σημαντικό το γεγονός ότι αλλοιωμένα αρχέγονα κύτταρα του σκληροκερατοειδούς ορίου (stem cells) ανευρίσκονται στην κεφαλή του πτερυγίου, η οποία αποτελεί και τον οδηγό της πορείας του. Πρόσφατα έχει επιβεβαιωθεί και πειραματικά ότι κυτταρική σειρά, προερχόμενη από το επιθήλιο του πτερυγίου, έχει ορισμένα χαρακτηριστικά των αρχέγονων κυττάρων του σκληροκερατοειδούς ορίου (Dushku & Reid 1994, Lim et al 1998).

Με την μέθοδο της εντυπωτικής κυτταρολογίας, πρόσφατα καταδείχθηκε μικρός αριθμός κυττάρων με μεταπλασία στο επιθήλιο του πτερυγίου. (Sivakumar et al 1998). Επιπλέον δευτεροπαθώς, ως γνωστόν, μπορεί να υπάρχουν αλλαγές στο επιθήλιο του πτερυγίου όπως ακάνθωση, παρακεράτωση, υπερκεράτωση και σπάνια καρκίνωμα εκ' πλακωδών κυττάρων.

Το στρώμα είναι πυκνό, με αυξημένο ποσοστό κυττάρων κοντά στην κεφαλή, ενώ είναι πιο χαλαρό προς τα πίσω. Παρατηρείται υαλινοποίηση του υποεπιθηλιακού ιστού και της θεμελίου ουσίας. Υπάρχει αυξημένος αριθμός ινοβλαστών και άφθονες ανώμαλες ελαστικές ίνες, πεπαχυσμένες και ελικοειδείς (hook-like). Παρατηρείται δε ελαστοδυσπλασία (ανώμαλα ώριμες και ανώριμες ελαστικές ίνες) και ελαστοδυστροφία (δευτερογενής εκφύλιση των ελαστικών ινών).

Υπάρχουν διάχυτες λοβώδεις συλλογές ηωσινοφιλικού κοκκώδους υλικού με αυξημένους ινοβλάστες, καλυκοειδή και άλλα κύτταρα. Επίσης παρατηρούνται συγκρίμματα και εναποθέσεις ανάμεσα στις υαλινοποιημένες περιοχές και τις κοκκώδεις, που είναι ηωσινόφιλες και βασεόφιλες.

Στον ιστό που περιβάλλει την μεμβράνη του Bowman βρίσκονται άφθονοι ενεργοποιημένοι ινοβλάστες και γενικότερα άφθονα κύτταρα. Οι ινοβλάστες διεισδύουν και καταστρέφουν τις επιφανειακές στιβάδες του κερατοειδή όπου διακρίνονται ρωγμές, λεπτά και κυματοειδή στρώματα και κυκλικές κυτταρικές διηθήσεις. Η μεμβράνη του Bowman θρυμματίζεται κατά τόπους και κατακερματίζεται (γκρίζες περιοχές). Η εισβολή αυτή των κυττάρων ευθύνεται για την ισχυρή πρόσφυση της κεφαλής του πτερυγίου στον κερατοειδή. Παρατηρείται δε, μετανάστευση ινοβλαστών και κερατοβλαστών 1-2mm μπροστά από την μεμβράνη του Bowman.

Πίσω απ' το ΣΚΟ, η επιφάνεια της Tennon ενσωματώνεται στο σώμα του πτερυγίου και συνεισφέρει στον όγκο του. Επειδή ακριβώς η Tennon βρίσκεται ανάμεσα στο πτερύγιο και στο επισκλήριο, το σώμα του πτερυγίου είναι χαλαρό και δεν προσφύεται στον σκληρό.

Ιστολογικά υπάρχει ομοιότητα μεταξύ πτερυγίου, στεατίου και ακτινικής ελάστωσης του δέρματος.

Αξίζει να σημειωθεί ότι το υποτροπιάζων πτερύγιο δεν έχει τον χαρακτηριστικό εκφυλισμένο άμορφο συνδετικό ιστό του αληθούς πτερυγίου. Είναι σύμπλεγμα ινοβλαστών και αγγείων τυπικό μιας υπερβολικής (exuberant) απάντησης σε χειρουργικό τραύμα, όπως π.χ. ένα χυλοειδές δέρματος.



ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

- 1) ΣΤΕΑΤΙΟ: Έχει αυξημένη επίπτωση προϋούσης της ηλικίας και εμφανίζεται στο ίδιο ποσοστό σε άνδρες και γυναίκες. Δεν αναπτύσσεται στον κερατοειδή και δεν υποτροπιάζει. Παρουσιάζει ανώμαλο κολλαγόνο με εναποθέσεις υαλίνης. Έχει ίδια επίπτωση στις θερμές και στις εύκρατες χώρες. Δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στους συγκολλητές και στον γενικό πληθυσμό.
- 2) ΨΕΥΔΟΠΤΕΡΥΓΙΟ: Είναι δευτεροπαθής βλάβη, αποτέλεσμα φλεγμονώδους διεργασίας. Πρόκειται για ινοαγγειακή ουλή που αρχίζει από τον επιπεφυκότα και εκτείνεται στον κερατοειδή σαν επουλωτική δράση. Πτυχή του επιπεφυκότα που φλεγμαίνει προσφύεται σε μια εξελικτική ελκωτική περιοχή του κερατοειδούς κοντά στο σκληροκερατοειδές όριο (ΣΚΟ) και προσφύεται εκεί "παθητικά", όντας κολλημένο μόνο στην κορυφή του κερατοειδή, δημιουργώντας μια γέφυρα, κάτω απ' την οποία περνά άνετα μια μήλη. Δημιουργείται σε χημικά εγκαύματα, χειρουργικό τραύμα, ξηρά κερατοεπιπεφυκίτιδα, περιφερικό έλκος κερατοειδούς. Δεν είναι οργανωμένο όπως το αληθές (κεφαλή, λαιμός, σώμα). Δεν προσφύεται στο ΣΚΟ. Παρουσιάζεται σε οποιοδήποτε σημείο εκτός της μεσοβλεφαρίου σχισμής. Πάραυτα, αν αφαιρεθεί και υποτροπιάσει είναι πλέον μορφολογικά αληθές.
- 3) ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΟ (IN SITU) ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ ΕΠΙΠΕΦΥΚΟΤΑ: Αυτό εμφανίζεται κυρίως στο σκληροκερατοειδές όριο. Κλινικά μπορεί να εμφανιστεί με λευκοπλακία, ή ως διάχυτη ελαφρά υπεργεμένη αγγειώδης, κοκκιωματώδης ή ζελατινώδης βλάβη. Τόσο το στεάτιο όσο και το πτερύγιο φθορίζουν (fluoresce) στο υπεριώδες φως, ιδιότητα που χρησιμεύει για την διάκριση απ' τα κακοήγη επιθηλώματα. (Wilson 1949) Η ιστολογική εικόνα είναι σαφής για την διαφοροδιάγνωση, καθώς στο ενδοεπιθηλιακό καρκίνωμα όλο το πάχος του επιθηλίου αντικαθίσταται από άτυπα και συχνά παράδοξα και πλειόμορφα επιθηλιακά κύτταρα, με την βασική μεμβράνη όμως να παραμένει ανέπαφη.
- 4) ΔΙΗΘΗΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ ΕΚ ΠΛΑΚΩΔΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΕΠΙΠΕΦΥΚΟΤΑ: Η εντόπιση είναι και εδώ κυρίως στο σκληροκερατοειδές όριο. Συνήθως εμφανίζεται ως εντοπισμένη, λευκή, ελαφρώς υπεργεμένη μάζα, τροφοδοτούμενη από μεγάλα επιπεφυκτικά τροχοφόρα αγγεία. Τα ερεθιστικά συμπτώματα είναι συνήθως έντονα και συχνά συνυπάρχει φλεγμονώδης αντίδραση. Η ιστολογική εικόνα είναι σαφής, με διήθηση από κακοήγη, πλειομορφικά, άτυπα κύτταρα και διάσπαση της βασικής μεμβράνης.
- 5) ΔΕΡΜΟΕΙΔΗΣ ΚΥΣΤΗ ΤΟΥ ΣΚΟ: Πρόκειται για μικρές υπεργεμένες λευκές ή ερυθρωπές μάζες, που καταλαμβάνουν την περιοχή του σκληροκερατοειδούς ορίου, επεκτεινόμενες πολλές φορές εντός του κερατοειδούς και του υποκείμενου σκληρού. Εμφανίζονται όμως από την βρεφική ηλικία και συνήθως είναι στάσιμες, εκτός από την περίοδο της ήβης, οπότε παρουσιάζουν κάποια ανάπτυξη. Επιπλέον ιστολογικά, η δερμοειδής κύστη δυνατόν να είναι λίαν σύνθετη, περιλαμβάνουσα δέρμα, τρίχες, αδενοειδή ιστό και τον συνοδεύοντα αυτόν μεσοδερματικό ιστό.



ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η παθογένεια του πτερυγίου ήταν ένα ερωτηματικό εδώ και 3000 χρόνια. Από τότε ακόμη υποστηρίχτηκαν πολλές θεωρίες, αλλά παρά την πρόοδο της έρευνας υπάρχουν ακόμη σήμερα πολλά ερωτηματικά.

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Μια επιγραμματική ιστορική αναδρομή των ερευνητικών αναφορών, όσο και των θεωριών για την αιτιοπαθογένεια του πτερυγίου, πριν την παράθεση των σημερινών σύγχρονων δεδομένων αλλά και ερωτηματικών και προβληματισμών για το θέμα αυτό, είναι ενδεικτική για την δυσκολία της ανεύρεσης και ενοχοποίησης ενός και συγκεκριμένου αιτίου του πτερυγίου και επομένως την δυσχέρεια για την πιο αποτελεσματική και σίγουρη θεραπεία του.

Παρά το γεγονός ότι παρατηρήθηκε 3000 χρόνια πριν, η αιτιολογία, η παθογένεια και η θεραπεία του ακόμη αποτελούν θέμα έντονης συζήτησης, προβληματισμού και διαφωνίας. Πάντως τα όποια ερευνητικά βήματα, καθώς και οι όσες επιστημονικές υποθέσεις, συζητήσεις και διαφωνίες έγιναν στην μακρά ιστορία του «πτερυγίου» αποτελούν κατά την γνώμη μας, αξιόλογη και αξιοποιήσιμη γνώση, ανεξάρτητα από το πόσο επίκαιρες ή αποδεκτές είναι. Κάθε θεωρία έχει προσφέρει στην πρόοδο της έρευνας, ακόμη και δια του υπερκερασμού της από κάποια άλλη, και η γνώση των επί μέρους θεωριών, ακόμη και των αρχαιότερων βοηθά την επιστημονική έρευνα, γιατί την εμπλουτίζει, την προφυλλάσει από την επανάληψη λάθους και τον πλεονασμό, αλλά και την εμπνέει. Για τους λόγους αυτούς προβαίνουμε στην παρακάτω σύντομη ιστορική αναδρομή περί «πτερυγίου».

Ο Susputa, ένας αιγύπτιος γιατρός στα 1000 π.Χ. θεωρούσε ότι το πτερύγιο προκαλούνταν από ανεπαρκή διατροφή. Στα 460 π.Χ. ο Ιπποκράτης περιέγραψε το «πτερύγιον» (ένα μικρό πτερό). Στα 131 μ.Χ., ο Γαληνός έγραψε ότι «το πτερύγιο αποτελείται από νευρική μεμβράνη η οποία εκτείνεται έως τον έσω κανθό». Ο Κέλσιος έγραψε σχετικά με το πτερύγιο στο βιβλίο του «De re medica» στην διάρκεια του πρώτου αιώνα μ.Χ. Ωστόσο φαίνεται ότι έχει μπερδέψει το πτερύγιο με το έλκος κερατοειδούς. Τον 5^ο αιώνα ο Aetius, ένας γιατρός στην Κωνσταντινούπολη, περιέγραψε μια χειρουργική θεραπεία για το πτερύγιο.

Κατά την διάρκεια του 19^{ου} αιώνα, πολλές θεωρίες προτάθηκαν. Ο Richter το 1804 πρώτος ανέφερε ότι του πτερυγίου πάντα προηγούνταν ένα στεάτιο. Ο Scarpa το 1816 θεώρησε το πτερύγιο ως «ένα συμπαγές και πεπαχυσμένο επιθήλιο προερχόμενο από χρόνια επιπεφυκίτιδα». Ο Arlt το 1845 σκέφτηκε ότι το πτερύγιο σχηματιζόταν από «μια πτυχή του επιπεφυκότα που συμφύοταν σ' ένα κερατοειδικό έλκος». Αυτή είναι πιθανώς η δεύτερη μορφή πτερυγίου που περιγράφηκε απ' τον Winther το 1856 και σήμερα είναι γνωστή ως ψευδοπτερύγιο. (Το ψευδοπτερύγιο μπορεί να διαφοροδιαγνωστεί από ένα αληθές πτερύγιο καθώς συμφύεται μόνο στην κορυφή του, ενώ υπάρχει μια γέφυρα στο limbus κάτω από την οποία μπορεί να περάσει μήλη.)

Στα 1866 ο Winther ανέφερε ότι παρήγαγε ένα τεχνητό πτερύγιο απολινώνοντας τις ακτινωτές φλέβες ενός πειραματόζωου, αλλά αυτό δεν αποδείχθηκε ποτέ, και η θεωρία του «της θρόμβωσης των επιπεφυκοτικών φλεβών» δεν υποστηρίχτηκε πια.

Ο Schreiter το 1872, πρότεινε μια νεοπλασματική θεωρία, υποστηρίζοντας ότι το πτερύγιο ήταν ένας " πολυποειδής όγκος του επιπεφυκότα" (το ίδιο υποστήριξε και ο Redslob, 1933).



Στα 1880 ο Poncet αξίωσε ότι μπορούσε να παρατηρήσει σπόρια δονακίου στην κεφαλή του πτερυγίου. Ο Stelwagcarion πίστευε ότι του πτερυγίου προηγούνταν ένα ερπητικό έλκος (είναι πιθανό ότι αναφέρονταν στην κατάσταση που είναι πια γνωστή ως ψευδοπτερύγιο).

Ο Theobald στα 1887 ενοχοποίησε την υπεραιμία του επιπεφυκότα, προκύπτουσα από κόπωση των έσω και έξω ορθών μυών, ως αιτιολογία του πτερυγίου. Στα 1889 ο Bond θεώρησε ότι οι πτυχές του επιπεφυκότα που παράγονται στους υπερήλικες με χαλαρό επιπεφυκότα, λόγω της φυσιολογικής διαδικασίας βλεφαρισμού, ήταν αποφασιστικής σημασίας για την δημιουργία πτερυγίου. Αυτές οι θεωρίες δεν έτυχαν περαιτέρω προσοχής και υποστήριξης και δεν εξηγούν την γεωγραφική επίπτωση του πτερυγίου.

Στα 1892 ο Fuchs - «ο πατέρας του πτερυγίου» - προχώρησε στην έκδοση του βιβλίου "Uber das Pterygium" στο οποίο υποστήριξε την θεωρία του Richter (1804), ότι του πτερυγίου πάντα προηγούνταν ένα στεάτιο. Επιπρόσθετα, δήλωσε ότι το πτερύγιο ποτέ δεν περνά την μέση γραμμή του κερατοειδούς και ότι το κροταφικό πτερύγιο δεν εμφανίζεται ποτέ χωρίς να υπάρχει και ρινικό. Σπάνιες εξαιρέσεις στις δύο προηγούμενες δηλώσεις δημοσιεύτηκαν στην βιβλιογραφία: Fritz (1955), Duke-Elder (1965), Detels & Dhir (1967), Mamo (1968).

Ο Fuchs υπέθεσε ότι το στεάτιο κατά κάποιο τρόπο προκαλούσε μια μεταβολή στο αιματικό πλάσμα το οποίο διαπερνούσε τον κερατοειδή, προκαλώντας λύση της μεμβράνης του Bowman και διείσδυση απ' το στεάτιο. Το 1898 ο Hubner δήλωνε με έμφαση ότι το πτερύγιο μπορούσε να εμφανιστεί ανεξάρτητα απ' το στεάτιο και ότι συσχετιζόταν με ειδικές εκφυλιστικές αλλοιώσεις στον κερατοειδή.

Το 1915 ο Newman άρχισε να ερευνά την κληρονομικότητα του πτερυγίου. Τον ακολούθησαν με ανάλογα συμπεράσματα πλήθος ερευνητών (Kerkenezon 1956, Hilgers 1960, Jacklin 1964, Murken & Danheim 1965). Η μελέτη των γενεαλογικών δέντρων οδήγησε στο συμπέρασμα της ύπαρξης ενός επικρατούντος γονιδίου για το πτερύγιο, με μειωμένη όμως διεισδυτικότητα (Σχήμα 2).

Ο Sedan το 1932 διερεύνησε την σχέση μεταξύ πτερυγίου και τραχώματος. Κατέληξε στο συμπέρασμα ότι ήταν «ανταγωνιστικά» και ότι ο «τραχωματικός κερατοειδής παρουσίαζε μια ειδική αντίσταση στο πτερύγιο». Όμως οι Parthasarthy & Gupta (1967) δεν κατάφεραν να βρουν την σχέση ανάμεσα στα δύο νοσήματα.

Οι Mergot de Treigny & Coïppe, στην μονογραφία τους (1933), σε μια ανασκόπηση της βιβλιογραφίας κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το πτερύγιο ήταν πιο συχνό στις ζεστές χώρες με ξηρασία, σκόνη, ηλιοφάνεια και θερμούς ανέμους.

Το 1936 οι Diponegoro & Mulock-Houwer ενέπλεξαν την υπέρυθρη ακτινοβολία που αντανακλώνταν από την επιφάνεια της γης αλλά κατέδειξαν επίσης ότι το πτερύγιο εμφανίζεται σε περιοχές με αυξημένο ποσοστό σκόνης στην ατμόσφαιρα. Το τελευταίο υποστήριξε και ο Dimitry (1937).

Ο Doherty το 1941, πρότεινε ότι το πτερύγιο ήταν ένα κάλεσμα στην φύση να προμηθεύσει μια νυκτική μεμβράνη στον ανθρώπινο οφθαλμό, ανάλογη του τρίτου βλεφάρου ("palpebra tertia") των ζώων.

Το 1945, 3000 χρόνια αφότου ο Susruta πρώτος θεώρησε την διατροφή ως αιτία του πτερυγίου, οι Beard & Dimitry πρότειναν την ανεπάρκεια χολίνης και στα 1954 ο Ascher συνέδεσε το πτερύγιο με την πελλάγρα. Πάραυτα, η διατροφική θεωρία δεν υποστηρίχτηκε πια.

Το 1949 ο Friede υποστήριξε την θεωρία του Scarpa (1816) της χρόνιας φλεγμονής και υπέδειξε την χρόνια καταρροϊκή επιπεφυκίτιδα. Ο Gerundo, το 1951, απομόνωσε τον βάκιλλο Morax-Axenfeld σε γωνιαία επιπεφυκίτιδα, σε 3 από 25



περιπτώσεις πτερυγίου και συμπέρανε ότι ο βάκιλλος πυροδότησε την αρχική φλεγμονή.

Ο Kamel το 1954 πρότεινε ότι το πτερύγιο προκύπτει ως αποτέλεσμα μιας «χρόνιας έκθεσης σε ερεθισμό από κερατοεπιπεφυκίτιδα», αλλά δεν καθόρισε την φύση των ερεθιστικών παραγόντων.

Το 1956 ο Kerkenezov ενοχοποίησε την υπεριώδη ακτινοβολία ως αίτιο για το πτερύγιο και βρήκε σημαντικό ποσοστό υπερκεράτωσης στους ασθενείς με πτερύγιο. Η θεωρία του στηρίχτηκε από τον Cameron το 1965 στην μονογραφία του "Pterygium throughout the world." Ο συγγραφέας χαρτογράφησε μάλιστα την επίπτωση του πτερυγίου παγκοσμίως, δείχνοντας ότι η νόσος παρουσίαζε συγκέντρωση στην περί τον Ισημερινό περιοχή και σε γεωγραφικό πλάτος 40° εκατέρωθεν, με αύξηση της επίπτωσης πλησιέστερα στον Ισημερινό (Σχήμα 1). Μάλιστα ο Cameron εξήγησε ότι οι διαφορές στην επίπτωση του πτερυγίου σε δεδομένο γεωγραφικό πλάτος οφειλόταν σε διαφορετική επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας εξαιτίας άλλων παραγόντων, όπως το ύψος από την επιφάνεια της θάλασσας, τα επίπεδα νέφωσης και το ποσό σκόνης και ρύπανσης στην ατμόσφαιρα. Η αυξημένη βλάστηση επίσης θεωρήθηκε ότι προστατεύει από την υπεριώδη ακτινοβολία ενώ το αντανάκλων έδαφος, όπως άμμος, χιόνι και νερό αυξάνει λόγω της αντανάκλασης το ποσοστό της υπεριώδους ακτινοβολίας.

Το 1967 οι Detels & Dhir έδειξαν μια σημαντική αύξηση της επίπτωσης του πτερυγίου ανάμεσα στους εργάτες κλειστών αλευρόμυλων, και συμπέραναν ότι δεν ήταν μόνη η υπεριώδης ακτινοβολία, αιτία δημιουργίας πτερυγίου. Οι Sinopoli et al. (1969) δημοσίευσαν ένα άρθρο για την επίπτωση του πτερυγίου στους ανθρακωρύχους του Rio Turbio.

Έπειτα από μελέτη πτερυγίων και στεατίων στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διαπιστώθηκε υαλοειδής εκφύλιση λόγω συσσώρευσης υλικού προερχομένου από εκφυλισμένες ίνες κολλαγόνου, ανώμαλα επιθηλιακά κύτταρα και αποπίπτουσα θεμέλιο ουσία. Επίσης αναφέρθηκε η ύπαρξη ηωσινόφιλου κοκκιωματώδους υλικού μη σχετιζομένου με το προυπάρχον κολλαγόνο (Hogan – Avagado 1967)

Μετά από ιστολογική και ιστοχημική μελέτη διατυπώθηκε η άποψη ότι το πτερύγιο είναι αποτέλεσμα δυστροφικών αλλαγών του τύπου της υαλοειδούς εκφύλισης των ελαστικών ινών και συσσώρευσης υαλίνης στην ρινική περιοχή της μεσοβλεφαρίου σχισμής και η οποία αφορά τους εκεί γειτνιάζοντες ιστούς: κερατοειδή, σκληροκερατοειδές όριο και επιπεφυκότα. Θεωρήθηκε ότι οι δυστροφικές αλλαγές οφείλονται σε εξωτερικούς ερεθιστικούς παράγοντες και ακολουθούνται από ενεργό υπερπλαστική δραστηριότητα (B.Cilova-Athanasova 1971)

Άλλες ιστολογικές μελέτες έδειξαν ύπαρξη ενεργών ινοβλαστών και καταστροφή της μεμβράνης Bowman του προσβεβλημένου κερατοειδούς (Cameron 1983).

Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διαπιστώθηκε ότι σημαντικό μέρος των συστατικών πτερυγίου και στεατίου είναι αποτέλεσμα νεοσυντιθέμενων πρόδρομων ελαστικών ινών και ελαστικών ινών με ανώμαλη ωρίμανση (ελαστοδυσπλασία), που υποπίπτουν σε δευτερογενή εκφύλιση (ελαστοδυσπλασία) (Austin et al 1983).

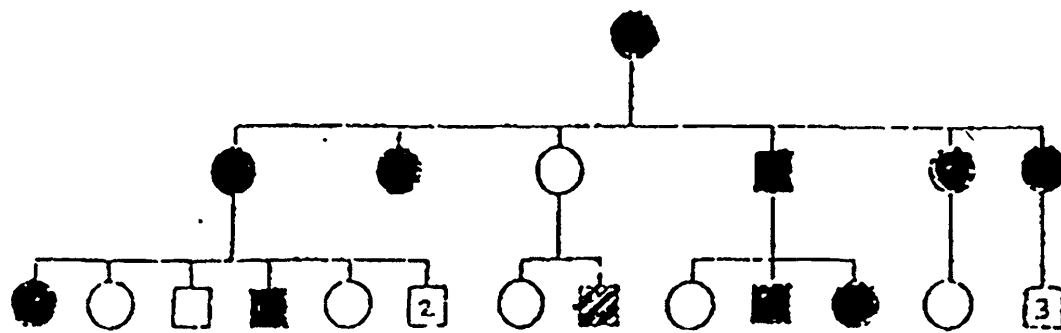
Μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες στην Αυστραλία υπέδειξαν τον αιτιολογικό ρόλο των κλιματολογικών συνθηκών και ειδικά της υπεριώδους ακτινοβολίας (Moran 1984). Το ίδιο έδειξαν μελέτες σε οξυγονοκολλητές (Ishito Karai 1984).

Η οικογενής προδιάθεση του πτερυγίου επανέρχεται στο προσκήνιο με μελέτη γενεαλογικών δέντρων (Zhang 1987).



Η «δημιουργία» σε πειραματόζωα «μοντελοποιείται» και ενδυναμώνεται η άποψη για τον αιτιολογικό ρόλο της υπεριώδους ακτινοβολίας (Kwok & Coroneo 1994). Ο ρόλος της UVA επιβεβαιώνεται με επιδημιολογικές μελέτες (Taylor 1995).

Σχήμα 2: Γενεαλογικά δέντρα, όπου φαίνεται η κληρονομικότητα ή ο οικογενής χαρακτήρας του πτερυγίου.



■ ● Pterygium

▨ Pinguecula

PTERYGIUM
Dominant heredity (after Hilgers, 1960)

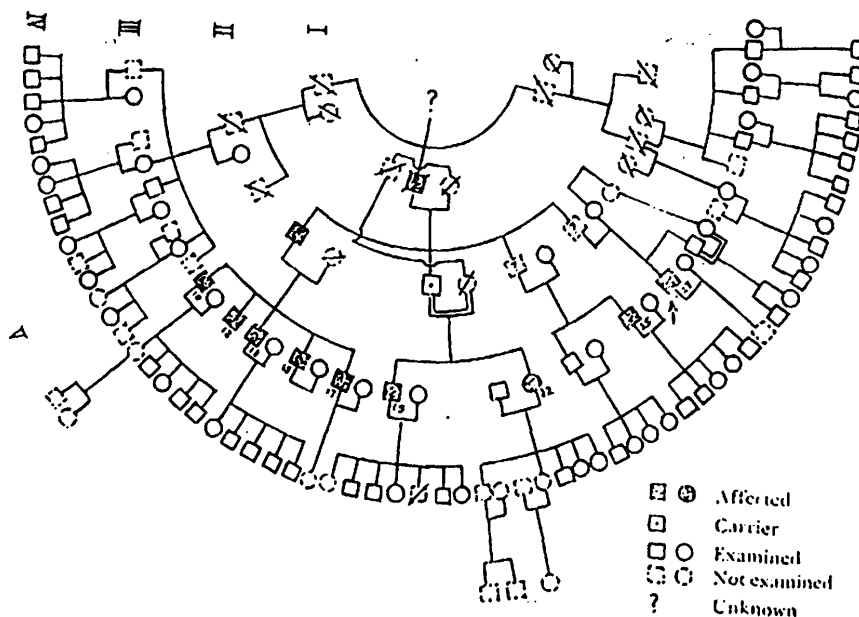


Fig. 1.

A pedigree of pterygium



ΝΕΟΤΕΡΕΣ ΑΝΤΙΛΗΨΕΙΣ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

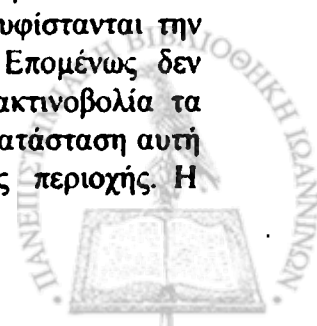
Σχετικά με την παθογένεια του πτερυγίου πραγματοποιήθηκε και υπάρχει σε εξέλιξη μεγάλος αριθμός ερευνητικών προσπαθειών, οι οποίες καλύπτουν ποικίλλες πτυχές του προβλήματος, όπως τον μηχανισμό δράσεως του υπεριώδους φωτός της ηλιακής ακτινοβολίας, την πιθανή συμμετοχή άλλων παραγόντων όπως η ατομική ευαισθησία στην υπεριώδη ακτινοβολία και ο τρόπος με τον οποίο αυτή εκφράζεται, καθώς και το ρόλο των παραγόντων του ιστικού υποστρώματος, δηλαδή των διαφόρων ουσιών που εκκρίνονται από την κυτταρική δραστηριότητα στους εμπλεκόμενους ιστούς.

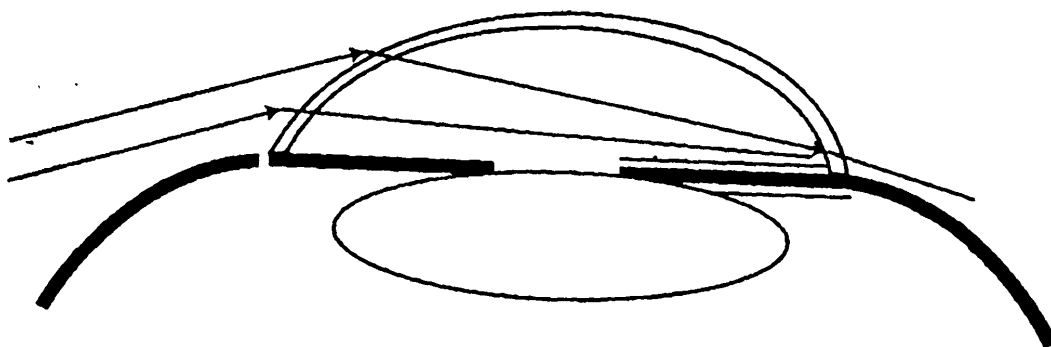
Όπως δείχνει η μέχρι σήμερα ιστορία της έρευνας του, το πτερύγιο είναι ως προς την παθογένειά του πολυπαραγοντική νόσος, με άλλους αιτιολογικούς παράγοντες να είναι πιο ξεκάθαρα κατανοητοί και άλλους λιγότερο, σε διαφορετικό κατά περίπτωση βαθμό.

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες είναι πάντα στην πρώτη γραμμή με σημαντικότερη την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας σε συνδυασμό βέβαια πάντα με άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η ζέστη, η ξηρασία, η σκόνη, η ρυπογόνος ατμόσφαιρα, που συντηρούν και επιδεινώνουν την ξηροφθαλμία.

Πάντως μπορεί να πει κανείς ότι το πτερύγιο σε σχέση με άλλα νοσήματα παρόμοιου τύπου, είναι το περισσότερο προδήλως σχετιζόμενο με τον ήλιο, (Moran & Hollows 1984, Kwork & Coroneo 1994, Threffal 1999) και θεωρείται ότι αποτελεί ένα είδος αυξημένης ανθρώπινης ευαισθησίας στην καθημερινή επίδραση του υπεριώδους φάσματος της ηλιακής ακτινοβολίας. Υπάρχει η παραδοχή ότι η ακτινοβολία αυτή συσσωρεύεται στο σκληροκερατοειδικό όριο με τον ακόλουθο μηχανισμό: Το πλείστον του διάσπαρτου φωτός που εισέρχεται στο πρόσθιο τμήμα του ματιού, συγκεντρώνεται στην περιφέρεια του κερατοειδούς, όπου και δρα. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα την συνάθροιση της φωτεινής ενέργειας, η οποία συνήθως είναι μεγαλύτερη κατά 20 φορές στο ρινικό τμήμα του σκληροκερατοειδούς ορίου (Σχήμα 3). Η τεράστια αυτή συγκέντρωση της διαχύτου ακτινοβολίας ρινικώς, εξηγείται από το γεγονός ότι η μύτη εμποδίζει το μείζον της διάχυτης ακτινοβολίας να εισέλθει στον οφθαλμό (Coroneo 1993). Αυτό ερμηνεύει συνακόλουθα και την στατιστικά συντριπτική εμφάνιση του πτερυγίου στο ρινικό τμήμα του σκληροκερατοειδούς ορίου. Η οδός που ακολουθεί το διάχυτο φως στην πορεία του αυτή είναι διαθλαστική (Coroneo 1993). Η συνολική έντασή του που τελικώς εστιάζεται στην περιφέρεια του κερατοειδούς εξαρτάται από την μορφή του κερατοειδούς του κάθε ανθρώπου, καθώς και το βάθος του προσθίου θαλάμου του οφθαλμού (Coroneo 1993). Το φαινόμενο της συγκέντρωσης του διάχυτου φωτός στην περιφέρεια καταδεικνύεται πολύ εύκολα με το ορατό φως, αν κανείς ρίξει το φως μιας φωτεινής πηγής από την κροταφική πλευρά του οφθαλμού, οπότε διαπιστώνει ότι δημιουργείται εστίαση φωτός στο ρινικό μέρος του σκληροκερατοειδούς ορίου. Το ίδιο έχει αποδειχθεί ότι συμβαίνει με το υπεριώδες φως. Επομένως φαίνεται ότι η ανατομική διαμόρφωση του οφθαλμού είναι αυτή που καθορίζει το συνολικό ποσό της διάχυτης φωτεινής ενέργειας του προσθίου θαλάμου, που εστιάζεται και δρα καθημερινά στο σκληροκερατοειδές όριο.

Υπάρχει σήμερα η παραδοχή ότι με αυτόν τον τρόπο τα βασικά κύτταρα του επιθηλίου του σκληροκερατοειδούς ορίου, ανάμεσα στα οποία παρεμβάλλονται και τα αρχέγονα επιθηλιακά κύτταρα (stem cells) της περιοχής αυτής, υφίστανται την δράση της ηλιακής ακτινοβολίας, διαθλαστικά (Coroneo 1993). Επομένως δεν προστατεύονται από το επιπολής επιθήλιο, αφού η διαθλαστική ακτινοβολία τα βομβαρδίζει από την οπίσθια πλευρά τους. Στα ευαίσθητα άτομα, η κατάσταση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την αλλοίωση των αρχέγονων κυττάρων της περιοχής. Η





Σχήμα 3: Το διάχυτο φως εισέρχεται κυρίως από την κροταφική πλευρά, διότι από εκεί δεν υπάρχει ουδέν ανατομικό επίπεδο, και έτσι εστιάζεται κυρίως στο ρινικό τμήμα του σκληροκερατοειδούς ορίου. (Σχηματική παραλλαγή από Coroneo)

αλλοίωση αυτή έχει ως λειτουργικό αποτέλεσμα την διάσπαση του σκληροκερατοειδικού φραγμού. Πιο συγκεκριμένα η υπεριώδης ακτινοβολία επηρεάζει κυρίως τις πρωτεΐνες και το DNA των κερατικών κυττάρων και επηρεάζει έτσι σε βασικά σημεία δομής και λειτουργίας τα stem cells, αλλάζοντας την ικανότητά τους, ως προς την ποιοτική και ποσοτική αναπαραγωγή των κυττάρων στην περιοχή. Ταυτόχρονα αλλάζουν και οι πρωτεΐνες-αντιγόνα επιφανείας των stem cells, ώστε να μπαίνουν σε λειτουργία ανοσολογικές απαντήσεις στα τροποποιημένα αυτά αντιγόνα.

Είναι δε ενδιαφέρον και ιδιαίτερα σημαντικό το γεγονός που ήδη προαναφέραμε, ότι αλλοιωμένα αρχέγονα κύτταρα του σκληροκερατοειδούς ορίου ανευρίσκονται στην κεφαλή του πτερυγίου, η οποία αποτελεί και τον οδηγό της πορείας του (Lim et al 1998).

Υπάρχουν δημοσιευμένες από πολλών ετών, ισχυρές επιδημιολογικές ενδείξεις, που συνδέουν την έκθεση του οφθαλμού στο υπεριώδες φάσμα της ηλιακής ακτινοβολίας με την ανάπτυξη του πτερυγίου. (Hilgers 1960, Elliot 1966, Qi 1996, Orde Pechar 1972, Moran & Hollows 1984, Coroneo 1993, Kwork & Coroneo 1994, Threffal 1999, coroneo et al 1999, Tenkate 1999). Περαιτέρω ενδείξεις αυτής της σχέσης δημοσιεύτηκαν πρόσφατα, όπου καταδεικνύεται ο βαθμός σύνδεσης μεταξύ του πτερυγίου και άλλων βλαβών, που σχετίζονται με έκθεση στον ήλιο. (Pancharakesan et al 1998, Threffal & English 1999). Έχει καταδεχθεί σημαντική στατιστική συσχέτιση μεταξύ στεατίου και φλοιώδους καταρράκτη, καθώς και μεταξύ πτερυγίου και οπίσθιου υποκαψικού καταρράκτη. Τα ευρήματα αυτά ερμηνεύθηκαν ως έμμεση απόδειξη συσχετισμού της έκθεσης στην υπεριώδη ακτινοβολία με την καταρρακτογένεση. Επίσης κατοχυρώνεται η άποψη ότι οι ιδιαίτερες κλιματολογικές και γεωγραφικές και γεωφυσικές συνθήκες τροποποιούν ποσοτικά στο ίδιο γεωγραφικό πλάτος την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας και συνεπώς τις επιπτώσεις της σ' ότι αφορά την δημιουργία πτερυγίου. Έτσι π.χ. στους ιθαγενείς που ζουν στην λεκάνη του άνω Αμαζονίου, τα πτερύγια εμφανίζονται πολύ συχνότερα σ' αυτούς που διαβιούν στην όχθη του ποταμού, σε σχέση με τους κατοίκους του δάσους, διότι θεωρείται ότι οι πρώτοι εκτίθενται περισσότερο στο υπεριώδες φως (Garrido et al 1998).



Περαιτέρω στοιχεία για τον ρόλο της υπεριώδους ακτινοβολίας έχουν αναζητηθεί με την μελέτη των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Οι όποιες αναφορές στο γενετικό υλικό μας παραπέμπουν βέβαια και στις μέχρι σήμερα παραδοχές για την κληρονομικότητα του πτερυγίου, για οικογενή προδιάθεση και κληρονόμηση της προδιάθεσης μάλλον του οφθαλμού να αναπτύσσει την νοσολογική αυτή οντότητα (Μάνθος 1999). Η συνήθης μέθοδος που χρησιμοποιείται για την εντόπιση θέσεων στο γονιδίωμα υποψηφίων ογκοκατασταλτικών γονιδίων, είναι να ανιχνευθεί η απώλεια της ετεροζυγωτίας με την χρήση μικροδορυφορικών σημαντών υψηλής πολυμορφίας. Επίσης γνωστό δεδομένο των νεοπλασματικών κυττάρων είναι ο αυξημένος ρυθμός μεταλλάξεων, αποτυπούμενος στην αστάθεια του μικροδορυφορικού DNA. Βρέθηκε ότι η απώλεια της ετεροζυγωτίας στο πτερύγιο είναι συχνή (ποσοστό 48% στο 9p, και ποσοστό 42% στο 17q), ενώ η μικροδορυφορική αστάθεια του DNA είναι σπάνια (Detorakis et al 2000). Ακόμη, διαπιστώθηκε ότι η απώλεια της ετεροζυγωτίας στο '9q31-33 είναι συχνότερη σε υποτροπιάζοντα πτερύγια και συσχετίστηκε με παράγοντες κινδύνου, όπως η νεανική ηλικία και η διαμονή σε μεγάλα υψόμετρα (Detorakis et al 2000). Τα παραπάνω καταδεικνύουν την πιθανότητα να επιτευχθεί πρόβλεψη για την υποτροπή του πτερυγίου, εφόσον υπάρξουν σαφέστερα στοιχεία, τεκμηριωμένα στατιστικά. Η ερευνητική αυτή προσπάθεια θα πρέπει να διανοίξει πολλές οδούς μελέτης της παθογένειας, της πρόληψης, της πρόγνωσης και της θεραπείας της νόσου. Υπάρχει ήδη βιβλιογραφική καταγραφή ότι το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 του χρωμοσώματος 17, θεωρείται ευαίσθητο στην υπεριώδη ακτινοβολία. Πολλές μελέτες δίνουν ποικίλα και συχνά αντικρουόμενα στοιχεία για το κατά πόσο το p53 παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του πτερυγίου (Hainaut & Milner 1993, Tan et al 1998). Το γεγονός όμως παραμένει, ότι με την πάροδο του χρόνου και με την διεύρυνση της έρευνας προς την κατεύθυνση αυτή σύντομα θα φανούν τα σημεία δράσεως της υπεριώδους ακτινοβολίας, με όλες τις προγνωστικές και θεραπευτικές δυνατότητες που αυτό συνεπάγεται. Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει ιδιαίτερη μνεία για τον ρόλο των παραγόντων ανάπτυξης στο πτερύγιο (Μάνθος 1999). Στα μόνιμα και στα φλεγμονώδη κύτταρα των ιστών του πτερυγίου, καθώς και σε καλλιέργειες ινοβλαστών προερχομένων από πτερύγια, έχει αποδειχθεί τα τελευταία χρόνια η ύπαρξη αυξητικών παραγόντων ανάπτυξης και κυτοκινών. Οι αυξητικοί παράγοντες (growth factors) είναι ουσίες εκκρινόμενες από τα κύτταρα. Στα πτερύγια έχουν εντοπιστεί αρκετά είδη από αυτούς, κυρίως ο ινοβλαστικός παράγοντας ανάπτυξης, ο αιμοπεταλιακός παράγοντας ανάπτυξης, ο παράγων-β μεταμόρφωσης της ανάπτυξης και ο παράγων-α νέκρωσης όγκου. Φαίνεται ότι οι κυτοκίνες και οι αυξητικοί παράγοντες συμβάλλουν στην έντονη κυτταρική παραγωγή, στην φλεγμονή, στον μετασχηματισμό του συνδετικού ιστού, και στην αγγειογένεση, που απαντάται στα πτερύγια (Kria et al 1998).

Είναι σημαντικό το γεγονός ότι οι κυτοκίνες ρυθμίζουν ένα είδος πρωτεολυτικών ενζύμων, που ονομάζονται μεταλλοπρωτεϊνάσες του υποστρώματος (matrix), οι οποίες δρουν εναντίον όλων των εξωκυτταρικών στοιχείων (Johnson et al 1998). Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες του υποστρώματος έχουν προσφάτως εμπλακεί στους μηχανισμούς της διηθητικής επέκτασης των όγκων και της μετάστασής τους, στις καταστροφές των αρθρώσεων που συμβαίνουν σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα και στην αποδόμηση του υποστρώματος του τοιχώματος του οφθαλμού στην νεκρωτική σκληρίτιδα (Di Girolamo et al 1997; 1998) και στην ραγοειδίτιδα. (Di Girolamo et al 1996). Οι πρωτεϊνάσες αυτές εικάζεται ότι μπορεί να παίζουν ρόλο στην παθογένεια των πτερυγίων. Έχει γίνει η υπόθεση (Dushcu & Reid 1997) ότι κολλαγενάση, που προέρχεται από τους ινοβλάστες, εμπλέκεται ενεργώς στη

δημιουργία των πτερυγίων, αλλά δεν έχει γίνει ευρεία προσπάθεια για εντόπιση του ενζύμου αυτού, σε νοσούντα ιστό. Σε μικρό αριθμό μελετών έχει γίνει εξετασθεί ο πιθανός ρόλος των μεταλλοπρωτεϊνών του υποστρώματος στο πτερύγιο, στις οποίες διαπιστώθηκε αυξημένη έκφραση ζελατινάσης Β (μεταλλοπρωτεϊνάση-9 υποστρώματος), σε αντίθεση με τα ευρήματα στον φυσιολογικό επιπεφυκότα (Liu et al 1998, Coroneo et al 1999).

Σε πρόσφατες μελέτες επί του συνδετικού ιστού πτερυγίων διαπιστώθηκαν ενδοεπιθηλιακά τριχοειδή (Seifert & Sekundo 1998) και εντοπίστηκε βασικός ινοβλαστικός αυξητικός παράγοντας στα ιστιοκύτταρα, στα αιμαγγεία και στο επιθήλιο των πτερυγίων. Παρά το γεγονός ότι τα ενδοεπιθηλιακά τριχοειδή σπάνια ανευρίσκονται σε επιθήλια, αυτά εντοπίστηκαν στην κορυφή 11 πτερυγίων, από σύνολο 26 εξετασθέντων, δηλαδή σε ποσοστό 42.3 %. Το εύρημα αυτό έχει αναφερθεί βιβλιογραφικά στην επιφάνεια του οφθαλμού μόνο μετά από έγκαυμα εξ ασβέστου. Για την ερμηνεία του ευρήματος γίνεται η υπόθεση ότι ο περιαγγειακός συνδετικός ιστός, και τα αντίστοιχα συνοδά ελλείμματα στη βασική μεμβράνη του επιθηλίου, δημιουργούν ένα μονοπάτι το οποίο ακολουθούν οι ινοβλάστες, για τη μετανάστευσή τους. Επιπλέον με βάση τις κυτταροκαλλιέργειες, έχει βρεθεί ότι οι ινοβλάστες παίζουν ιδιαίτερο ρόλο στην υποτροπή των πτερυγίων. Κατεδείχθη ακόμη ότι υπάρχει ισχυρότερη ανοσοαντιδραστικότητα στον βασικό ινοβλαστικό αυξητικό παράγοντα από τα υποτροπιάζοντα πτερύγια, σε σχέση με τα πρωτοπαθή πτερύγια (Kgia et al 1998). Ακριβώς το αντίθετο βρέθηκε για τον αιμοπεταλιακό παράγοντα ανάπτυξης. Η ανεύρεση αυξητικών παραγόντων στους ινοβλάστες του φυσιολογικού επιπεφυκότα ήταν σπάνια. Ο βασικός ινοβλαστικός παράγων ανάπτυξης και ο παράγων-β1 μεταμορφώσεως της ανάπτυξης, βρέθηκαν σε υλικό ελεύθερο ορού, προερχόμενο τόσο από πρωτοπαθή όσο και από υποτροπιάζοντα πτερύγια. Τα ευρήματα αποδεικνύουν ότι οι παραπάνω παράγοντες απελευθερώνονται από του ινοβλάστες του πτερυγίου. Αν αυτό πράγματι συμβαίνει *in vivo*, τότε η καλύτερη χειρουργική μέθοδος είναι αυτή που εξαιρεί όσο το δυνατόν μεγαλύτερη ποσότητα συνδετικού ιστού, με κατά το δυνατόν ελάχιστο τραυματισμό των γύρω ιστών, όπως τα έλυτρα των οφθαλμικών μυών. Επίσης έτσι μπορεί να εξηγηθεί το γεγονός ότι το σαρκώδες πτερύγιο είναι σοβαρός παράγων κινδύνου υποτροπής (Tan et al 1997).

Τελευταίες βιβλιογραφικές αναφορές εμπλέκουν και τα αρχέγονα κύτταρα των κοιλωμάτων του επιπεφυκότα, (Lavker et al 1998) με μόνη ένδειξη όμως την κλινική παρατήρηση, ότι το κοίλωμα μπορεί να αποφράσσεται σε κάποιες περιπτώσεις πτερυγίων.

Η σύνδεση των παραπάνω εκτεθέντων ευρημάτων έχει οδηγήσει στην θεώρηση ότι το πτερύγιο εξελίσσεται σε δύο στάδια (Μάνθος 1999). Στο αρχικό στάδιο δημιουργείται μια προοδευτική διάσπαση του σκληροκερατοειδικού φραγμού. Ο φραγμός αυτός υπάρχει φυσιολογικά μεταξύ του κερατοειδούς και του επιπεφυκότα στην αντίστοιχη ανατομική θέση δηλαδή στο Limbus, την περιοχή που αναγεννά επιθηλιακά κύτταρα με μητρικά κύτταρα τα stem cells, και με ενδιάμεσα κύτταρα τριών γενεών. Η διάσπαση ευνοείται από την μεγάλη έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία του ηλιακού φωτός, συνδυασμένη με την πιθανή ατομική ευαισθησία αντίστοιχων γονιδίων στα αρχέγονα κύτταρα του επιθηλίου, στο σκληροκερατοειδές όριο. Ως γνωστόν η δυσλειτουργία, όπως βέβαια και η απλασία ή απώλεια, των stem cells οδηγεί σε ανώμαλη ανάπτυξη του επιθηλίου. Έτσι επιτελείται μια προοδευτική διείσδυση του επιπεφυκότα επί του κερατοειδούς, που ορισμένοι ερευνητές χαρακτηρίζουν ως “επιπεφυκοτοποίηση” του κερατοειδούς. Τα χαρακτηριστικά αυτού του ιστού, που έρπει αλλά και διεισδύει στον κερατοειδή, είναι η εκτεταμένη



κυτταρική παραγωγή, η φλεγμονώδης αντίδραση, ο μετασχηματισμός του συνδετικού ιστού και η αγγειογένεση. Στην δημιουργία των χαρακτηριστικών αυτών συμβάλλει η παρουσία των κυτοκινών και παραγόντων ανάπτυξης από τον κυτταρικό πληθυσμό, που υπάρχει στον συνδετικό ιστό του περυγίου και στο επιθήλιο που το καλύπτει. Η νεότερη αυτή αντίληψη έρχεται σε αντίθεση με την παλαιότερη θεώρηση ότι το περύγιο αλλά και το στεάτιο, αποτελούν απλώς εκφυλιστικές αλλοιώσεις.

Ο ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ ΠΤΕΡΥΓΙΟΥ

Μέσα στην ιδιαίτερα πλούσια βιβλιογραφία για το περύγιο οι αναφορές στον ρόλο των ανοσοποιητικών μηχανισμών στην παθογένεια του περυγίου είναι σχετικά λίγες και πρόσφατες.

Ο Pinkerton (1984) ανέφερε ότι πιθανώς στην παθογένεια του περυγίου συμβάλλει κάποιος ανοσολογικός μηχανισμός, πιθανώς τύπου I υπερευαισθησία.

Για την ανοσολογική βάση της παθογένειας του περυγίου ξαναγίνεται λόγος από τον Salomon (1985), που διαπιστώνει κοινά σημεία στα ανοσολογικά ευρήματα τόσο στο περύγιο, όσο και στην εαρινή επιπεφυκίτιδα και στην επιπεφυκίτιδα γιγαντιαίων θηλών. Πιο συγκεκριμένα, ανευρέθησαν υψηλά επίπεδα IgE και IgG, λεμφοκύτταρα, βασεόφιλη και ηωσινόφιλη διήθηση και υποδείχθηκαν «βασικά» κοινά αίτια, δηλαδή υπεριώδης ακτινοβολία και μηχανικοί παράγοντες, όπως σκόνη, γύρη, χρόνιος μηχανικός ερεθισμός (π.χ. φακοί επαφής), ξηρασία και αλλεργική αντίδραση.

Ανοσοϊστοχημικές μελέτες επιβεβαιώνουν την ύπαρξη διηθήσεων από T-λεμφοκύτταρα (Salomon 1985, Lin 1993, Lin & Yang 1993, Joachim – Velogianni et al 1995), ανοσοσφαιρίνες, βασεόφιλα κύτταρα του ανοσοποιητικού (mast cells), και κάνουν λόγο για ανοσολογικούς μηχανισμούς και υπερευαισθησία τύπου I, III και IV (Lin & Dewang 1993).

Ιδιαίτερη μνεία έχει γίνει για τα βασεόφιλα κύτταρα και την πιθανή συνεισφορά τους στην παθογένεια του περυγίου (Butrus et al 1995).

Γενικότερα, έχει πλέον επιβεβαιωθεί η διήθηση του ιστού του περυγίου από πληθυσμούς ανοσοκυττάρων, και πιο συγκεκριμένα από T-λεμφοκύτταρα (με διαταραγμένη και την αναλογία που φυσιολογικά υπάρχει στον επιπεφυκότα), από B-λεμφοκύτταρα-πλάσματοκύτταρα (υποδεικνύουν χρόνιο τύπο φλεγμονής), από μαστοκύτταρα και συμπλήρωμα. Επίσης υπάρχουν αυξημένα ποσοστά αντισωμάτων, και πιο συγκεκριμένα IgG, IgA, IgM και IgE. Πρέπει πάντως να αναφερθεί ότι μελέτες που διεξήχθησαν (Levy 1970) δεν κατάφεραν να εντοπίσουν κυκλοφορούντα αντισώματα έναντι του περυγίου (Μουτσόπουλος 1984).

Κατά την υπερευαισθησία τύπου I (Αλλεργική ή αναφυλακτική αντίδραση) που θεωρείται ότι συμμετέχει στην παθογένεια του περυγίου, επιδρά ερέθισμα από αλλεργιογόνους εξωγενείς παράγοντες, όπως γύρη, σκόνες κλπ. που προκαλούν θυμοεξαρτώμενη ανοσολογική απόκριση. Οι παράγοντες αυτοί περιέχουν αντιγονικά υλικά και έτσι προκαλούν τοπική παραγωγή IgE. Τα συμπλέγματα IgE και αντιγόνων πυροδοτούν την αποδέσμευση ενεργών φαρμακολογικά διαμεσολαβητών από τα μαστοκύτταρα ή τα βασεόφιλα πολυμορφοπύρηνα και αυτοί με την σειρά τους προκαλούν την αποδέσμευση αυξητικών παραγόντων που οδηγεί στην δημιουργία περυγίου. Ένας τέτοιος μεσολαβητής είναι ο ενεργοποιητής των αιμοπεταλίων που προκαλεί συσσώρευση αιμοπεταλίων. Αυτά εκκρίνουν ένα συστατικό που λέγεται «αυξητικός παράγων εξ' αιμοπεταλίων» και αυτός ρυθμίζει τα αποτελέσματα και την δράση του Epidermal growth factor, πολυπεπτιδίου που ενεργοποιεί την αναπαραγωγή των επιδερμικών και επιθηλιακών κυττάρων. Παρότι ελκυστική, η

άποψη αυτή της δημιουργίας του πτερυγίου που βασίζεται στην παρουσία της IgE, δεν μπορεί να σταθεί μόνη της καθώς δεν φαίνεται η σύνδεση με την δια σαφών ενδείξεων εμπλεκόμενη υπερίωδη ακτινοβολία, και επίσης δεν δικαιολογεί την απουσία πτερυγίου σε ατοπικούς ενήλικες σε αυξημένα γεωγραφικά πλάτη.

Στην υπερευαισθησία τύπου III (αντίδραση με τη μεσολάβηση ανοσοσυμπλεγμάτων) που επίσης αναφέρεται να συμβάλλει στην παθογένεια του πτερυγίου, ανευρίσκονται αυξημένα πλασματοκύτταρα, ανοσοσφαιρίνες και συμπλήρωμα (Μουτσόπουλος 1984). Κυκλοφορούντα ανοσοσυμπλέγματα έχουν περιγραφεί σε πολλές ασθένειες, όπως η ορονοσία, τα αυτοάνοσα νοσήματα, οι χρόνιες λοιμώξεις και οι νεοπλασίες. Η ιστική βλάβη οφείλεται στην εναπόθεση των ανοσοσυμπλεγμάτων που προκαλούν φλεγμονή. Οι σύγχρονες απόψεις για την παθογένεια των νόσων από ανοσοσυμπλέγματα συγκλίνουν στην άποψη ότι είναι απαραίτητη η ύπαρξη διαλυτών ανοσοσυμπλεγμάτων για να συμβεί ιστική βλάβη. Η IgG, που είναι το κύριο αντίσωμα που παίρνει μέρος στις αντιδράσεις τύπου III, είναι δισθενής (δηλαδή κάθε μόριό της έχει δύο θέσεις σύνδεσης για ισάριθμα αντιγόνα).

Τα ανοσοσυμπλέγματα ενεργοποιούν το συμπλήρωμα που καταστρέφει το αντιγόνο και με τους ενεργοποιημένους παράγοντές του προκαλεί αγγειοδιαστολή και χημειοταξία. Έτσι συναθροίζονται φαγοκύτταρα που φαγοκυτταρώνουν το αντιγόνο και απελευθερώνουν λυσοσωματικά ένζυμα με αποτέλεσμα βλάβη στους παρακείμενους ιστούς.

Στην υπερευαισθησία τύπου IV (αντίδραση επιβραδυνόμενης ευαισθησίας) ανευρίσκονται T-λεμφοκύτταρα και αυξημένα πλασματοκύτταρα (Μουτσόπουλος 1984). Τα T-λεμφοκύτταρα είναι υπεύθυνα για την κυτταρική ανοσία και τις αντιδράσεις υπερευαισθησίας τύπου IV σε αντίθεση με τις τύπου I αλλεργικές αντιδράσεις που διαμεσολαβούνται από τις ανοσοσφαιρίνες IgE. Η αντίδραση της επιβραδυνόμενης ευαισθησίας συμβαίνει σαν αποτέλεσμα της σύνδεσης ευαισθητοποιημένων T-λεμφοκυττάρων με ειδικά αντιγόνα. Σ' αυτή παρατηρείται έκλυση λεμφοκινών, άμεση κυτταροτοξικότητα ή και τα δύο. Η αντίδραση γίνεται χωρίς την μεσολάβηση αντισώματος ή συμπληρώματος. Καθώς τα T-λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται, παράγονται ουσίες διαμεσολαβητές (παράγοντες ανάπτυξης), που δίνουν ανοβλαστικά ερεθίσματα και οδηγούν στην ανάπτυξη της βλάβης. Το πρώτο στάδιο σε μια τέτοια αντίδραση είναι η σύνδεση του αντιγόνου με ένα μικρό αριθμό T-λεμφοκυττάρων που είναι ειδικά ευαισθητοποιημένα γι' αυτό. Το αρχικό στάδιο ακολουθείται από παραγωγή και απελευθέρωση από αυτά τα T κύτταρα διαλυτών ουσιών, των λεμφοκινών, που όπως αναφέρθηκε έχουν ευρύ φάσμα βιολογικών ιδιοτήτων. Σε γενικές γραμμές, ο ρόλος των λεμφοκινών είναι να ενισχύσουν την αρχική κυτταρική αντίδραση στρατολογώντας άλλα λεμφοκύτταρα (T, και B), να προκαλέσουν πολλαπλασιασμό σε αυτά, να προσελκύσουν πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα και κυρίως να προσελκύσουν, να παγιδεύσουν και να ενεργοποιήσουν μακροφάγα, στο μέρος της βλάβης. Έτσι, με τις λεμφοκίνες και με την απευθείας κυτταροτοξική δράση των ευαισθητοποιημένων T κυττάρων ο οργανισμός προσπαθεί να εντοπίσει και να καταστρέψει τον εισβολέα.

Τα αντιγόνα που μπορούν να προκαλέσουν αντίδραση επιβραδυνόμενης ευαισθησίας είναι μικροοργανισμοί (μικρόβια, ιοί, παράσιτα, μύκητες), καρκινικά κύτταρα, κύτταρα μοσχευμάτων ή και τα κύτταρα του ίδιου του οργανισμού, όπως λ.χ. συμβαίνει στην θυρεοειδίτιδα, τη μυοσίτιδα, τη ρευματοειδή αρθρίτιδα και το σύνδρομο Sjögren. Τέλος μπορεί να είναι διάφορες χημικές ουσίες ή ουσίες φυτών. Ένα δε σπουδαίο χαρακτηριστικό της επιβραδυνόμενης αντίδρασης είναι ότι τα ενεργοποιημένα κύτταρα στην θέση της βλάβης είναι κυτταροτοξικά όχι μόνο



εναντίον κυττάρων που φέρουν αντιγόνα που τα ενεργοποίησαν, αλλά και άλλων κυττάρων.

Η παρουσία Τ-λεμφοκυττάρων στα πτερύγια, καθώς επίσης IgG και IgE, ίσως υποδεικνύει ότι αμφότερες η κυτταρική και η χυμική ανοσία ενέχονται στην παθογένεση του πτερυγίου και ευθύνονται ενδεχομένως για μια χρόνια φλεγμονώδη αντίδραση (Hogan & Alvarado 1967, Salomon 1985, Lin 1993, Lin & Yang 1993).

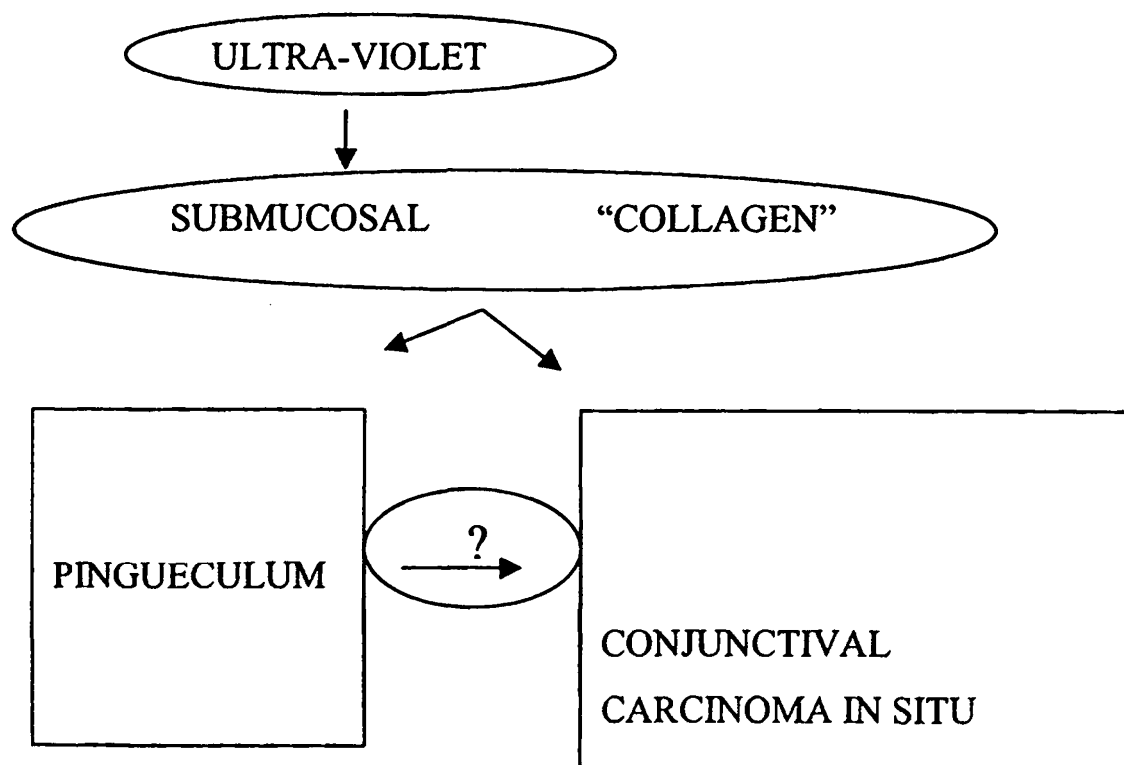
Η πρώτη ορατή κλινική αλλαγή στην κεφαλή του πτερυγίου εμφανίζεται στο επίπεδο της μεμβράνης του Bowman ως μικρές υποστρόγγυλες ανωμαλίες, που προκύπτουν ως εκφύλιση κολλαγόνου. Είναι δελεαστικό να υποτεθεί ότι αυτή προκύπτει από την UV ακτινοβολία (Cilova – Atanasova 1971, Hill & Maske 1989). Η προαναφερθείσα βλάβη θα μπορούσε να οδηγήσει σε μια ενεργοποίηση και εισβολή ινοβλαστών από το limbus σε μια προσπάθεια επιδιόρθωσης της βλάβης. Μια υπερβολική τέτοια απάντηση θα οδηγήσει σε εναπόθεση του ελαστοτικού υλικού και δευτερογενώς σε ελαστοδυσπλασία και ελαστοδυστροφία (Austin et al 1983). Μια παρόμοια σειρά συμβάντων προκύπτει και στην ακτινική ελάσωση του δέρματος και στο στεάτιο, βλάβες με γνωστή σχέση με την υπεριώδη ακτινοβολία (Σχήμα 4). Η αυξημένη κυτταρική δραστηριότητα από μόνη της προάγει την ανάπτυξη αιμοφόρων αγγείων. Επιπλέον όμως έχει ήδη αναφερθεί ότι η νεοαγγείωση του κερατοειδούς συνήθως έπεται φλεγμονής και λευκοκυτταρικής διήθησης. Υποθέτουμε ότι στα «ευαίσθητα» άτομα η ακτινική βλάβη προκαλεί μια αλλοίωση στον κερατοειδή, γεγονός που μπορεί να υποβοηθείται από εξωτερικά αντιγόνα. Ο κατεστραμμένος ιστός αναγνωρίζεται τότε ως «ξένος» και αντιδράσεις υπερευαισθησίας συσσωρεύονται, καταλήγοντας σε χρόνια φλεγμονή. Αρχικά μια εντοπισμένη επιπεφυκίτιδα εμφανίζεται στο σκληροκερατοειδές όριο («χρόνια ερεθιστική επιπεφυκίτις από έκθεση»), συμβάν που σταδιακά οδηγεί αργότερα σε ένα πτερύγιο. Τα Τ-λεμφοκύτταρα που ενέχονται σε αυτή την χρόνια φλεγμονή απελευθερώνουν λεμφοκίνες, οι οποίες είναι γνωστό ότι επάγουν την αγγειογένεση. Η ανάγκεια κατασκευή του κερατοειδούς θα μπορούσε να προφυλλάξει απ' την διάχυση αυτών των αγγειογενετικών παραγόντων και συγκεντρωμένες εστίες αυτών θα ήταν δυνατό να προκαλέσουν νεοαγγείωση εντός ενός ισοσκελούς σχήματος. Η θεωρία αυτή συμπεριλαμβάνει τα ανοσολογικά ευρήματα που περιγράφονται και στηρίζει και την θεωρία του Wong (1978), ότι η αυτόλυση παράγει ένα μίγμα αμινοξέων το οποίο λειτουργεί ως αγγειογενετικός παράγων. Η θεωρία αυτή θέτει ως δεδομένο ότι η βλάβη επάγει μια χρόνια φλεγμονώδη απάντηση, η οποία με την σειρά της είναι η κοινή τελική οδός για την νεοαγγείωση του κερατοειδούς. Μια άλλη πιθανή αιτία για την χρόνια φλεγμονή που προκύπτει στο limbus εμπλέκει τον σχηματισμό dellen στο σημείο αυτό, δευτεροπαθώς, μετά από οίδημα στον παρακείμενο κερατοειδή. Η ταχεία διάσπαση της δακρυϊκής στιβάδας επιβαρύνεται σαφώς λόγω εξάτμισης, από την υψηλή θερμοκρασία και την ξηρασία της ατμόσφαιρας. Ξανά η κοινή οδός θα ήταν η φλεγμονώδης κυτταρική διεργασία που θα οδηγήσει στην αγγειογένεση.

Συμπερασματικά, καταλήγουμε ότι τα ιστορικά, επιδημιολογικά και ερευνητικά δεδομένα οδηγούν στο ότι τα πτερύγια προκύπτουν λόγω χρόνιας επίδρασης της υπεριώδους ακτινοβολίας. Όμως, υπάρχουν στοιχεία που υποδεικνύουν ότι και άλλες μορφές χρόνιου ερεθισμού ίσως παίζουν κάποιο αιτιολογικό ρόλο στην παθογένεια του πτερυγίου. Πληροφορίες που περισυλλέχθηκαν από δυο μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες στην νότια Αφρική υποδεικνύουν ότι τα πτερύγια δεν συσχετίζονται στενά με άλλες χρόνιες ακτινικές βλάβες όπως το στεάτιο ή κλιματική σταγονοειδής κερατοπάθεια (CDK) (Hill & Maske 1989). Επιπρόσθετα, το στεάτιο δεν είναι απαραίτητος προπομπός για την δημιουργία πτερυγίου (Hill & Maske 1989). Η

αυξημένη αγγειοβρίθεια που παρατηρείται στα πτερύγια, αλλά όχι και στα στεάτια και στην CDK, υποδηλώνει ότι η χρόνια φλεγμονή (από οποιαδήποτε αιτία) παίζει ρόλο στην παθογένειά της. Το προκύπτων φλεγμονώδες οίδημα, η διαδικασία επιδιόρθωσης και η κυτταρικάς επαγόμενη αγγειογένεση ευθύνονται για την ινοαγγειακή αντίδραση την τόσο χαρακτηριστική ενός αναπτυσσόμενου πτερυγίου (Hill & Maske 1989).

Όπως έχει ήδη συζητηθεί πιο πάνω, η επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας οδηγεί σε αλλοιώσεις τα αρχέγονα κύτταρα (stem cells) της περιοχής του σκληροκερατοειδούς ορίου, με λειτουργικό αποτέλεσμα την διάσπαση του σκληροκερατοειδικού φραγμού (Dushku & Reid 1994, Lim et al 1998). Ταυτόχρονα αλλάζουν και οι πρωτεΐνες-αντιγόνα επιφανείας των stem cells, ώστε να μπαίνουν σε λειτουργία ανοσολογικές απαντήσεις στα τροποποιημένα αυτά αντιγόνα.

Σχήμα 4: Η υπεριώδης ακτινοβολία είχε από παλαιότερα ενοχοποιηθεί για πλήθος βλάβες στην περιοχή του σκληροκερατοειδούς ορίου. Υπήρχαν όμως πάντα ερωτηματικά για το γιατί ο ίδιος αιτιολογικός παράγοντας οδηγούσε σε διαφορετικές κλινικές οντότητες και για τις μεταξύ αυτών διαχωριστικές γραμμές.



(From SEVEL & SEALY 1968)



ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΠΤΕΡΥΓΙΟΥ

Ενδείξεις για θεραπευτική αντιμετώπιση του πτερυγίου αποτελούν συνήθως οι παρακάτω λόγοι:

- α) Προοδευτική αύξηση του πτερυγίου
- β) Επιπτώσεις του πτερυγίου στην όραση, όπως: αστιγματισμός, απώλεια περιφερικού οπτικού πεδίου, διπλωπία, μείωση οπτικής οξύτητας, διπλωπία, Glare, μείωση της Contrast Sensitivity
- γ) Περιορισμός της οφθαλμοκινητικότητας, μέχρι και συμβλέφαρο, με συνέπεια διπλωπία
- δ) Όταν προγραμματίζεται μια άλλη «μεγάλη» επέμβαση στον οφθαλμό, οπότε είτε γίνεται παρεπιπτόντως και η αφαίρεση του πτερυγίου, είτε προηγείται της κυρίως επέμβασης με σκοπό να την διευκολύνει
- ε) Για κοσμητικούς ή οποιουσδήποτε άλλους υποκειμενικού λόγους αφορούν τον ασθενή, με σημαντικότερους ίσως όλων, τα ερεθιστικά συμπτώματα

ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Συντηρητικές θεραπευτικές μέθοδοι για το πτερύγιο αναφέρονται από το 1945 που γίνεται λόγος για χρήση του solid choline chloride και το 1953 οπότε προτείνεται η ένεση υαλουρονιδάσης υπό τον επιπεφυκότα.

Σήμερα για συντηρητική αντιμετώπιση κυρίως όχι αυτού του πτερυγίου, αλλά μάλλον των συνεπειών του, και προκειμένου να ελαττώσουμε τον ρυθμό αύξησής του, χορηγούμε:

- λιπαντικά σκευάσματα χωρίς συντηρητικά για συντήρηση του δακρυϊκού φίλμ
- προστατευτικά απορροφητικά γυαλιά, για την υπερίσθη κυρίως ακτινοβολία
- στεροειδή και αντιφλεγμονώδη σκευάσματα
- αγγειοσυσταλτικά σκευάσματα
- και βεβαίως συμβουλευόμαστε για διαβίωση σε περιβάλλον, όπου οι συνθήκες να μην ευνοούν την ανάπτυξη του πτερυγίου, δηλαδή να μην υπάρχει ξηρασία, σκόνες, ρυπογόνο ατμόσφαιρα κλπ.

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Είναι ευνόητο ότι ριζική αντιμετώπιση του πτερυγίου σημαίνει εξαίρεσή του. Είναι δε γνωστό ότι όσο δύσκολα θεραπευόταν το πτερύγιο 2000 χρόνια πριν, σχεδόν τόσο δύσκολα, ως προς την αποτελεσματικότητα της θεραπείας, αντιμετωπίζεται και σήμερα. Είναι χαρακτηριστική η αναφορά του Rosenthal το 1953, όπου ανασκοπώντας την αντιμετώπιση του πτερυγίου αναφέρει ότι στα τελευταία 3000 χρόνια το πτερύγιο «ετάμη, μετεκινήθη, ελεπύνθη, μετετέθη, εξαιρέθη, εκαυτηριάσθη, απεξέσθη, ανεστράφη, εγαλβανοκαυτηριάσθη, εκάη, παρεσκευάσθη ανατομικώς, συνεστράφη, ηλεκτροπήχθη, έλαβεν άλλη θέσιν, ηκτινοβολήθη, χωρίς να σταθεί δυνατή η εκπόρθήσής του!» (μετάφραση από τον Τζάκο).

Ρήσεις που αφορούν το θέμα αυτό και είναι λίγο ή πολύ γενικότερα αποδεκτές, δίνοντας το στίγμα της χειρουργικής θεραπείας του πτερυγίου, είναι οι ακόλουθες:

- Οι τεχνικές εγχείρησης του πτερυγίου είναι όσοι και οι χειρουργοί οφθαλμίατροι
- Η εγχείρηση του πτερυγίου οφείλει να ταιριάζει στο πτερύγιο και όχι το πτερύγιο στην εγχείρηση



- Σκόπιμο είναι να πετυχαίνουμε στο χειρουργικό μας εγχείρημα την πρώτη φορά

Προκειμένου να χαρακτηριστεί μια χειρουργική εξαίρεση επιτυχημένη, θα πρέπει να οδηγεί σε διατήρηση της οφθαλμοκινητικότητας και καλής όρασης, σε καλό αισθητικό αποτέλεσμα και να μας εξασφαλίζει από υποτροπές. Οι χειρουργικές τεχνικές που από πολύ παλιά έχουν περιγραφεί και εφαρμοστεί, δεν κατάφεραν να εξασφαλίσουν στο σύνολό τους τις παραπάνω προϋποθέσεις, γεγονός που εξηγεί και το πλήθος των επεμβάσεων.

Σε μια σύντομη αναδρομή, τα είδη των χειρουργικών επεμβάσεων που έχουν ως τώρα περιγραφεί (Adamis et al 1990), είναι τα παρακάτω:

- Απλή εκτομή της κεφαλής του πτερυγίου. Η πρώτη αναφέρεται στην Αίγυπτο με χρήση αντι ράμματος μιας τρίχας από ουρά αλόγου!
- "Carbonization", δηλαδή δηλητηρίαση δια φαινόλης. Περιγράφηκε από τον Αιγύπτιο γιατρό Sabri Kamel. Γινόταν διαχωρισμός της κεφαλής και του αυχένα του πτερυγίου από τον κερατοειδή και το σκληροκερατοειδές όριο και ακολουθούσε ένεση καθαρής φαινόλης στην κάτω ανασηκωμένη επιφάνεια του σώματος. Έπειτα κοβόταν ο αυχένας και το σώμα έπεφτε και παρέμενε επί του σκληρού.
- Μετεμφύτευση του πτερυγίου. Περιγράφηκε απ' τον Desmarres. Η κεφαλή του πτερυγίου θα μπορούσε να κατευθυνθεί προς τα άνω ή προς τα κάτω, να διαχωριστεί και να κατευθυνθεί το άνω μισό προς τα άνω και το κάτω μισό προς τα κάτω ή τέλος η κεφαλή να εισχωρήσει κάτω απ' το σώμα. Ο Mc Reynolds συνδύασε την μέθοδο με κάλυψη του εκτεθειμένου σκληρού. Βέβαια η μη αφαίρεση του παθολογικού ιστού και η περαιτέρω ανάπτυξη του οδηγούσε συχνά σε συμβλέφαρο έστω και αν η αύξηση αυτή ήταν αβλαβής για το σκληροκερατοειδές όριο.
- Z-Πλαστική. Περιγράφηκε από τους Wilson και Bourne (1998) οι οποίοι θεώρησαν πλεονέκτημα της μεθόδου την αποκατάσταση του γυμνού σκληρού σε τρόπο που να παρεμποδίζεται τυχόν υποτροπή αλλά και να διατηρείται ο ανώτερος βολβικός επιπεφυκότας. Η μέθοδος αυτή όσο και οι προηγούμενες, δεν εφαρμόζονται πλέον. Η αναφορά τους εδώ γίνεται για ιστορικούς λόγους.
- Αφαίρεση του πτερυγίου με γυμνό σκληρό (Bare sclera). Γίνεται αφαίρεση του πτερυγίου και μικρή περιοχή του γειτνιάζοντος σκληρού (2-6mm), δεν καλύπτεται με επιπεφυκότα ενώ απογυμνώνεται σχολαστικά από τον υπό τον επιπεφυκότα ιστό. Η επούλωση γίνεται με σχηματισμό κοκκιώδους ιστού.
- Αφαίρεση πτερυγίου με συμπλησίαση των χειλέων του επιπεφυκότα. Την προηγούμενη τεχνική (Bare sclera), ακολουθεί και συρραφή των χειλέων του επιπεφυκότα.
- Αφαίρεση πτερυγίου και χρήση μοσχεύματος για πλαστική αποκατάσταση του απογυμνωμένου σκληρού.

Το μόσχευμα μπορεί να προέρχεται από διάφορες περιοχές του σώματος. Έτσι μπορεί να είναι βλεννογόνο του χείλους ή του στόματος, μερικού πάχους στρώμα δέρματος από το μέτωπο ή από την καμπτική επιφάνεια της άκρας χειρός. Επίσης έχει χρησιμοποιηθεί αμνιοτική μεμβράνη.

Βεβαίως μπορεί να χρησιμοποιηθεί και αυτομόσχευμα επιπεφυκότα, που είναι και το πιο σύνηθες. Το μόσχευμα μπορεί να είναι ελεύθερο προερχόμενο από τον βλεφαρικό επιπεφυκότα του άνω βλεφάρου είτε από τον βολβικό επιπεφυκότα του ίδιου ή του άλλου οφθαλμού. Το μόσχευμα μπορεί επίσης να είναι σταθερής βάσης βολβικός επιπεφυκότας. Τέλος μπορεί να πρόκειται για συνδιασμό μοσχεύματος επιπεφυκότα με Limbus μαζί.



Η τεχνική της κάλυψης του γυμνού, μετά την αφαίρεση του περυγίου, σκληρού με μόσχευμα παρουσιάζει τεχνικές δυσκολίες και αυξάνει την πολυπλοκότητα και την διάρκεια της επέμβασης, αλλά εξασφαλίζοντας ένα βιολογικό κάλυμμα μειώνει την τάση φλεγμονής και νεοαγγείωσης, διευκολύνει την αναγέννηση των κυττάρων και την επούλωση, εξασφαλίζει λεία επιφάνεια και καλή εφύγρανση προλαμβάνοντας το Dellen, και τέλος δεν επιτρέπει την έντονη δημιουργία κοκκιωματούδους ιστού.

- Αφαίρεση περυγίου σε συνδυασμό με επιφανειακή κερατεκτομή δίκην ελάσματος. Εδώ γίνεται και κερατοπλαστική είτε με ομοιομοσχεύματα από κερατοειδείς εμβρύων, είτε λυοφιλοποιημένο κερατοειδή που μπορεί να διατηρείται και να αποθηκεύεται για εβδομάδες.
- Αφαίρεση περυγίου με διαμπερή κερατεκτομή, οπότε η εξαίρεση του περυγίου συνδυάζεται και με μεταμόσχευση κερατοειδούς.

Η χειρουργική αφαίρεση του περυγίου από μόνη της έχει κατά καιρούς εκτιμηθεί μάλλον αναποτελεσματική. Το υψηλό ποσοστό υποτροπής του περυγίου οδήγησε στην αναζήτηση συμπληρωματικής της αφαίρεσης θεραπείας, με πρώτη και απλούστερη την χρήση της διαθερμίας για καταστροφή των αγγείων στο έδαφος του περυγίου και στο limbus. Συμπληρωματική χαρακτηρίζεται και η χρήση τοπικώς κορτικοστεροειδών μετά την χειρουργική αφαίρεση του περυγίου.

Πολύς λόγος έχει γίνει για την εφαρμογή μετεγχειρητικά της Β-ακτινοβολίας (Strodiom 90), σε μια δόση ή και περισσότερες, κατά βούληση (Jaros & Deluise 1988, Adamis et al 1990, De Kaizer RJW 1998). Τα ποσοστά υποτροπής που αναφέρονται κειμούνται από 0% έως 69%. Η ακτινοβολία προκαλεί αλλαγές ιονισμού στον πυρήνα και στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων. Σταματά τις μιτώσεις των ταχέως διαιρούμενων αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων και τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και των γύρω ιστών. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων φυσιολογικά δεν πολλαπλασιάζονται παρά σπάνια. Στις μεγάλες πληγές όμως και στους όγκους (που είναι εξαρτώμενοι από την αγγειοβρίθεια) τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων αυξάνονται σαν τα κύτταρα του μυελού των οστών, δηλαδή 100 με 1000 φορές παραπάνω από το φυσιολογικό. Είναι ευνόητο ότι η αντιμιτωτική δράση της Β ακτινοβολίας συμβάλλει στην πρόληψη της υποτροπής του περυγίου.

Βεβαίως η εφαρμογή της Β ακτινοβολίας συνδέθηκε με πλήθος παρενέργειες, όπως: καταρράκτη, έλκος και διάτρηση σκληρού, πτώση βλεφάρου, ατροφία ίριδας, έλκος κερατοειδούς, συμβλέφαρο, βακτηριακή κερατοεπιπεφυκίτιδα, τηλαγγειεκτασίες επιπεφυκότα, παρατεταμένη υπεραίμια επιπεφυκότα, και πανοφθαλμίτιδα από ασπέργιλλο ή ψευδομονάδα. Επιπλέον για εφαρμογή της Β ακτινοβολίας απαιτείται ειδική εκπαίδευση του οφθαλμιάτρου και άδεια από την Nuclear Regulatory Commision.

Συμπληρωματικά της χειρουργικής αφαίρεσης έχει χρησιμοποιηθεί και η ουσία Thiotepra (Nitrogen Mustard N, N', N'', triethylene - Thiophosphoramide), που είναι αλκυλιωτικός παράγων με αντιμιτωτικές ιδιότητες (Adamis et al 1990). Τα ποσοστά υποτροπής αναφέρονται περίπου στο 16%. Η εφαρμογή της Thiotepra (διάλυμα 1:2000 ανά τρεις ώρες για 6 εβδομάδες), παρεμποδίζει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων. Ως επιπλοκές έχουν αναφερθεί: παρατεταμένη ένεση επιπεφυκότα και ερεθισμός, αλλεργικές αντιδράσεις, βακτηριακές επιπεφυκίτιδες, και μόνιμος αποχρωματισμός βλεφάρων, ιδιαίτερα αν υπάρχει έκθεση στον ήλιο.

Άλλη συμπληρωματική της χειρουργικής θεραπεία που έχει ιδιαίτερα συζητηθεί τα τελευταία χρόνια (Adamis et al 1990, Chen et al 1995, Multu et al 1999) είναι ο

αντιβιοτικός – αντινεοπλασματικός παράγων: Mitomycin C, που απομονώθηκε από τον *Streptomyces Caesporus*. Ο παράγων αυτός εμποδίζει την σύνθεση DNA, RNA και πρωτεϊνών στα ταχέως αναπτυσσόμενα κύτταρα. Το 1963 αναφέρθηκε για πρώτη φορά εφαρμογή Mitomycin C μετεχειρητικά, σε αραίωση 0.04%, τέσσερις φορές ημερησίως και για δύο εβδομάδες. Το αναφερόμενο ποσοστό υποτροπής ήταν 16%. Κατοπινή τροποποίηση της αραίωσης σε 0.02% και ενστάλλαξη τρεις φορές ημερησίως για δύο εβδομάδες αναφέρεται πως εξασφάλισε ποσοστό υποτροπής 6%. Ως τρόπος εφαρμογής αναφέρθηκε και η μονήρης δόση μετά την εγχείρηση η οποία δεν υιοθετήθηκε λόγω αυξημένου ποσοστού επιπλοκών. Γενικά οι επιπλοκές που αναφέρονται μετά από εφαρμογή Mitomycin C είναι οι παρακάτω: φωτοφοβία, πόνος, αλλεργική αντίδραση, οίδημα κερατοειδούς, καταρράκτης, ασβεστοποίηση σκληρού, έλκη σκληρού, διάτρηση σκληρού, ενδοφθαλμίτις, δευτεροπαθές γλαύκωμα.

Μετά από αφαίρεση πτερυγίου έχει αναφερθεί και η χρήση του Argon Laser (Adamis et al 1990), για πρόληψη υποτροπής. Συγκεκριμένα σε κάθε πρώιμη εμφάνιση υποτροπιάζοντος πτερυγίου βάλονται με βολές 50 μ m τα νεοαγγειακά μέτωπα. Η δύναμη είναι ρυθμισμένη για να περιορίζει στο ελάχιστο το έγκαυμα και την ρίκνωση. Αναφέρεται ότι με την χρήση του Argon Laser η υποτροπή περιορίζεται στο 2%.

Η χρήση του Excimer Laser (Talu et al 1998) για τον καθαρισμό της περιοχής άνευ σμίλης θεωρείται ευεργετική επίσης και αναφέρονται ποσοστά υποτροπής ανάλογα των ανωτέρω.

Γενικά θα μπορούσε να πει κανείς ότι η σημερινή θεραπευτική στρατηγική του πτερυγίου εκφράζεται (Adamis et al 1990) απ' τον παρακάτω αλγόριθμο:

ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΠΤΕΡΥΓΙΟ	ΥΠΟΤΡΟΠΙΑΖΩΝ ΠΤΕΡΥΓΙΟ	ΣΕ ΔΕΥΤΕΡΗ ΥΠΟΤΡΟΠΗ
Αφαίρεση (bare sclera) + Mitomycin C (0.02 ή 0.04)	Αυτομόσχευμα επιπεφυκότα	Αυτομεταμόσχευση επιπεφυκότα και σκληροκερατοειδούς ορίου
Αφαίρεση (bare sclera) + Beta radiation (1000-3000 rads)	Αυτομόσχευμα επιπεφυκότα	Αυτομεταμόσχευση επιπεφυκότα και σκληροκερατοειδούς ορίου
Αφαίρεση (bare sclera) + κρημνό επιπεφυκότα ή Z-πλαστική	Αυτομόσχευμα επιπεφυκότα	Αυτομεταμόσχευση επιπεφυκότα και σκληροκερατοειδούς ορίου
Αυτομόσχευμα επιπεφυκότα	Αυτομεταμόσχευση επιπεφυκότα και σκληροκερατοειδούς ορίου	Αυτομεταμόσχευση επιπεφυκότα και σκληροκερατοειδούς ορίου + Mitomycin C ή + Beta radiation ή Επικάλυψη με αμνιακή μεμβράνη ή Αυτομεταμόσχευση επιπεφυκότα και Μερική (επιφανειακή) κερατοπλαστική ή (;)



Όπως είναι φανερό κι από το πλήθος των χειρουργικών μεθόδων, όσο και από τις πολυάριθμες και πολυτροποποιημένες συμπληρωματικές τεχνικές, το μεγάλο πρόβλημα στην θεραπεία του πτερυγίου είναι οι υποτροπές. Πολλοί θεωρούνται οι παράγοντες που παίζουν ρόλο στην εμφάνιση υποτροπής. Έτσι η νεαρή ηλικία θεωρείται επιβαρυντικός παράγων. Η ποικιλότητα του εκάστοτε ελαστικού ιστού παίζει τον ρόλο της ως προς την απάντηση (ουλωτική διεργασία) στην χειρουργική διαδικασία. Ο συσσωρευμένος συνδετικός ιστός στο σκληροκερατοειδές όριο λόγω ανεπαρκούς εξαίρεσης, αλλά και η εκσεσημασμένη αφαίρεση κερατοειδικού ιστού ή το ανώμαλο πεδίο εκτομής οδηγούν σε αύξηση του παραγόμενου αγγειοβριθούς ιστού απ' το Limbus, και επομένως και της υποτροπής. Η επίμονη ξηρότητα του οφθαλμού, η ύπαρξη Dellen, η ακτινική έκθεση, η ξηρή και ρυπογόνος ατμόσφαιρα και γενικότερα ο τόπος και ο τρόπος ζωής επηρεάζουν την εμφάνιση υποτροπής. Τον ρόλο της παίζει φυσικά και η κληρονομικότητα .

ΠΕΡΙ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑΣ

Η Ανοσοϊστοχημεία είναι ένας νέος δυναμικός τομέας της Ιατρικής και πιο συγκεκριμένα της Παθολογικής ανατομικής (Νακοπούλου 1999). Ασχολείται κυρίως με την ανίχνευση αντιγόνων σε ιστικό επίπεδο. Χρησιμοποιεί ειδικά αντισώματα εναντίον αντιγόνων – στόχων, τα οποία είναι συνδεδεμένα με ειδικές χρωστικές που καθιστούν έτσι ορατές στο κοινό μικροσκόπιο τις θέσεις εντοπισμού των αντιγόνων αυτών. Σαν ειδικοί αντιποιοί, δηλαδή ειδικά αντισώματα ενάντια στα αναζητούμενα αντιγόνα, χρησιμοποιούνται συμβατικά μονοκλωνικά και πολυκλωνικά αντισώματα.

Η εφαρμογή της Ανοσοϊστοχημείας συμβάλλει ουσιωδώς στην κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών των διαφόρων νόσων και στην διάγνωση φλεγμονωδών παθήσεων, προσφέρει δε σημαντική βοήθεια στην διαγνωστική ογκολογία προκειμένου να εξακριβωθεί η ιστική προέλευση των νεοπλασμάτων και ιδιαίτερα των αδιαφοροποίητων μορφών τους.

Οι σύγχρονες ανοσοϊστοχημικές μέθοδοι πλεονεκτούν σε σχέση με άλλες παλαιότερες μεθόδους ανίχνευσης, όπως ο Ανοσοφθορισμός. Τα βασικά τους πλεονεκτήματα είναι ότι:

- 1) Έχουν σταθερά χρωστικά αποτελέσματα, αξιοσημείωτη ευαισθησία και ειδικότητα
- 2) Είναι πιο ευαίσθητες οπότε εφαρμόζονται όχι μόνο σε τομές ψυκτικού αλλά και σε ιστούς μονιμοποιημένους σε διάφορα μονιμοποιητικά υγρά και εγκλεισμένους σε παραφίνη
- 3) Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων γίνεται με το κοινό μικροσκόπιο
- 4) Διατηρείται συγχρόνως και η μορφολογία των ιστών και των κυττάρων

Ειδικά η μέθοδος Αβιδίνης-Βιοτίνης-Υπεροξειδάσης (ABC, Hsu 1981), που χρησιμοποιήθηκε και στην παρούσα μελέτη, είναι πιο ευαίσθητη από τις παλαιότερες μεθόδους, λόγω της μεγάλης δεσμευτικής ικανότητας μεταξύ Αβιδίνης και Βιοτίνης. Η ανοσοϊστοχημική χρώση οφείλεται στην δράση του ενζύμου της υπεροξειδάσης (horseradish peroxidase, HRP) στο H_2O_2 (substrate), με αποτέλεσμα την παραγωγή του συμπλέγματος $HRP.H_2O_2$. Με την προσθήκη ενός χρωμογόνου της τετραϋδροχλωρικής 3,3 διαμινοβενζιντίνης (DAB) που λειτουργεί ως δότης ηλεκτρονίων παράγονται χρωματισμένα (καφέ χρώματος) μόρια ($HRP.H_2O_2 + DAB \rightarrow \text{colored molecules} + HRP + H_2O$) που εναποτίθενται στο ανιχνευθέν αντιγόνο-επιτόπιο (antigen+primary Ab + link Ab + label Ab). Επίσης η μέθοδος ABC δίνει την δυνατότητα ταυτόχρονης ανίχνευσης στην ίδια τομή του ιστού, περισσότερων

αντιγόνων. Εδώ η σύζευξη των πρωτογενών αντιορών γίνεται με διαφορετικά ένζυμα, όπως υπεροξειδάση για τον ένα και αλκαλική φωσφατάση για τον άλλο πρωτογενή αντιορό. Τα χρωστικά ιζήματα των ενζύμων αυτών είναι διαφορετικά (Taylor 1986).

HLA-DR

Το Μέγιστο Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας (Major Histocompatibility Complex MHC) του ανθρώπου ρυθμίζει την έκφραση των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας (HLA), την βιοσύνθεση μερικών παραγόντων του Συμπληρώματος και πιθανά διάφορες ανοσολογικές αντιδράσεις. Τα γονίδια του βρίσκονται στον βραχύ βραχίονα του χρωμοσώματος 6 (Μουτσόπουλος 1984). Δηλαδή το MHC είναι μια αλληλουχία γονιδίων στο br2, το οποίο κωδικοποιεί ομάδες από ανοσορυθμιστικά μόρια.

Δύο τάξεις απ' αυτά είναι πολυμορφικά και εξυπηρετούν κυρίως σαν στοιχεία περιορισμού της κυτταρικής ανοσολογικής απάντησης, αλληλεπιδρώντας με T- κυτταρικούς υποδοχείς και τα αυτόλογα T-κύτταρα (Krensky et al, 1990)

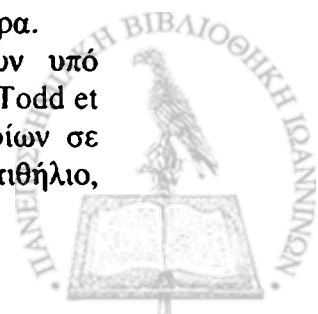
Τα MHC τάξης I μόρια είναι πολυμορφικές διαμεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες, οι οποίες κωδικοποιούνται από μια ομάδα στενά συνδεδεμένων θέσεων (loci), εκ των οποίων καλύτερα γνωστές είναι οι HLA - A, B, και C. Σχετίζονται με τις μικροσφαιρίνες β2 (β2m). Αυτές κωδικοποιούνται στο χρωμόσωμα 15, πιθανώς ρυθμίζονται ανεξάρτητα (Morello et al, 1985), αλλά είναι απαραίτητες για την έκφραση των τάξης I μορίων στην επιφάνεια των κυττάρων. (Neefjes and Ploegh, 1988)

Τα MHC τάξης II μόρια είναι ετεροδιμερείς διαμεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες, που κωδικοποιούνται από ομάδα στενά συνδεδεμένων γονιδίων που χαρακτηρίζονται ως HLA-DR και DQ. Συντίθενται από μια α αλυσίδα με περιορισμένο πολυμορφισμό και μια ιδιαίτερα πολυμορφική β αλυσίδα. Ενδοκυττάρια το τάξης II αβ-διμερές συνδέεται με μια τρίτη μη πολυμορφική σταθερή αλυσίδα (Ii) που κωδικοποιείται από ένα γονίδιο στο χρωμόσωμα 5 (Jones et al, 1978 Claesson - Welsh et al, 1984).

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες (Todd et al 1985, Mechtersheimer et al 1990), τα τάξεως I αντιγόνα εκφράζονται ανελλιπώς σε όλα τα εμπύρνηνα σωματικά κύτταρα, ενώ η έκφραση των τάξεως II μορίων περιορίζεται κυρίως στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (πχ. στα δενδριτικά κύτταρα και στα ενεργοποιημένα μακροφάγα), στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στα ώριμα B-λεμφοκύτταρα και στα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα (Τα B κύτταρα εκφράζουν τα τάξης II MHC μόρια στην μεγαλύτερη διάρκεια της ζωής τους, αλλά τα T-κύτταρα του ανθρώπου εκφράζουν αυτά τα μόρια μόνο μετά από ενεργοποίηση). Η έκφραση των MHC στα κύτταρα ελέγχεται από τις κυτοκίνες (Todd et al 1985, Mechtersheimer et al 1990). Πχ. η Ιντερφερόνη-γ (INFγ) και ο παράγων νέκρωσης όγκων (TNF) είναι ισχυροί επαγωγείς της έκφρασης των MHC σε πολλούς κυτταρικούς τύπους, όπου άλλως τα MHC μόρια θα εκφράζονταν ασθενώς ή καθόλου.

Τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (Antigen Presenting Cells - APC) είναι ένας ετερογενής πληθυσμός από λευκοκύτταρα με ιδιαίτερη ανοσορυθμιστική ικανότητα. Μερικά έχουν έναν πυλωτικό ρόλο στην επαγωγή της λειτουργικής δραστηριότητας των T helper (T4 ή CD4) κυττάρων. Μερικά επικοινωνούν με άλλα λευκοκύτταρα. Τα κύτταρα Lagerhans' (APC κύτταρα), του δέρματος και άλλων πλακωδών επιθηλίων, είναι πλούσια σε τάξης II MHC μόρια, τα οποία είναι σημαντικά για την παρουσίαση των αντιγόνων στα T helper (T4 ή CD4) κύτταρα.

Τα σωματικά κύτταρα, εκτός των ανοσοκυττάρων, δεν εκφράζουν υπό φυσιολογικές συνθήκες τάξεως II MHC μόρια, αλλά κυτοκίνες όπως η INFγ (Todd et al 1985) και ο TNFα, μπορούν να επάγουν την έκφραση αυτών των μορίων σε κάποιους κυτταρικούς τύπους (πχ. κερατινοκύτταρα, θυρεοειδικό επιθήλιο,



ενδοθήλια) και επομένως να τους επιτρέπουν να «παρουσιάζουν» αντιγόνα (Londei et al 1984). Αυτή η επαγωγή της «ακατάλληλης» έκφρασης των τάξης II MHC θα μπορούσε να συνεισφέρει στην παθογένεια αυτοάνοσων νόσημάτων και σε παρατεταμένη φλεγμονή ! (Roit 1988).

Τα «ανοσολογικά» γονίδια ρυθμίζουν πλήθος λειτουργιών, όπως τις παρακάτω:

- 1) Παραγωγή αντισωμάτων
- 2) Δημιουργία κυτταροτοξικών και βοηθητικών T-λεμφοκυττάρων
- 3) Παραγωγή λεμφοκινών και μονοκινών
- 4) Ευαισθησία και αντοχή σε ογκοϊούς
- 5) Αντίδραση μοσχεύματος κατά ξενιστή
- 6) Βιοσύνθεση παραγόντων του συμπληρώματος
- 7) Ρύθμιση παραγωγής στεροειδών ορμονών κλπ.

Τα MIC γονίδια δηλαδή ρυθμίζουν με ποικίλλους, πολύπλοκους και εν' πολλοίς άγνωστους ακόμη τρόπους την ανοσολογική απάντηση (Bottazzo et al 1983, Hanafusa et al 1983, Mechtersheimer et al 1990, Fais et al 1991). Στις περισσότερες δε ασθένειες που βρίσκεται υψηλή συχνότητα HLA αντιγόνων παρατηρείται καθαρά μια παραδοξη ανοσολογική συμπεριφορά. Μέχρι σήμερα έχουν αναπτυχθεί διάφορες θεωρίες για την συσχέτιση HLA αντιγόνων και νόσων. Επικρατέστερες (Μουτσόπουλος 1984) είναι οι παρακάτω:

- 1) Το αντιγόνο Ιστοσυμβατότητας μοιάζει μοριακά με λοιμογόνους μικροοργανισμούς οδηγώντας έτσι σε ανοχή του εισβολέα μικροοργανισμού (θεωρία της μοριακής μίμησης)
- 2) Τα γονίδια των HLA αντιγόνων κληρονομούνται συνδεδεμένα με γονίδια που ρυθμίζουν ανοσολογική απόκριση
- 3) Το HLA αντιγόνο παίζει ρόλο υποδοχέα για έναν ιό ή μια ορμόνη, κάνοντας έτσι την επιφάνεια του κυττάρου ευαίσθητη σε συγκεκριμένη νόσο
- 4) Συγκεκριμένοι ιοί μετατρέπουν αντιγόνα που κωδικοποιούνται στην D περιοχή επιτρέποντας έτσι εκδήλωση διαδικασιών αυτοανοσίας

S100 ΠΡΩΤΕΪΝΗ

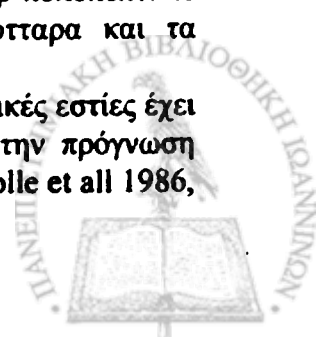
Είναι μια όξινη πρωτεΐνη της οικογένειας των προσδεδεμένων με ασβέστιο πρωτεϊνών, με μοριακό βάρος: 20000 (Νακοπούλου 1999). Πήρε την ονομασία της επειδή διαλύεται 100% σε θειϊκό αμμώνιο. Οι βιοχημικές της ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένης και της αλληλουχίας των αμινοξέων, έχει πολύ καλά διευκρινιστεί (Isobe et al 1977, Isobe & Okuyama 1978). Αποτελείται από τρία κλάσματα, την S100αα, την S100α και την S100β.

Η ανίχνευση της S100 πρωτεΐνης γίνεται τόσο στον πυρήνα όσο και στην κυτταροπλασματική και πυρηνική μεμβράνη. Ο δε φυσιολογικός ρόλος της αποτελεί ακόμη θέμα συζήτησης και εικασιών.

Η S100 πρωτεΐνη εντοπίζεται κυρίως στα γλοιικά κύτταρα και στα κύτταρα Schwann του νευρικού συστήματος (Ludwin et al 1976, Hagliot et al 1974, Yamaguchi 1980), αλλά και στα δενδριτικά κύτταρα, όπως τα κύτταρα Langerhans'.

Τα διάφορα κλάσματα της S100 πρωτεΐνης παρουσιάζουν διαφορετική κατανομή στα φυσιολογικά και νεοπλασματικά κύτταρα. (πχ. μόνο το β-πολυπεπτίδιο ανιχνεύεται στα κύτταρα Langerhans', τα διαπλεκόμενα δικτυοκύτταρα και τα κύτταρα της Ιστιοκύτωσης X).

Η παρουσία των S100-θετικών δενδριτικών κυττάρων σε καρκινικές εστίες έχει βρεθεί να συσχετίζεται ιδιαίτερα με την ανάπτυξη του όγκου και την πρόγνωση αρκετών τύπων καρκίνου (Nakajima et al 1985, Nomori et al 1986, Smolle et al 1986,



Tsujitami et al 1987, Schrode et al 1988, Ambe et al 1989, Nakamo et al 1989). Ίσως αυτά παίζουν ρόλο αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων.

ΚΥΤΤΑΡΑ LANGERHANS'

Τα κύτταρα Langerhans' είναι δεντριτικά μονοκύτταρα, που περιέχουν τα χαρακτηριστικά κοκκία Birdeck (Μουτσόπουλος 1984). Προέρχονται απ' τον μυελό των οστών και κατανέμονται σε ένα μάλλον ευρύ φάσμα ιστών, συμπεριλαμβανομένης της επιδερμίδας, των λεμφαδένων, του θύμου, της στοματικής κοιλότητας, του κόλπου, του τραχήλου της μήτρας και του πνεύμονα. Τα κύτταρα Langerhans' είναι HLA-DR θετικά, αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα που ενέχονται στην ενεργοποίηση των Τ-λεμφοκυττάρων και στις αντιδράσεις υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου. Λειτουργικά, τα κύτταρα Langerhans' μπορούν να παρουσιάζουν αντιγόνα σε ενεργοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα και είναι ικανά να διεγείρουν άλλα Τ-λεμφοκύτταρα προς ενεργοποίηση.

Επιπρόσθετα τα κύτταρα Langerhans' παράγουν Ιντερλευκίνη 1. Τα κύτταρα Langerhans' μοιράζονται κάποιες ιδιότητες με τα μονοκύτταρα -μακροφάγα, αλλά διαθέτουν ξεχωριστές ιδιότητες που επιτρέπουν τον διαχωρισμό τους απ' αυτά. Τα κύτταρα Langerhans' πχ. εκφράζουν τα Ια αντιγόνα, OKT6, αδενοσινοτριφωσφατάση (ΑΤΡάση) και την πρωτεΐνη S100.

Τα κύτταρα Langerhans' ίσως παίζουν έναν σημαντικό ρόλο στους ανοσολογικούς μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή ενάντια στους όγκους, όπως πχ. στον θηλώδη τύπο καρκίνου του θυρεοειδούς (Schroder et al 1988). Αυτά τα κύτταρα ίσως ασκούν μια ανοσολογική αντίδραση ενάντια στα νεοπλασματικά κύτταρα μέσω της αναγνώρισης και παρουσίασης των αντιγόνων του όγκου. Τα κύτταρα Langerhans' φαίνεται να μεταναστεύουν ανάμεσα στα νεοπλασματικά κύτταρα και μετά να μετατρέπονται σε αντιγονοπροωθητικά κύτταρα δι' αμμέσου επαφής με τα κύτταρα του όγκου. Σήμερα είναι ευρέως αποδεκτό ότι συγκεκριμένοι παράγοντες που υποκινούν ανοσορρυθμιστικές δραστηριότητες (Ιντερλευκίνες και παράγοντες που ομοιάζουν προς αυτές) παράγονται επίσης και παραλαμβάνονται από επιθηλιακά κύτταρα. Σωρρεύσεις από S100 θετικά κύτταρα Langerhans' σε PC καρκινικό ιστό ίσως είναι επομένως μια συνέπεια τοπικής παραγωγής αυτοκατευθυνόμενων και διαφοροποιημένων παραγόντων.

Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

Τα Τ-λεμφοκύτταρα αποτελούν περίπου το 70-80% των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος και το 90% των λεμφοκυττάρων της λέμφου του θωρακικού πόρου (Μουτσόπουλος 1984). Βρίσκονται κυρίως στην παραφλοιώδη μοίρα των λεμφαδένων και στις περιοχές γύρω από τα αρτηριόλια του λευκού πολφού του σπλήνα. Η κύρια λειτουργία τους είναι η κυτταρική ανοσία.

Η ωρίμανση και η διαφοροποίηση των Τ-λεμφοκυττάρων, γίνεται στον θύμο αδέν. Εκεί με την επίδραση των επιθηλιακών κυττάρων του θύμου, ή ουσιών τους, αποκτούν χαρακτηριστικά Τ-λεμφοκυττάρων, όπως είναι μεταξύ άλλων τα ειδικά αντιγόνα επιφανείας.

Τα Τ-λεμφοκύτταρα του ανθρώπου έχουν στην κυτταρική τους μεμβράνη υποδοχείς για τα ερυθρά αιμοσφαίρια του προβάτου. Ιστορικά η πρώτη φορά που έγινε διάκριση μεταξύ των Τ και Β λεμφοκυττάρων του ανθρώπου ήταν με την τυχαία ανακάλυψη της ικανότητας των Τ-λεμφοκυττάρων να συνδέονται με ερυθροκύτταρα προβάτου σχηματίζοντας ρόδακα. Σήμερα είναι γνωστό ότι δεσμεύονται μέσω του μορίου CD2 των Τ-λεμφοκυττάρων.



Ωστόσο, ο καθοριστικός δείκτης της σειράς των Τ-λεμφοκυττάρων είναι ο υποδοχέας αντιγόνου TCR. Σήμερα έχουν προσδιοριστεί δύο τύποι TCR. Ο TCR2 είναι ετεροδιμερής (heterodimer), που αποτελείται από δύο πολυπεπίδια (α,β), τα οποία συνδέονται με διθειϊκό δεσμό. Ο TCR1 είναι δομικά παρόμοιος, αλλά αποτελείται από γ και δ πολυπεπίδια. Και οι δύο παραπάνω υποδοχείς έχουν σχέση με μια ομάδα πέντε πολυπεπτιδίων, το σύμπλεγμα CD3 για να δώσουν τον πολύπλοκο υποδοχέα των Τ-λεμφοκυττάρων (σύμπλεγμα TCR-CD3). Έτσι ένα Τ-λεμφοκύτταρο είναι κύτταρο που εκφράζει είτε τον TCR1 είτε τον TCR2. Το 85-90% περίπου των Τ-λεμφοκυττάρων του αίματος εκφράζουν τον TCR2 και μέχρι το 15% των κυττάρων είναι TCR1'.

TCR1' Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

Τα CD3' TCR1' Τ-λεμφοκύτταρα αποτελούν μικρό υποπληθυσμό των κυκλοφορούντων Τ-λεμφοκυττάρων και τείνουν να βρίσκονται στο επιθήλιο βλεννογόνων (Roit 1988). Η πλειονότητα των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων είναι TCR1' κύτταρα που εκφράζουν τον δείκτη CD8, ενώ αυτός δεν βρίσκεται στα περισσότερα κυκλοφορούντα TCR1' κύτταρα. Πρόσφατα έχειδειχθεί ότι τα κύτταρα αυτά διαθέτουν ειδικό ρεπερτόριο υποδοχέων των Τ-κυττάρων, εναντίον βακτηριδιακών αντιγόνων, και η σύγχρονη άποψη είναι ότι τα κύτταρα αυτά ίσως παίζουν κάποιο ρόλο στην προστασία των βλεννογόνων των επιφανειών του σώματος.

TCR2' Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

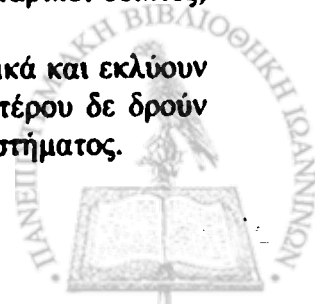
Τα κύτταρα που φέρουν TCR2 μπορούν να υποδιαιρεθούν σε δύο διαφορετικούς μη αλληλοκαλυπτόμενους πληθυσμούς, μια υποομάδα που φέρει τον δείκτη CD4 και «βοηθά» κυρίως ή «επάγει» ανοσοποιητικές απαντήσεις (T_H), και άλλη που φέρει τον δείκτη CD8 και είναι κυρίως κυτταροτοξική (T_C). Ενώ τα CD4' Τ-λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν τα δικά τους ειδικά αντιγόνα, σε συσχετισμό με τα μόρια τάξης II του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC), τα CD8' Τ-λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν αντιγόνα σε σχέση με τα μόριά της τάξεως I του MHC. Τα παραπάνω δεδομένα επηρεάζουν τον τύπο των κυττάρων με τα οποία αλληλεπιδρούν τα διάφορα Τ-λεμφοκύτταρα. Τα CD4' και CD8' είναι οι κύριοι κυτταρικοί τύποι που συμμετέχουν στις αντιδράσεις υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου.

Τα CD4' Τ-λεμφοκύτταρα (T- helper cells ή T_H ή βοηθητικά ή επαγωγικά) διαιρούνται λειτουργικά σε δύο περαιτέρω υποομάδες: 1) Κύτταρα που επηρεάζουν θετικά την απάντηση των Τ και Β λεμφοκυττάρων - η λειτουργία των βοηθητικών κυττάρων - και είναι CD29', και 2) Κύτταρα που επάγουν την κατασταλτική - κυτταροτοξική λειτουργία των CD8' κυττάρων.

Τα CD8' Τ-λεμφοκύτταρα (T- suppressor cells ή T_s ή κυτταροτοξικά ή κατασταλτικά), επίσης μπορούν να διαιρεθούν, ανάλογα με διάφορα κριτήρια, χρησιμοποιώντας ποικιλία μονοκλωνικών αντισωμάτων σε ειδικές λειτουργικές υποομάδες.

Φυσικά εκτός από τους κυτταρικούς δείκτες και τους ειδικούς για τα αντιγόνα υποδοχείς που προσδιορίζουν υποομάδες των Τ-κυττάρων υπάρχουν αρκετά μόρια επιφανείας που εκφράζονται σε όλα τα Τ-λεμφοκύτταρα (παν Τ-κυτταρικοί δείκτες) αλλά και σε κύτταρα άλλων σειρών, όπως ο CD5, ο CD7 κλπ.

Τα Τ-λεμφοκύτταρα όταν ενεργοποιηθούν γίνονται κυτταροτοξικά και εκλύουν τις λεμφοκίνες, που αφ' ενός μεν καταστρέφουν τον εισβολέα, αφετέρου δε δρουν σαν μεταβιβαστές μνημάτων σε άλλα κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος.



ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ (CD68)

Τα μακροφάγα είναι τα πιο αρχέγονα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Προέρχονται από τα προμονοκύτταρα του μυελού των οστών απ' όπου, αφού διαφοροποιηθούν, απελευθερώνονται στην κυκλοφορία σαν μονοκύτταρα (Μουτσόπουλος 1984). Τα μονοκύτταρα αποτελούν τα 3-8% του ολικού αριθμού των λευκοκυττάρων που κυκλοφορούν στο αίμα. Πολύ περισσότερα από τα μονοκύτταρα που κυκλοφορούν (3 ή 4 φορές) είναι αυτά που είναι προσηλωμένα στο ενδοθήλιο των αγγείων. Όταν τα μονοκύτταρα του αίματος περάσουν στους ιστούς μετατρέπονται σε μακροφάγα των ιστών. Ιστοί που περιέχουν άφθονα μακροφάγα είναι το ήπαρ (κύτταρα Kupffer), το περιτόναιο, το δέρμα, οι πνεύμονες, ο σπλήνας και οι λεμφαδένες.

Τα μακροφάγα έχουν στην κυτταρική τους μεμβράνη (Roit 1988): 1) Υποδοχείς για το Fc τμήμα των ανοσοσφαιρινών. 2) Υποδοχείς για τον παράγοντα τρία του συμπληρώματος (C3) με τους οποίους φαγοκυτταρώνουν ανοσοσυμπλέγματα που περιέχουν ενεργοποιημένο C3.

Τα μακροφάγα είναι μη ειδικά κυτταροτοξικά, και συντονίζουν την δράση των Β και Τ-λεμφοκυττάρων. Επεξεργάζονται και παρουσιάζουν τα αντιγόνα στα λεμφοκύτταρα. Η δράση τους αυτή συνίσταται σε ενδοκυττάρια σύνδεση των αντιγόνων που μπαίνουν στον οργανισμό με δικές τους πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα τα αντιγόνα να γίνονται πιο «αντιγονικά» και να αναγνωρίζονται πιο εύκολα από τα Β και Τ-λεμφοκύτταρα. Τα μακροφάγα εκκρίνουν χημικές ουσίες, τις μονοκίνες και είναι κατ' ουσίαν τα κύρια φαγοκύτταρα.

ΚΥΤΟΚΙΝΕΣ

Πρόκειται για διαλυτούς παράγοντες, που είναι πρωτεΐνες, πεπτίδια ή γλυκοπεπτίδια (Μουτσόπουλος 1984). Είναι ο γενικός όρος μιας μεγάλης ομάδας μορίων που έχουν σχέση με την επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων, κατά την διάρκεια ανοσοποιητικών απαντήσεων. Ρυθμίζουν όλες τις σημαντικές βιολογικές διεργασίες - κυτταρική αύξηση, κυτταρική ενεργοποίηση, φλεγμονή, ανοσία, επύλωση ιστού, ίνωση και μορφογένεση.

Κάθε κύτταρο του ανοσοποιητικού αλλά και κάποια ιστικά κύτταρα παράγουν μια μόνο συγκεκριμένη ομάδα κυτταροκινών το καθένα (Rait 1988). Ο ρόλος των κυτοκινών σε κάθε περίπτωση ανάγεται σε πολλά και αλληλοεξαρτώμενα επίπεδα. Πχ. οι κυτοκίνες που απελευθερώνονται από τα Τ_H-λεμφοκύτταρα ενεργοποιούν τα φαγοκύτταρα και τα καθιστούν ικανά να καταστρέψουν τα παθογόνα που έχουν φαγοκυτταρώσει. Επίσης οι κυτοκίνες είναι σε θέση να ασκούν χημειοτακτική δράση στα μονοπύρρηνα κύτταρα στο ενδιάμεσο υπόστρωμα και να ενεργοποιούν επιθηλιακά κύτταρα (πχ. με έκφραση HLA τάξεως II), οδηγώντας έμμεσα στην ενεργοποίηση των διάμεσων κυττάρων (Londei et al 1984, Todd et al 1985). Ακόμα μπορούν να προκαλέσουν άμεσα την ανάπτυξη ινοβλαστών και την έκκριση απ' αυτούς συστατικών της εξωκυττάριας ουσίας (διεγείρουν δηλ. την ινοπλασία).

Οι κυριότερες κυτοκίνες είναι: η Ιντερλευκίνες (IL-1 έως 8), η Ιντερφερόνες (IFN-α, IFN-β, IFN-γ), οι παράγοντες νέκρωσης όγκων (Tumor necrosis factor, TNFα, TNFβ), ο επιδερμικός αυξητικός παράγων (Epidermal growth factor, EGF), ο μετατρέπτικός αυξητικός παράγων (Transforming Growth factor, TGF), οι παράγοντες διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων (CSF) κλπ.



ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ

Οι δείκτες πολλαπλασιασμού (Νακοπούλου 1999) χρησιμοποιούνται από καιρό από τους ιστοπαθολόγους, που τους προσδιορίζουν με διάφορους τρόπους, και αποτελούν χρήσιμο βοήθημα κυρίως σε σχέση με την κλινική πορεία όγκων (Bouzubar et al 1989, Takeshi et al 1993, McCormick et al 1993, Gazitt et al 1993, Weidner et al 1994). Ο απλούστερος τρόπος είναι η καταμέτρηση των κυττάρων σε μίτωση, μέθοδος η οποία προσφέρει χρήσιμες πληροφορίες για την πρόγνωση διαφόρων καρκίνων. Παρόλα αυτά η μέτρηση των μιτώσεων δεν είναι απόλυτα αξιόπιστη μέθοδος και χαρακτηρίζει μόνο ένα μέρος του κυτταρικού κύκλου, την φάση Μ, ενώ δεν χαρακτηρίζει την χρονική διάρκεια της μιτωτικής φάσης.

Υπάρχουν όμως και άλλες τεχνικές για τον ακριβή προσδιορισμό του δείκτη πολλαπλασιασμού ενός όγκου αν χρησιμοποιήσουμε την ενσωμάτωση σεσημασμένης θυμιδίνης- H^3 ή βρωμοδεοξουριδίνης και την κυτταρομετρία ροής, τεχνικές οι οποίες είναι δύσκολες, ακριβές, χρονοβόρες και αποτελούν ιδιαίτερα εξειδικευμένο γνωστικό αντικείμενο.

Αντιθέτως η ανοσοϊστοχημεία είναι μια μέθοδος απλή και γνωστή. Βασίζεται στην χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων τα οποία δεσμεύουν ειδικά αντιγόνα, για να προσδιορίσει το κλάσμα ανάπτυξης των ιστών.

Τα αντιγόνα πολλαπλασιασμού εκφράζονται στον πυρήνα των κυττάρων σε συγκεκριμένες φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Τα περισσότερο μελετημένα είναι το PCNA/cyclin και το Ki67 (Masuda et al 1992).

PCNA

Το αντιγόνο PCNA/cyclin είναι πυρηνική πρωτεΐνη (36 kilodalton), η έκφραση της οποίας σχετίζεται με την φάση S του κυτταρικού κύκλου. Νεότερες μελέτες υποστηρίζουν ότι η PCNA/cyclin αποτελεί βοηθητική πρωτεΐνη της δ-DNA πολυμεράσης που παίζει σημαντικό ρόλο στην έναρξη του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

Το γονίδιο της εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 20, έχει κλωνοποιηθεί και έχει ολοκληρωτικά καθοριστεί η αλληλουχία του. Το επίπεδο της PCNA πρωτεΐνης αυξάνει απότομα στο μέσο της φάσης G1 του κυτταρικού κύκλου, φτάνει στο ανώτερο επίπεδο κατά την διάρκεια της S φάσης και αρχίζει να ελαττώνεται από την G2, ενώ εξαφανίζεται στην φάση Μ. Στην φάση G0 η PCNA δεν ανιχνεύεται. Έτσι η ανοσοανίχνευση PCNA αποτελεί δείκτη του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (Hall et al 1990, McCormick & Hall 1992), δηλαδή επιδεικνύει τα ενεργώς διαιρούμενα κύτταρα στην S φάση κυρίως.

Η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της PCNA εμφανίζει συσχέτιση με τους λοιπούς δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού και παρουσιάζει αυξημένη έκφραση σε καρκινώματα και συχνά σχετίζεται με επιθετική βιολογική συμπεριφορά (Νακοπούλου και συν 1995).

Πάνω από 12 μονοκλωνικά αντισώματα έχουν παραχθεί εναντίον της PCNA και αρκετά από αυτά (πχ. PC10, 19A2, 19F4) είναι εμπορικά διαθέσιμα. Τα αντισώματα αυτά μπορούν να εφαρμοστούν πλέον σε παθολογοανατομικά παρασκευάσματα ρουτίνας, καθώς είναι δραστικά σε τομές παραφίνης.

Ki67

Είναι μονοκλωνικό αντίσωμα (Takeshi et al 1993, Gazitt et al 1993, Weidner et al 1994), το οποίο αναγνωρίζει ένα πυρηνικό αντιγόνο που εκφράζεται σε όλες τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου πολλαπλασιαζομένων κυττάρων (G1, S, G2, M), εκτός από την φάση G0 (φάση ανάπαυσης). Το αντιγόνο αυτό είναι μια άνευ ιστόνης

πρωτεΐνη, που αποτελείται από δύο πεπτιδικές αλυσίδες με μοριακά βάρη 345 και 395 KD.

Οι περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι το Kι67 αντιγόνο αυξάνει ποοδευτικά στον μιτωτικό κύκλο. Η αύξηση εμφανίζεται στο δεύτερο μισό της φάσης S και φτάνει στο ανώτερο όριο στις φάσεις G2 και M.

Με την πιθανή εξαίρεση των τροφικών αποστερημένων κυττάρων, όπου το Kι67 μειώνεται, η ανοσοανίχνευση του Kι67 αντισώματος έχει βρεθεί να είναι ένας εξαιρετικός δείκτης του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, που ειδικά στον καρκίνο (πχ. μαστού) συσχετίζεται με την ιστολογική ταξινόμηση και το M.F.C. (Mitotic Figure Count).

ΜΕΤΑΛΛΟΘΕΙΟΝΙΝΗ

Οι Μεταλλοθειονίνες (MTs) αποτελούν μια οικογένεια πρωτεϊνών που έχουν την ιδιότητα να συνδέουν ιόντα βαρέων μετάλλων της ομάδας IIb. Είναι πρωτεΐνες μονής αλυσού, πλούσιες σε κυστεΐνη και μικρού μοριακού βάρους, περίπου 6000 Daltons. Παρουσιάζουν έναν υψηλό βαθμό ομολογίας στην αλληλουχία τους, που διατηρείται σε όλο το ζωϊκό βασίλειο, γεγονός από μόνο του υποδεικνύει μια ιδιαίτερη σημασία τους για τα έμβια όντα επί της Γης (Hamer 1986, Fresno et al 1993, Zelger 1993, Woo & Laso 1997, Shoo et al 1997).

Οι τύποι που υπάρχουν στα θηλαστικά, έχουν 61 αμινοξέα συμπεριλαμβανομένων περίπου 20 υπολλειμάτων κυστεΐνης, αλλά καθόλου αρωματικά αμινοξέα ή ιστιδίνη ή λευκίνη. Κατ' αυτόν τον τρόπο έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε θείο (11%).

Το περιεχόμενο σε μέταλλα της κεκαθαρωμένης MT ποκύλλει πολύ και εξαρτάται από τον οργανισμό, τον ιστό και την προηγηθείσα έκθεση σε βαρέα μέταλλα. Πχ. η MT από βιοψία ανθρώπινου ήπατος περιέχει σχεδόν αποκλειστικά ψευδάργυρο, ενώ η MT του νεφρού περιέχει σημαντικά επίπεδα καδμίου και χαλκού. Αυτές οι διάφορες πιθανώς αντανakλούν τόσο την φυσική έκθεση των οργάνων σε μέταλλα, όσο και την έκφραση διαφορετικών ισοτύπων MT.

Στα θηλαστικά υπάρχουν δύο υποομάδες ή ισομορφές, που δύνανται να διαχωριστούν με ηλεκτροφόρηση, και αναφέρονται ως MT1 και MT2 (Anstey et al 1996). Οι ισομορφές αυτές παρουσιάζουν μικρές διαφορές ως προς την χημική συγγένεια σύνδεσής τους με τα ιόντα μετάλλων αλλά φαίνονται να έχουν παρόμοιες βιοχημικές ιδιότητες. Γι' αυτό συχνά αναφερόμαστε συχνά σ' αυτές στον ενικό (MT αντι MTs).

Ως σήμερα έχουμε προσηλώσει την αντίληψή μας στην κατανόηση της λειτουργίας της MT σ' ότι αφορά τον ρόλο της στην μεταφορά των μεταλλικών ιόντων, στην τροφοδοσία ιχνοστοιχείων (mineral nutrition) και στην αποτοξίνωση από μέταλλα και άλλα χημικά στοιχεία (Fuller et al 1990, Schmid et al 1993). Οι MTs φαίνονται να παύζουν έναν ομοιοστατικό ρόλο στον έλεγχο του εξωκυττάριου ψευδαργύρου και στην αποτοξίκωση απ' τον χαλκό και κυρίως από το κάδμιο (Jasan et al 1998).

Άλλες πιθανές λειτουργίες που υποδεικνύονται για την MT περιλαμβάνουν συμμετοχή στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, την κυτταρική διαφοροποίηση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό αλλά και την καρκινογένεση (National Cancer Institute Workshop 1993, Belger et al 1993, Schmid et al 1993, Dietmar et al 1994, Anstey et al 1996, Jasan et al 1998, Fuentealba et al 1999).

Έτσι οι MTs έχουν συχνά συσχετιστεί με ταχέως αναπτυσσόμενους ιστούς όπως το εμβρυϊκό και το νεογνικό ήπαρ (Fuller et al 1990). Οι διαπιστώσεις αυτές είναι σε συμφωνία με το γεγονός ότι η MT παύζει σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση



του ψευδαργύρου, ενός μετάλλου σημαντικού στην καρκινική αύξηση και πρόοδο (National Cancer Institute Workshop 1993, Belger et al 1993, Schmid et al 1993, Dietmar et al 1994, Anstey et al 1996, Jasan et al 1998, Fuentealba et al 1999).

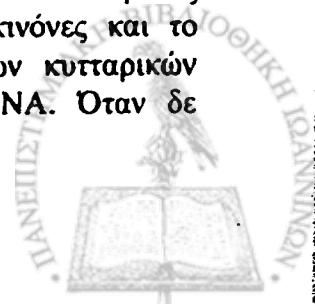
Οι MTs είναι πανταχού παρούσες και η αλληλουχία τους σε αμινοξέα διατηρείται πολύ οπουδήποτε βρίσκονται υπολλείματα κυστεΐνης. Αυτά εμφανίζονται σε μοτίβο όπου τα ζεύγη κυστεΐνης διαχωρίζονται από ένα ή δύο αμινοξέα μη κυστεϊνικά (πχ.CXC,CXXC). Οι πολλαπλές ομάδες θείου καθιστούν αυτό το μόριο έναν δυνατό καθαριστή, όχι μόνο για τα μέταλλα τα οποία δεσμεύει άπληστα, αλλά επίσης για μεταβολίτες που θα μπορούσαν να είναι καρκινογενετικοί ή αντικαρκινογενετικοί (National Cancer Institute Workshop 1993). Ο βαθμός και η δυναμική αυτής της δέσμευσης θα μπορούσε να καθορίζει την ευπάθεια ενός κυττάρου ή ενός οργανισμού στο οποίο ένας όγκος αναπτύσσεται ή υποχωρεί (National Cancer Institute Workshop 1993). Διάφορα στοιχεία υποδεικνύουν κάποιο ρόλο της MT σε καρκινογενετικές διαδικασίες (Douglas – Jones et al 1995). Υπάρχουν σαφείς πληροφορίες ότι συγκεκριμένοι όγκοι παρουσιάζουν αυξημένη συγκέντρωση MT. Ίσως η πρωτεΐνη αυτή παίζει κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη αντίστασης των ιστών στα καρκινογόνα μέταλλα όπως το κάδμιο, αλλά και φαρμακευτικής αντίστασης σε συνθετικά χημειοθεραπευτικά μέταλλα όπως η σισπλατίνη (Wood et al 1993).

Τα γονίδια της MT είναι γενικώς υψηλά επαγωγίμα. Ποικιλία ενδογενών παραγόντων όπως περίσσεια μη ανθεκτικών μετάλλων, διδύναμες ορμόνες μετάλλων, τα γλυκοκορτικοειδή, η ιντερφερόνη, οι αυξητικοί παράγοντες, οι κυτοκίνες και ογκογενετικοί παράγοντες φάνηκαν να προκαλούν έκφραση των MT γονιδίων τα οποία διαφορετικά εκφράζονται σε σχετικώς χαμηλά βασικά επίπεδα. Τέτοια μεταφραστική απάντηση είναι τυπική της κυτταρικής άμυνας και υποδηλώνει στενή σχέση με την φυσιολογική ή παθολογική αύξηση. Επιπλέον οι MTs ενέχονται σε κάθε μορφή stress ή τραυματισμού (φλεγμονή, ισχαιμία, ιονίζουσα ακτινοβολία, κατεστραμμένο DNA από UV ακτινοβολία, κυτταροτοξικότητα από αλκυλιωτικούς παράγοντες), εξασφαλίζοντας έναν κυτταροπροστατευτικό μηχανισμό ενάντια στα δυνητικώς βλαπτικά αποτελέσματα από τις ελεύθερες ρίζες O₂ (Sunardhi – Widyaratna et al 1995).

Υπάρχουν σήμερα *in vitro* αποδείξεις, ότι η MT είναι σημαντική για την προστασία των κυττάρων των θηλαστικών ενάντια στην υπεριώδη ακτινοβολία και τους αλκυλιωτικούς παράγοντες (Zelger et al 1993, Anstey et al 1996).

Οι MTs φυσιολογικά δεν εκφράζονται σταθερά στους ιστούς σε ποσότητες ανιχνεύσιμες ανοσοϊστοχημικά, με εξαίρεση ορισμένους τύπους κυττάρων όπως τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα του νεφρού και τα θυρεοειδικά επιθηλιακά κύτταρα (Wood 1993).

Πρόσφατες μελέτες πάντως υπέδειξαν φωτοεπαγωγή της MT στο δέρμα ποντικών αλλά και σε ανθρώπινο δέρμα *in vivo*, από υπεριώδη ακτινοβολία (Anstey et al 1996). Εάν η MT έχει ένα ρόλο στην προστασία από την UV-προκαλούμενη κυτταρική καταστροφή, αυτό ίσως απλά οφείλεται στην ιδιότητά της να «καθαρίζει» το κύτταρο από τις ελεύθερες ρίζες. Στα ποντίκια, η επαγωγή της MT παρουσιάστηκε ως δυνητικός τρόπος προστασίας έναντι της κυτταρικής βλάβης της προκαλούμενης από την UV ακτινοβολία. Οι ενεργές ρίζες οξυγόνου που προκύπτουν από ενδογενώς υπάρχοντα χρωμοφόρα όπως η ριβοφλαβίνη, οι πορφυρίνες, οι κινόνες και το NADPH προκαλούν υπεροξειδωση των λιπιδίων, καταστροφή των κυτταρικών μεμβρανών, μετουσίωση των πρωτεϊνών και καταστροφή του DNA. Όταν δε υπάρχουν σε πληθώρα οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο.



In vitro απέδείχθη ότι η δημιουργία «ηλιοκαμένου δέρματος», μειώθηκε σημαντικά με την πρόσθεση «καθαριστών» των ελεύθερων ριζών στο UV-ακτινοβολημένο δέρμα (Hall et al 1993), Takahashi et al 1993). Η MT είναι ένας δυναμικός «καθαριστής» των ελευθέρων υδροξυλικών ριζών και προστατεύει το DNA από την οξειδωτική βλάβη (Zelger et al 1993, Anstey et al 1996).

Σε ένα μοντέλο ποντικών καταδείχθηκε επίσης ότι η MT μείωσε τον σχηματισμό κυττάρων που υπέστησαν ηλιακό έγκαυμα, μείωσε τον χημειοβιοφωτισμό εξαιτίας των ριζών υπεροξειδίων και επίσης κατέστειλλε την ένταση σήματος από τις υδροξυλικές ρίζες, που παράγεται από το σύστημα αντίδρασης Fenton. Κατά τα συμφραζόμενα, η επαγωγή της MT από την υπεριώδη ακτινοβολία in vitro και in vivo, ίσως να είναι ιδιαίτερα αρμόζουσα και αναγκαία απάντηση.

Εάν για την καταστροφή του κυτταρικού DNA μεσολαβούν ελεύθερες ρίζες, τότε η επαγωγή της MT ίσως αναλαμβάνει μια λειτουργική σημασία μέσα από την ιδιότητά της να «καθαρίζει» τις ελεύθερες ρίζες (Miyachi et al 1983, Tharmalley et al 1985, Hanada et al 1991; 1993). Συσχετίζοντας τα ανωτέρω με την σχετική ταχύτητα της απάντησης, υποδεικνύεται ένας δραματικός φυσιολογικός ρόλος για την MT στα ανθρώπινα δερματικά κύτταρα. Ο ρόλος του «οδοκαθαριστή» της MT ως προς τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, ίσως είναι μερικώς υπεύθυνος για την φωτοπροστατευτική της δράση.

Αυτό αναμένεται να ασκεί μια «αντι-νεοπλασματική» επίδραση περιορίζοντας την χρωμοσωμική αστάθεια και όθεν τον ρυθμό της κλωνικής απάντησης. Όμως σε μια κρίσιμη «ισορροπία» θα μπορούσε παραδόξως και να βοηθήσει την καρκινική απάντηση περιορίζοντας την καταστροφή του DNA, η οποία άλλως θα έφτανε σε θνησιγόνα επίπεδα, τη ελλείψη «σημείων – ελέγχου» του κυτταρικού κύκλου. Αυτές οι εναλλακτικές υποθέσεις είναι προς εξέταση προκειμένου να καθοριστεί ο πιθανός ρόλος της MT στην ογκογένεση.

Εκτός απ' τους παράγοντες που καταστρέφουν το DNA, η MT επίσης επάγεται από ένα ευρύ φάσμα άλλων παραγόντων (βαρέα μέταλλα, ορμόνες, κυτοκίνες κλπ.) όπως έχει προαναφερθεί (Fuller et al 1990, Dietmar et al 1994). Είναι πιθανόν ότι η έκφραση της MT στο δέρμα και ιδίως στο χόριο, που ακολουθεί την επίδραση UV ακτινοβολίας, δεν εκπροσωπεί τίποτα περισσότερο από ένα επιφανόμενο. Λαμβάνοντας υπόψη την αμελητέα διείσδυση της UVB στο χόριο, μια εναλλακτική εξήγηση για την αυξημένη MT στους ινιβλάστες του δέρματος μετά από έκθεση σε UV, είναι η επαγωγή των κυτοκινών όπως επίσης και ενός αριθμού άλλων πρωτεϊνών προερχομένων από τους ινοβλάστες.

Άλλωστε ένας καταρράκτης από κυτοκίνες απελευθερώνονται απ' την επιδερμίδα μετά την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας και η έκφραση της MT είναι γνωστό ότι επάγεται από τις κυτοκίνες.

Εάν αυτός είναι ο μηχανισμός για την δερματική επαγωγή της MT λόγω UV-επίδρασης, τότε η σημασία του παίρνει άλλη διάσταση, καθώς το να επισημαίνει την δερματική βλάβη στο ανοσοποιητικό σύστημα είναι μια πιθανότητα που έρχεται στο προσκήνιο.

Συμπερασματικά υπάρχουν συσσωρευμένα στοιχεία που υποδεικνύουν ότι η MT έχει έναν πολύπλευρο φωτοπροστατευτικό ρόλο και ίσως αυτός εμφανίζεται in tandem με την οδό της κυτοπλασματικής πρωτεϊνικής κινάσης Ha-ras1 ως κομμάτι του παζλ της SOS απάντησης στην UVA (Imbra & Karim 1987, Takahashi et al 1993).



1990 400 29

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το περύγιο είναι μια νοσολογική οντότητα, που αφορά εκατομμύρια ανθρώπους που ζουν σε περιοχές γύρω από τον Ισημερινό, προκαλώντας ποικιλία συμπτωμάτων, από δυσανεξία και ερεθισμό, έως τύφλωση, σε παραμελημένες περιπτώσεις. Η Ελλάδα λόγω γεωγραφικής θέσης είναι από τις περιοχές του κόσμου όπου η επίπτωση του περυγίου είναι αυξημένη, ώστε να αποτελεί αυτό συχνή αιτία για προσέλευση ασθενών στον οφθαλμίατρο, προς αναζήτηση θεραπευτικής ανακούφισης των συμπτωμάτων και χειρουργικής αντιμετώπισης.

Ως γνωστόν παρότι το περύγιο έχει ιστορία 3000 χρόνων, η αιτιολογία του, η παθογένεια αλλά και η θεραπεία του αποτελούν ακόμη αντικείμενο έρευνας και συζήτησης. Από τα ήδη αναφερθέντα νεότερα δεδομένα για την νοσολογική αυτή οντότητα καθίσταται προφανές ότι υπάρχει προσπάθεια να χρησιμοποιηθούν νεότερες ερευνητικές τεχνικές και δυνατότητες ώστε να προκύψουν καινούρια στοιχεία σχετικά με την παθογένεια της νόσου, με την προοπτική φυσικά, ότι κάθε νέα πληροφορία εξειδικευμένη και λεπτομερειακή, θα χρησιμεύσει στην ερμηνεία της αιτιοπαθογένειας και βέβαια ακολούθως στην θεραπευτική αντιμετώπιση και γιατί όχι στην πρόληψη.

Με αυτό το σκεπτικό διενεργήθηκε η παρούσα κλινική και ερευνητική εργασία. Συγκεκριμένα αντιμετωπίστηκαν χειρουργικά 100 περύγια από ισάριθμους ασθενείς και ακολούθως οι αφαιρεθέντες ιστοί υποβλήθηκαν σε ανοσοϊστοχημική μελέτη, με χρήση όλων των νεότερων δυνατοτήτων που δίνει η σύγχρονη ανοσοϊστοχημεία. Ο στόχος ήταν να έρθουν στο φως νέες πληροφορίες και εις βάθος ερευνητικά δεδομένα, σχετικά με παραμέτρους που θα δώσουν νέες προοπτικές σκέψεις σχετικά με την αιτιοπαθογένεια του περυγίου.

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη κινήθηκε σε δύο άξονες: 1) Διερεύνηση της ανόδοιστοχημικής έκφρασης του HLA-DR αντιγόνου στα επιθηλιακά κύτταρα του περυγίου σε σχέση με τους λεμφοκυτταρικούς υποπληθυσμούς (CD4, CD8), μακροφάγα (CD68) και κύτταρα Langerhans' (S-100) και δείκτες πολλαπλασιασμού (PCNA και Ki67) και 2) Διερεύνηση της έκφρασης της Μεταλλοθειονίνης στα ίδια κύτταρα.

Η πρώτη κατεύθυνση σχετίζεται με τις ως σήμερα υποθέσεις που έχουν διατυπωθεί για την «ανοσολογική» βάση του περυγίου. Η δεύτερη κατεύθυνση αποτελεί διερεύνηση μιας παραμέτρου που σχετίζεται με την αιτιογόνο δράση της υπερϊώδους ακτινοβολίας στο περύγιο.

Εκτός από τις ανωτέρω παραμέτρους μελετήθηκε η έκφραση και άλλων παραγόντων που θα αναπτυχθούν παρακάτω, ώστε να πλουτιστεί η ερευνητική διαδικασία και να ενδυναμωθούν οι υποθέσεις και τα συμπεράσματα που θα προέκυπταν.

Παράλληλα μελετήθηκαν ως μάρτυρες φυσιολογικοί επιπεφυκότες αλλά και στεάτια, καθώς τα τελευταία έχουν ίδια ιστολογική εικόνα και ίσως μοιράζονται κάποιους αιτιογόνους παράγοντες με το περύγιο, αλλά έχουν σαφώς διαφορετική συμπεριφορά και εξέλιξη.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της έρευνας οδήγησε σε νέα δεδομένα σχετικά με την ανοσολογική συμπεριφορά αλλά και την λειτουργία των επιθηλιακών κυττάρων του περυγίου σε μοριακό επίπεδο, όπως επίσης και σε ενδιαφέρουσες κλινικές συσχετίσεις.



ΑΣΘΕΝΕΙΣ - ΥΛΙΚΟ - ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Για την κλινική μελέτη χειρουργήθηκαν για αφαίρεση πτερυγίου 100 ασθενείς κατά την διάρκεια τριών περίπου ετών. Οι ασθενείς προέρχονταν από την ευρύτερη περιοχή της Ηπείρου και των Ιονίων νήσων.

48 ήταν άνδρες και 52 γυναίκες, με ηλικίες που ποικίλλουν μεταξύ 29 και 80 ετών (Μέση ηλικία: 60 έτη).

83 εκ των ασθενών απασχολούνταν κυρίως στην ύπαιθρο όντας κυρίως αγρότες. Πιο συγκεκριμένα 78 ήταν αγρότες και κτηνοτρόφοι, 5 ήταν εργάτες απασχολούμενοι σε εξωτερικές εργασίες στην ύπαιθρο (οικοδόμοι, εργοδηγοί κλπ.). Από τους υπόλοιπους 17, οι 8 ήταν άτομα που ζούσαν και εργάζονταν σε περιβάλλον με επιβαρυνμένη από σκόνης και ρύπους ατμόσφαιρα. Έτσι 4 ήταν μαρμαράδες, 3 ήταν ξυλουργοί και 1 οξυγονοκολλητής.

Οι υπόλοιποι 9 ήταν: 5 γυναίκες που η εργασία τους ήταν σ' όλη την ζωή τους τα οικιακά και 4 άνδρες συνταξιούχοι που οι προηγούμενες εργασίες τους ήταν υπαλληλικές σε εσωτερικούς χώρους, χωρίς ατμοσφαιρική ρύπανση.

11 εκ των πτερυγίων που αφαιρέθηκαν ήταν υποτροπιάζοντα. Εξ' αυτών τα 8 αφαιρούνταν για δεύτερη, ενώ τα 3 για τρίτη φορά. 7 πτερύγια ήταν διπλά, δηλαδή εντοπίζονταν ρινικά και κροταφικά στον ίδιο οφθαλμό.

Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν 20 τμήματα επιβολβικού επιπεφυκότα από την ρινική πλευρά και πλησίον του σκληροκερατοειδούς ορίου. Αυτά αφαιρέθηκαν από ισάριθμους ασθενείς, κατά την διάρκεια χειρουργείου είτε αφαίρεσης καταρράκτη είτε αμφιβληστροειδούς (2 περιπτώσεις αποκόλλησης). Οι ασθενείς από όπου προέκυψαν τα δείγματα επιπεφυκότα δεν είχαν ιστορικό χρόνιας οφθαλμικής νόσου, ούτε είχαν χρησιμοποιήσει οφθαλμικά σκευάσματα στο παρελθόν. Η μέση ηλικία των ασθενών αυτών ήταν 61,5 έτη, ενώ επρόκειτο για 11 γυναίκες και 7 άνδρες.

Επίσης εξετάστηκαν 20 στεάτια που αφαιρέθηκαν από ισάριθμους ασθενείς, είτε κατά την διάρκεια χειρουργείου καταρράκτη (8 περιστατικά), είτε σε αυτόνομες επεμβάσεις αφαίρεσης στεατίου (12 περιστατικά), σε περιπτώσεις που η υπερπλαστική βλάβη προκαλούσε προβλήματα, όπως πχ. ερεθισμό, χρόνια φλεγμονή, dellen ή αισθητική ενόχληση. Η μέση ηλικία των ασθενών αυτών ήταν 60 έτη και επρόκειτο για 13 γυναίκες και 7 άνδρες.

Πριν την επέμβαση συμπληρώνονταν ένα ερωτηματολόγιο από τους ασθενείς σχετικά με κλινικές παραμέτρους που θα χρησιμοποιούνταν για την περαιτέρω συγκριτική μελέτη και στατιστική ανάλυση. Τα στοιχεία που συμπληρώνονταν ήταν: η ηλικία, το φύλο, η εργασία (για πιθανή περιβαλλοντική επιβάρυνση κυρίως από υπεριώδη ακτινοβολία), η διάρκεια της νόσου (ηλικία του πτερυγίου), προηγούμενη επέμβαση ή υποτροπή, οικογενειακό ιστορικό πτερυγίου.

Μετά την προεγχειρητική κλινική εξέταση σημειωνόταν επίσης η ύπαρξη πτερυγίου στον άλλο οφθαλμό.

Οι ασθενείς που συμμετείχαν στην ερευνητική εργασία δεν χρησιμοποιούσαν οφθαλμολογικά φαρμακευτικά σκευάσματα προ της επέμβασης.

Όλες οι επεμβάσεις διενεργήθηκαν από τον ίδιο χειρουργό (την συγγραφέα του παρόντος πονήματος), με σταθερές υλικοτεχνικές συνθήκες.

Κατά την διάρκεια της χειρουργικής εξαίρεσης των πτερυγίων αλλά και των μαρτύρων ιστών δεν χρησιμοποιήθηκαν άλλα φάρμακα πέραν του τοπικού αναισθητικού [inj. Xylocaine-Adrenaline 2% (20mg/ml + 5μg/ml)].

Η χειρουργική μέθοδος που εφαρμόστηκε για την αφαίρεση των πτερυγίων αποτελεί παραλλαγή προηγουμένως περιγραφέντων μεθόδων αφαίρεσης και αποκατάστασης με κρημνό επιπεφυκότα (όπως η Z-πλαστική), που είχε εφαρμοστεί

στην Οφθαλμολογική κλινική του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων από τον Καθηγητή κ. Κ. Ψύλλα και τους συνεργάτες του. (Σχήμα 5)

Πραγματοποιήθηκε αφαίρεση του πτερυγίου με επιμελή καθαρισμό του διηθημένου κερατοειδούς. Έγινε καθαρισμός της τεννωσίου κάψας και του υποκείμενου του επιπεφυκότα ιστού του πτερυγίου σε όλο το επιτρεπτό βάθος προς τον έσω κανθό. Χρησιμοποιήθηκε με φειδώ διαθερμία για αιμόσταση στην γυμνή περιοχή του σκληρού. Για την κάλυψη της περιοχής αυτής χρησιμοποιήθηκε κρημνός επιβολβικού επιπεφυκότα, ο οποίος «καθαρίστηκε» από την υποκείμενή του τεννώσια κάψα. Ο κρημνός αφαιρέθηκε από την ανώτερη περιοχή πλησίον του σκληροκερατοειδούς ορίου και ως την δωδεκάτη (12) ώρα περίπου, και είχε σταθερή βάση. Το πλάτος ήταν περί τα 5mm ενώ το μήκος περί τα 8mm έως 1cm, ανάλογα με το εκάστοτε έλλειμα, λόγω του μεγέθους του πτερυγίου. Με την περιστροφή του κρημνού κάτω και ρινικά περί τις 90° γινόταν κάλυψη του γυμνού σκληρού (Σχήμα 5). Η στερέωση και η συρραφή του σκληρού πραγματοποιούνταν με ράμμα 7.0 silk και ενώ η συρραφή ρινικά και κάτω γινόταν ανάμεσα στον υπάρχοντα επιπεφυκότα και στον επιπεφυκοτικό κρημνό, το ράμμα στην κάτω κροταφική γωνία του κρημνού, ακριβώς στο όριο του σκληροκερατοειδούς ορίου σταθεροποιούνταν ελαφρά στον σκληρό, για την αποτελεσματικότερη σταθεροποίηση του κρημνού.

Μετά την επέμβαση γινόταν ενστάλλαξη κολλυρίου Τομπραμυκίνης-Δεξαμεθαζόνης και ίδιας αλοιφής και ο οφθαλμός κλεινόταν ελαφρώς πιεστικά για ένα εικοσιτετράωρο.

Η πρώτη επανεξέταση γινόταν μετά από 24 ώρες οπότε ο οφθαλμός έμενε ανοιχτός και η ακολουθούμενη φαρμακευτική αγωγή ήταν ενστάλλαξη μικτού κολλυρίου με αντιβιοτικό και κορτιζόνη 5 φορές ημερησίως. Η αγωγή αυτή ακολουθούνταν για 15 ημέρες από την επέμβαση με μείωση των ενσταλλάξεων σε τρεις φορές ημερησίως μετά την αφαίρεση των ραμμάτων. Ενστάλλαξη φυσικών δακρύων υπό υγρή μορφή κατά την διάρκεια της ημέρας και υπό μορφή γέλης πρό του ύπνου, συστήνονταν τόσο στην πρώτη μετεγχειρητική περίοδο, όσο και αργότερα, ανάλογα και με τα υποκειμενικά πιθανά ενοχλήματα του ασθενούς.

Οκτώ ημέρες μετά την επέμβαση γινόταν η επόμενη επανεξέταση και η αφαίρεση των ραμμάτων. Οι επόμενες επανεξετάσεις ήταν σε 15 ημέρες, σε ένα μήνα και ανά τρίμηνο για το πρώτο έτος και ανά εξάμηνο για τα επόμενα δύο έτη.

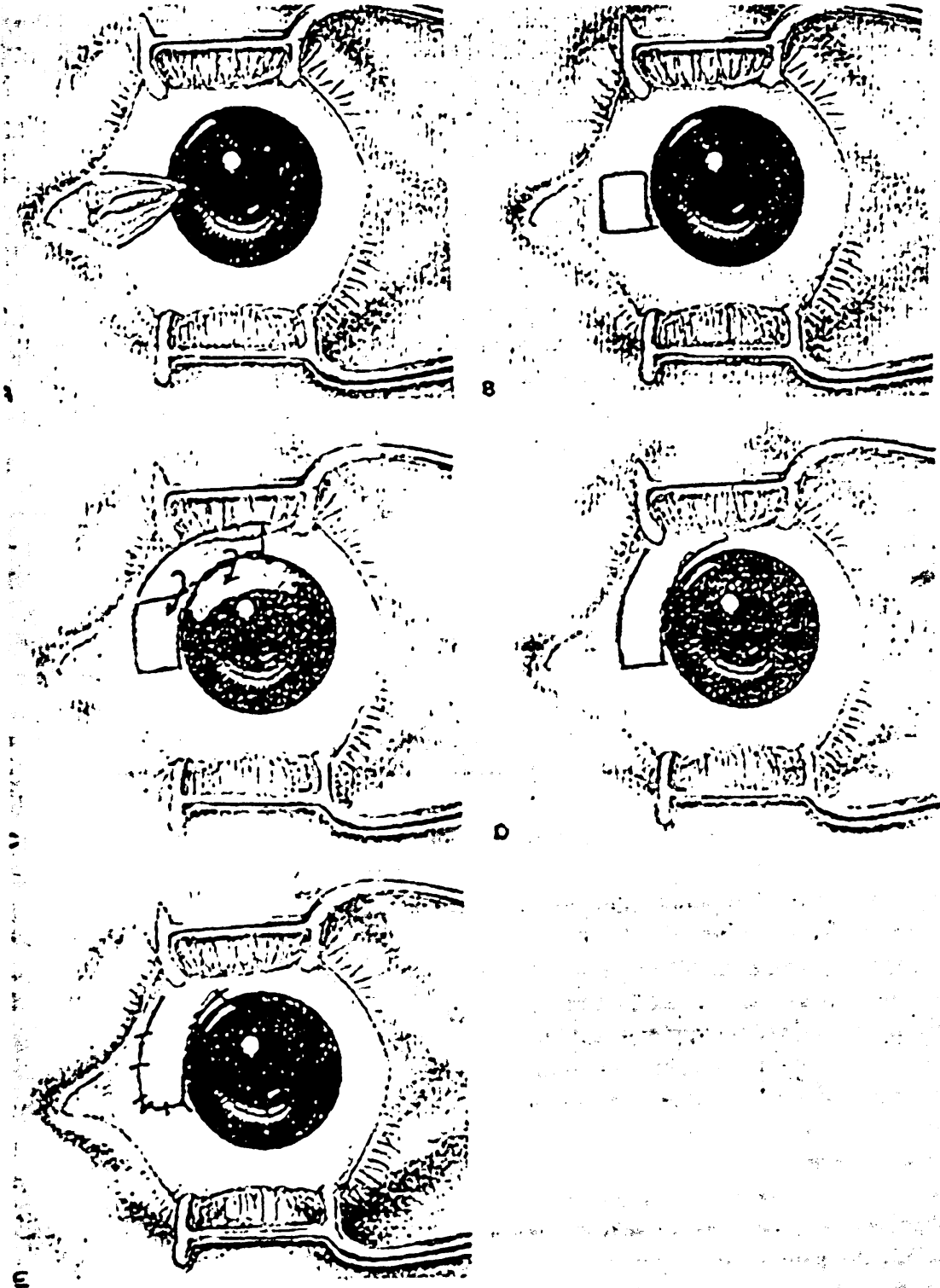
Φωτογράφιση γινόταν προ και αμέσως μετά την επέμβαση, ένα μήνα, τρεις μήνες, έξι μήνες, ένα έτος και δύο έτη μετά την επέμβαση (Βλέπε παράρτημα φωτογραφιών κλινικού μέρους), για την καλύτερη παρακολούθηση των ασθενών και την επίδειξη παραστατικών στοιχείων για την κλινική μας μελέτη.

Οι επιπλοκές που παρατηρήθηκαν μετά τις επεμβάσεις ήταν λίγες. Σε δύο ασθενείς παρατηρήθηκε πρόωρη ρήξη των ραμμάτων και διάσταση του κρημνού, που αποδόθηκε στην «δυσανεκτική» ιδιοσυγκρασία των ασθενών, οι οποίοι έτριψαν λόγω ερεθιστικών συμπτωμάτων τον πάσχοντα οφθαλμό, την πρώτη μετεγχειρητική περίοδο. Σ' αυτούς έγινε επανατοποθέτηση των ρηχθέντων ραμμάτων. Μία ασθενής παρουσίασε αλλεργική αντίδραση στο φαρμακευτικό σκεύασμα μετεγχειρητικά, με έντονο οίδημα επιπεφυκότα και βλεφάρων, οπότε έγινε αλλαγή του σκευάσματος, χωρίς περαιτέρω προβλήματα. Όλοι οι αφαιρεθέντες ιστοί (πτερύγια και μάρτυρες) παρελήφθησαν αμέσως μετά την επέμβαση από το παθολογοανατομικό εργαστήριο, φρέσκοι και στερεωμένοι με βελόνες στα άκρα του ιστοτεμαχίου, πάνω σε αποστειρωμένη σπάτουλα ώστε να είναι χαρακτηρισμένο το ρινικό τους άκρο προς το σκληροκερατοειδές όριο.

Οι ιστοί κόπηκαν και διατηρήθηκαν σε τομές παραφίνης 4μm.



Σχήμα 5: Σχηματική αναπαράσταση των βημάτων της χειρουργικής μεθόδου που εφαρμόστηκε.

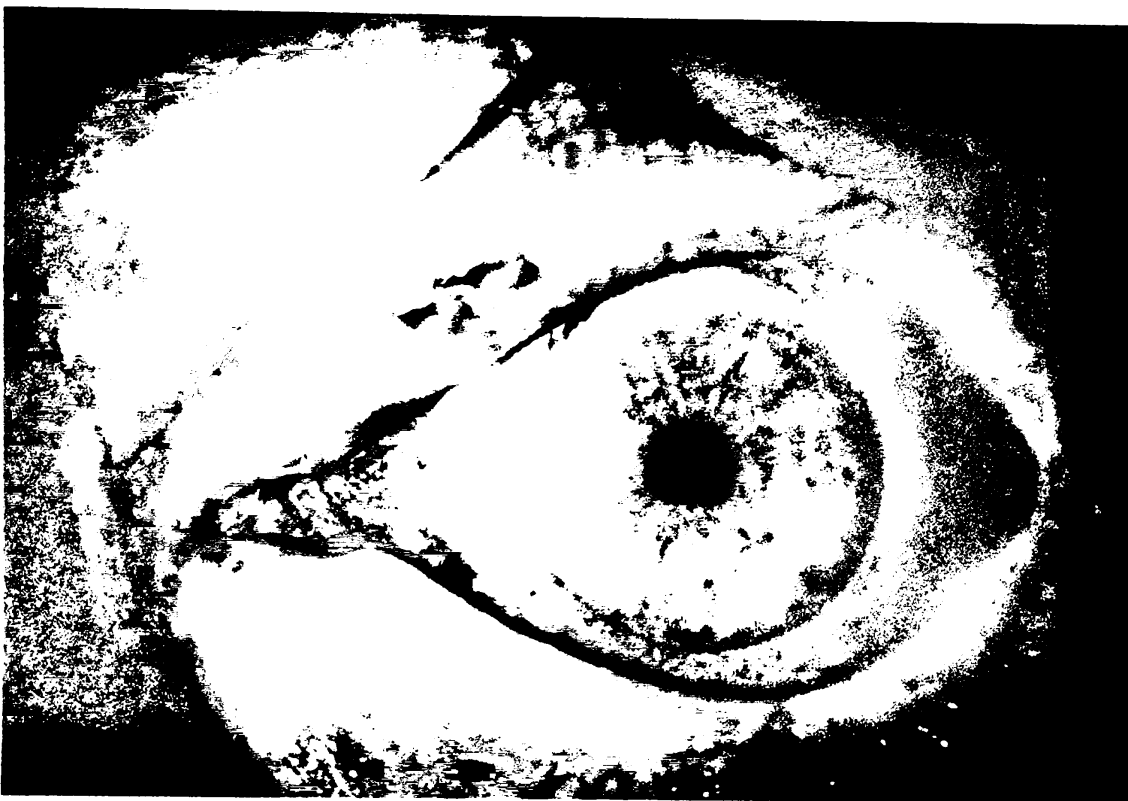


Περιστατικό 1: Πτερύγιο εμφανιζόμενο από πενταετίας περίπου, αριστερού οφθαλμού άρρενος ασθενούς, ηλικίας 57 ετών. Ιστολογικά το πτερύγιο ήταν «μικτού τύπου».



Φωτογραφία 1: Πτερύγιο πριν από το χειρουργείο





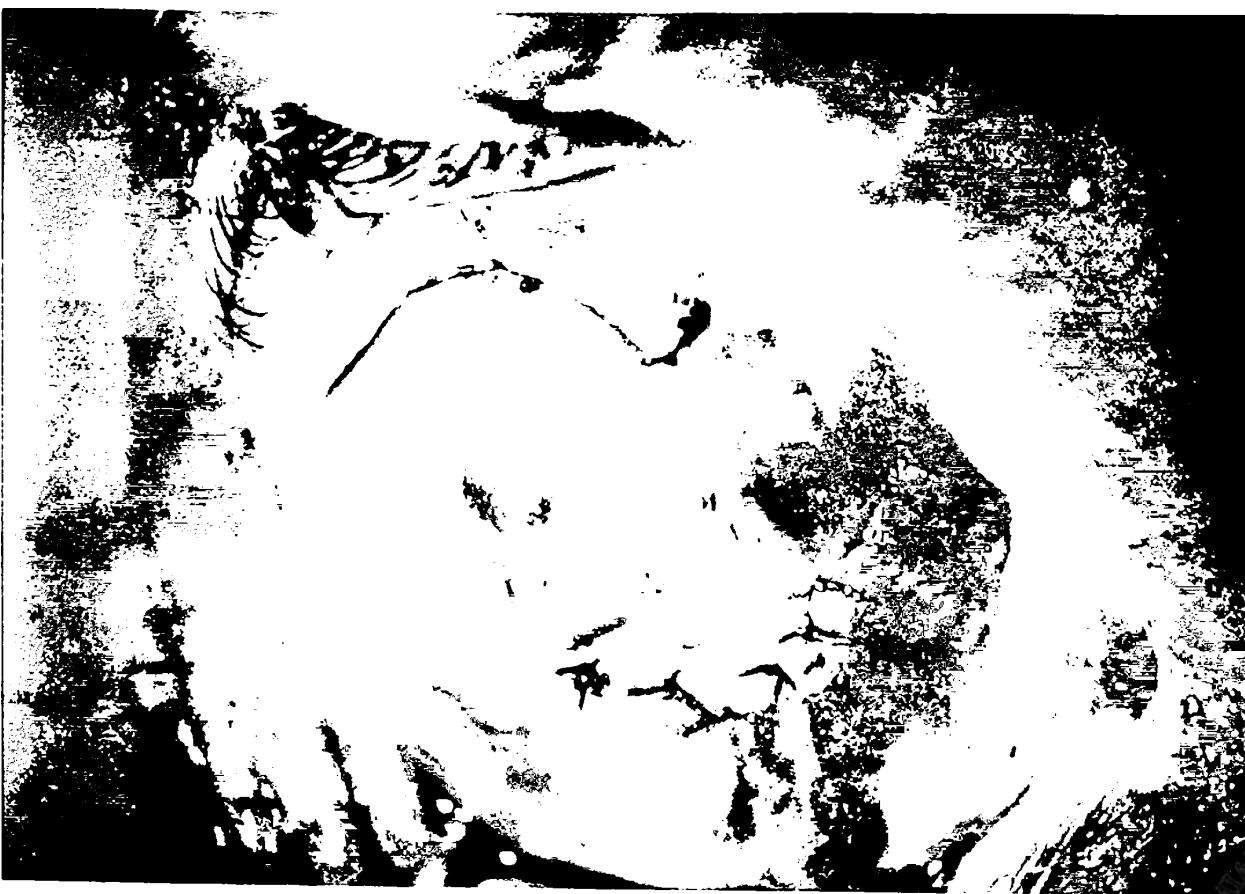
Φωτογραφία 3: Μία εβδομάδα μετά την επέμβαση και την αφαίρεση των ραμμάτων



Περιστατικό 2: Άρρενας ασθενής ηλικίας 72 ετών με πτερύγιο αμφοτεροπλευρά από 12 περίπου έτη. Ιστολογικά τα πτερύγια ήταν «αγγειώδους τύπου».



Φωτογραφία 1: Πτερύγιο πριν από το χειρουργείο (Δεξιός οφθαλμός)



Φωτογραφία 2: Αμέσως μετά την χειρουργική επέμβαση (Δεξιός οφθαλμός)





Φωτογραφία 3: Μία εβδομάδα μετά την επέμβαση και την αφαίρεση των ραμμάτων
(Αριστερά οφθαλμός)





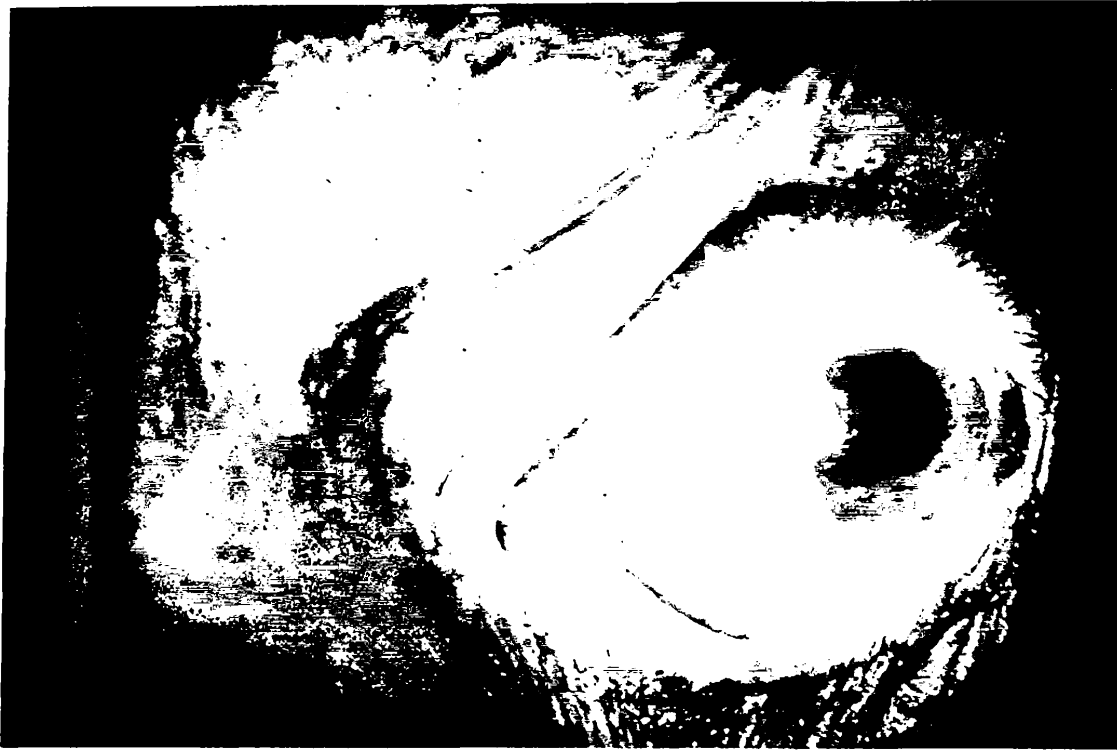
Φωτογραφία 5: 14 μήνες μετά την επέμβαση (Δεξιός οφθαλμός)





Εικόνα 7. Αμέσως μετά την χειρουργική επέμβαση (Αριστερός οφθαλμός)





Φωτογραφία 9: 12 μηνες μετά την επέμβαση. Έχει γίνει και εξωπεριφακτική αφαίρεση καταρράκτη. (Αριστερός οφθαλμός)

εριστατικό 3: Πτερύγιο δεξιού οφθαλμού σε άρρενα ασθενή ηλικίας 70 ετών. Το πτερύγιο χρονολογείται από 15 έτη περίπου. Ιστολογικά ήταν «αγγειώδους» τύπου.



φωτογραφία 1 Πτερύγιο πριν από το χειρουργείο





Φωτογραφία 3: Μία εβδομάδα μετά την επέμβαση και την αφαίρεση των ραμμάτων





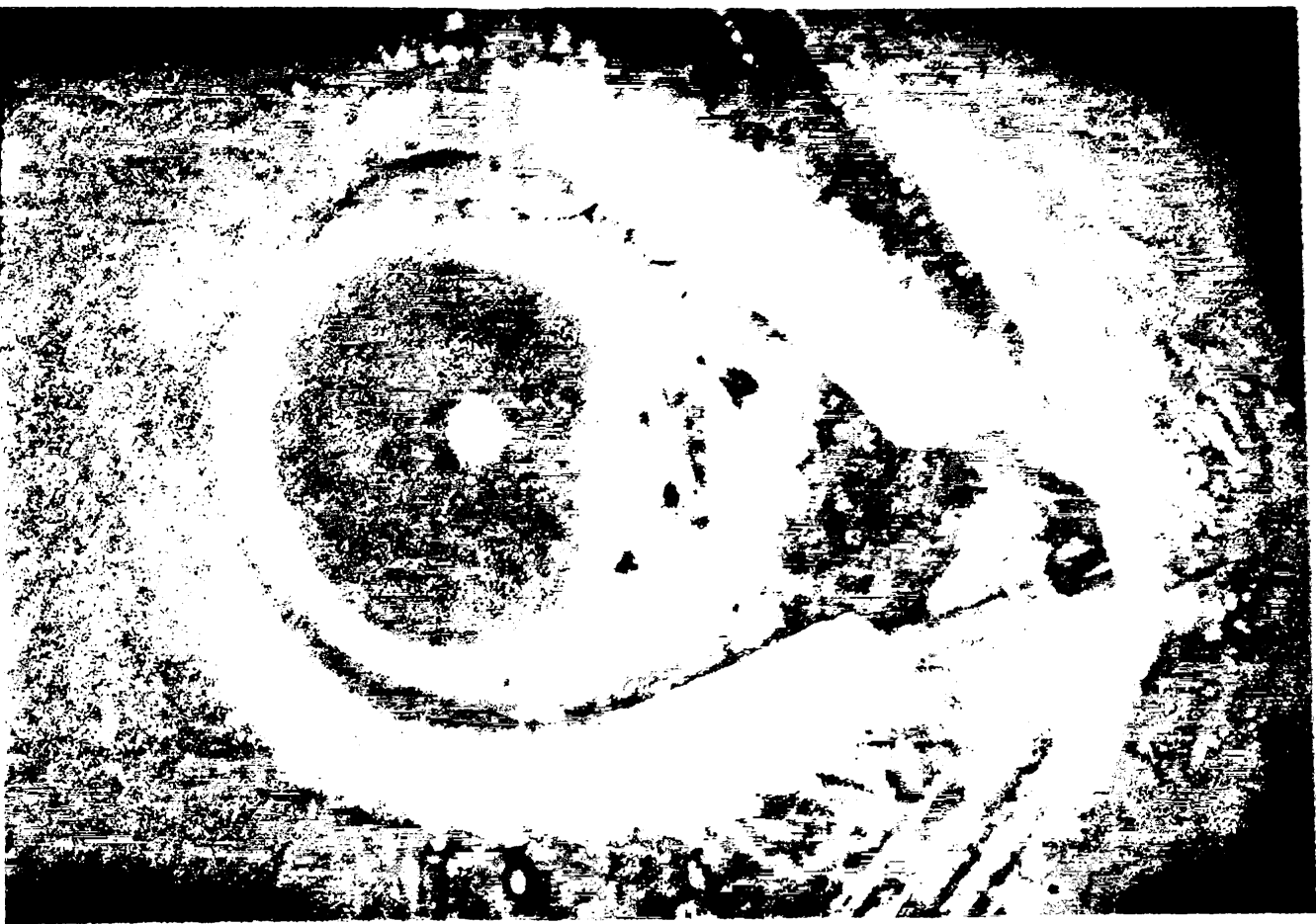
Φωτογραφία 5: 15 μήνες μετά την επέμβαση



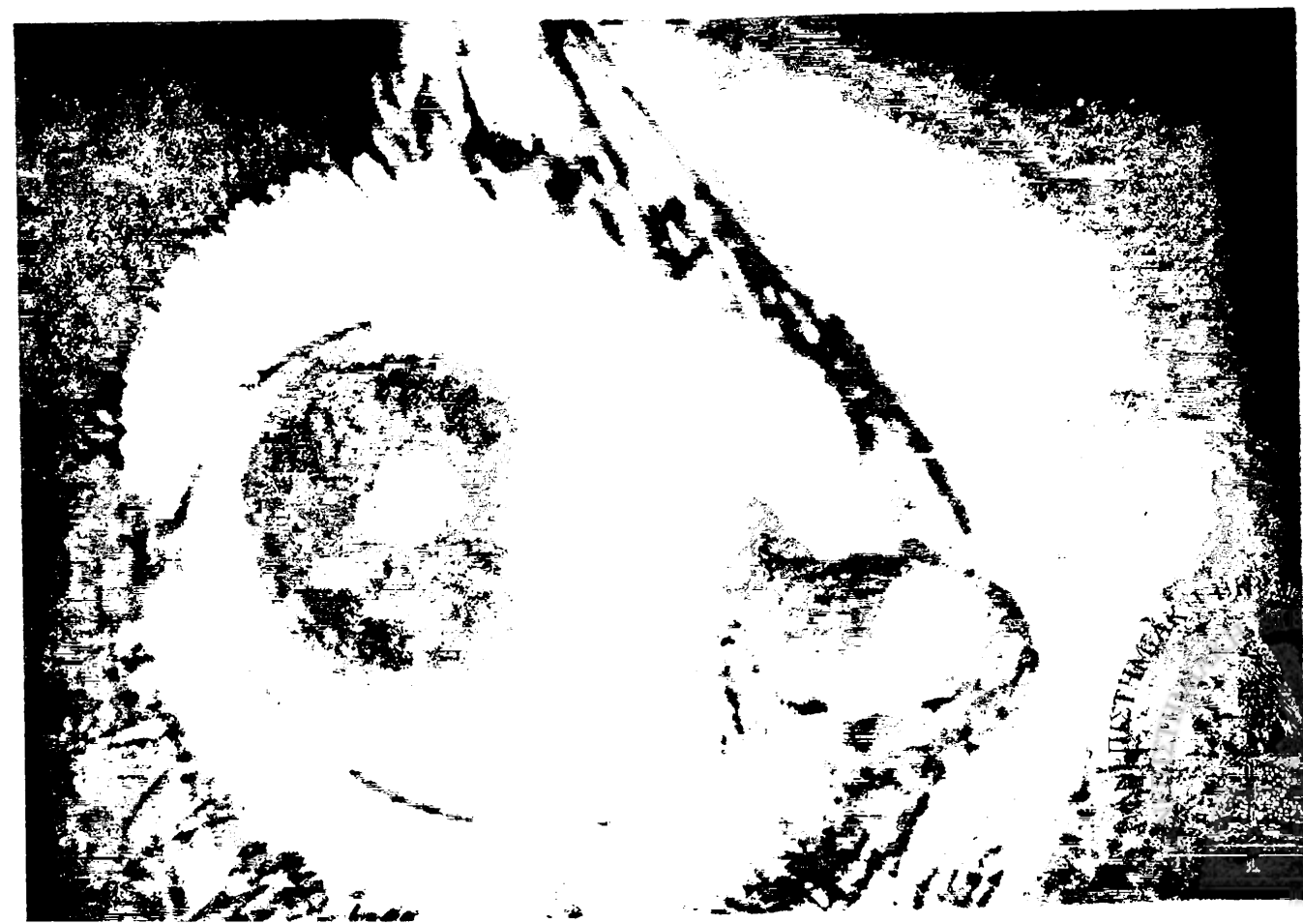


Φωτογραφία 1: Πτερυγίο πριν από το χειρουργείο





Ποτογράφιση. Μια εβδομάδα μετά την επιβίωση και την αφαίρεση των ραβμάτων



ΕΡΕΥΝΑ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ
ΕΡΕΥΝΑ



Φωτογραφία 5: 2.5 έτη μετά την επέμβαση

Περιστατικό 5: Πτερύγιο δεξιού οφθαλμού σε θήλυ ασθενή ηλικίας 65 ετών. Το πτερύγιο χρονολογείται από 7 έτη περίπου. Ιστολογικά ήταν «αγγειώδους» τύπου.



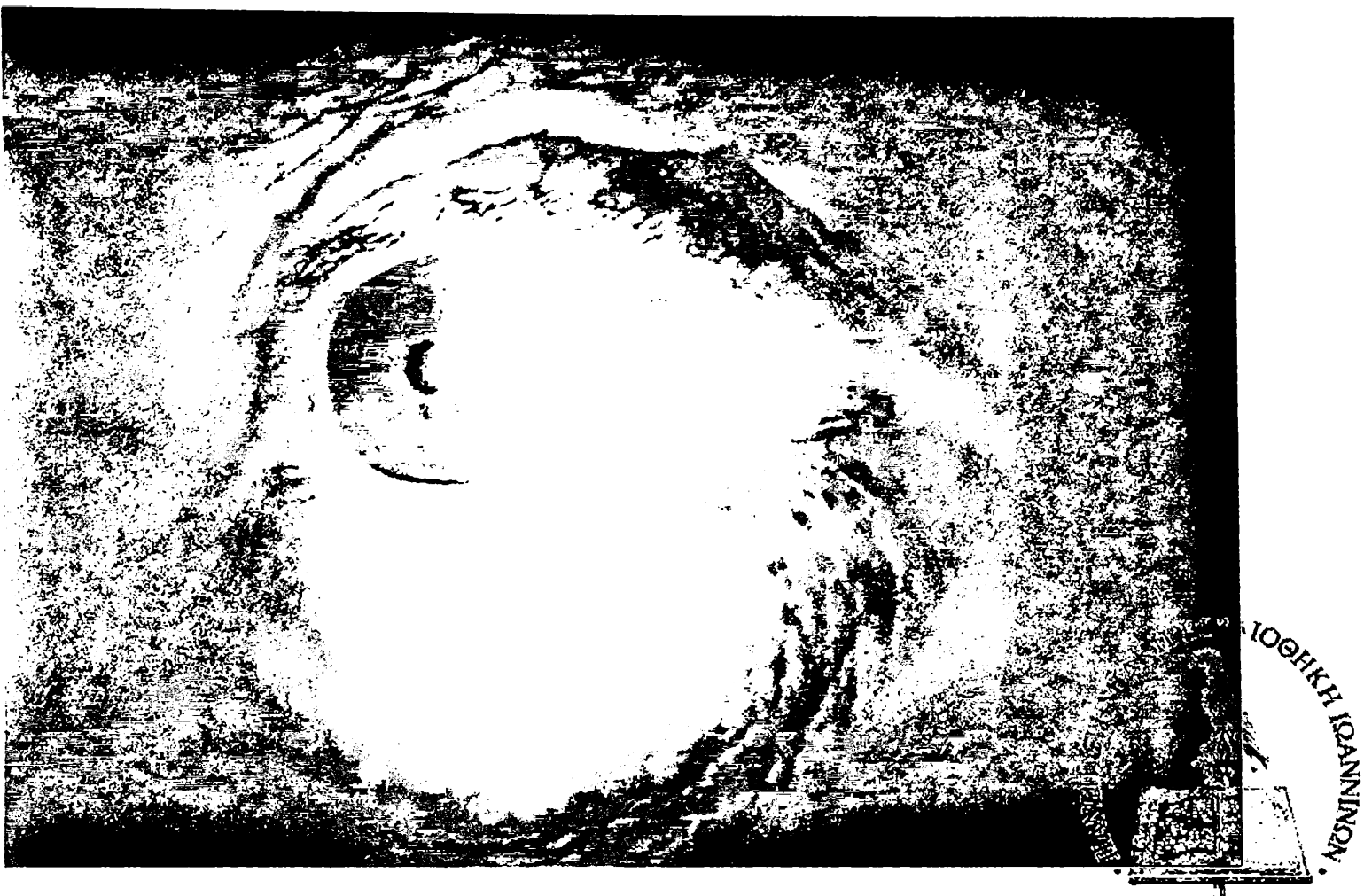
Παράσταση 1. Πτερύγιο πριν από το χειρουργείο





Φωτογραφία 3: Μια εβδομάδα μετά την επέμβαση και την αφαίρεση των ραμμάτων





Φωτογράμιο 5: 1.5 έτη μετά την επέμβαση



Φωτο: παρτί 1. Παρτίο πριν από το χερσούριο

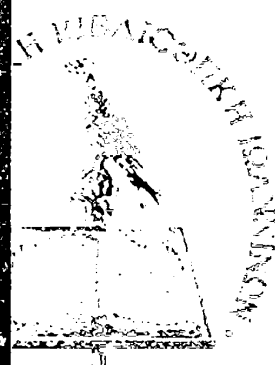
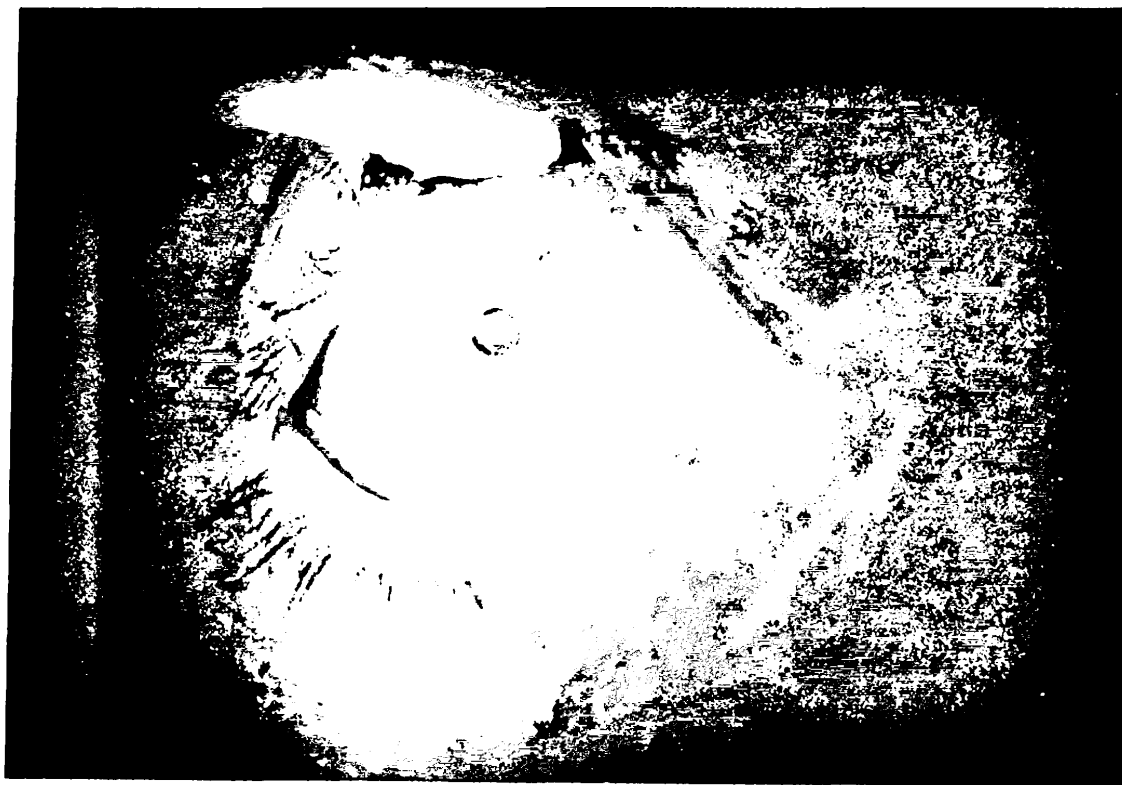




Fig. 1. The face of the patient after the surgical intervention.





Φωτογραφία 5: 1.5 ετη μετά την επέμβαση



ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ – ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη έγινε σε τομές παραφίνης πάχους 4μm. Η προέλευση και η αραίωση των αντισωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται στον πίνακα I.

Η ανοδοϊστοχημική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν αυτή του συμπλέγματος της αβιδίνης-βιοτίνης-υπεροξειδάσης (ABC), όπως έχει ήδη περιγραφεί έως σήμερα. (Hsu 1981). Πρόκειται για ανοσοενζυμική μέθοδο ανάλογη της PAP [Μέθοδος υπεροξειδάσης-αντιυπεροξειδάσης (Sternberger et al 1970-1979)]. και θεωρείται πιο ευαίσθητη μέθοδος από την PAP, λόγω της μεγάλης δεσμευτικής ικανότητας μεταξύ αβιδίνης και βιοτίνης (Νακοπούλου 1999).

Η αβιδίνη είναι μια γλυκοπρωτεΐνη, προέρχεται από το λευκό του αυγού και έχει μεγάλη τάση σύνδεσης (4 συνδετικές θέσεις ανά μόριο). Η βιοτίνη είναι βιταμίνη με χαμηλό μοριακό βάρος και βρίσκεται στην λέκθο του αυγού. Η βιοτίνη συνδέεται με τον δεύτερο αντιορό με τον ίδιο τρόπο που συνδέεται η υπεροξειδάση. Στην συνέχεια, ο τρίτος αντιορός αποτελείται από ένα σύμπλεγμα αβιδίνης και ενζύμου συνδεδεμένου με βιοτίνη, το οποίο έχει μερικές ελεύθερες θέσεις αβιδίνης για σύνδεση με την βιοτίνη του δευτέρου αντισώματος (Νακοπούλου 1999).

Με τις ανοσοϊστοχημικές μεθόδους υπάρχει η δυνατότητα ταυτόχρονης ανίχνευσης στην ίδια τομή του ιστού περισσότερων αντιγόνων. Την παραπάνω δυνατότητα αξιοποιήσαμε για να πραγματοποιήσουμε διπλές χρώσεις, που μας επέτρεψαν να διαπιστώσουμε την συνύπαρξη των δεικτών που αναζητήσαμε όχι απλώς στο ίδιο παρασκεύασμα, αλλά και στις ίδιες περιοχές αυτού (Νακοπούλου 1999).

Για την διπλή χρώση, μια και τα πρωτογενή αντισώματα προέρχονταν από το ίδιο ζωϊκό είδος, εκτελέστηκε διπλή διαδοχική χρώση, δηλαδή επαναλήφθηκε η ίδια ανοσοενζυμική μέθοδος με δύο διαφορετικά χρωμογόνα. Το σταθερό, μη διαλυτό, χρωματισμένο προϊόν αντίδρασης της DAB (διαμινοβενζιδίνη – καφέ χρωμογόνο) επιτρέπει την εκτέλεση δεύτερης ανοσοαντίδρασης με διαφορετικά χρωμογόνα (Νακοπούλου 1999).

Επειδή η μονιμοποίηση έχει πολλές φορές δυσμενή αποτελέσματα για την διατήρηση της αντιγονικότητας των ιστών χρησιμοποιήθηκαν κατά περίπτωση κάποιες μέθοδοι με σκοπό την αποκάλυψη των επιτόπων εκείνων, που έχουν «καλυφθεί» λόγω της μονιμοποίησης. Η διαδικασία αυτή περιγράφεται και με τον όρο «αντιγονική ανάκτηση» (antigen retrieval), και έχει ως αποτέλεσμα να αποκαλύπτει πριν από τα στάδια της ανοσοϊστοχημικής διαδικασίας αντιγονικούς επιτόπους, με στόχο την ποιοτική βελτίωση των ανοσοχρώσεων. Οι μοριακοί μηχανισμοί της αποκάλυψης ή ανάκτησης δεν είναι πλήρως γνωστοί (Νακοπούλου 1999).

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε η ενζυμική πέψη με προνάση κυρίως για τα αντιγόνα των μακροφάγων και κυττάρων Langerhans'.

Επίσης χρησιμοποιήθηκε φούρνος μικροκυμάτων. Τα μικροκύματα είναι μια μορφή ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας. Ένας μαγνήτης παράγει κύματα μήκους 3.3-30 εκ., τα οποία επιταχύνουν τα ηλεκτρόνια των μορίων του νερού, τα οποία με την σειρά τους πάλλονται μέσα στους ιστούς. Οι Shi και συν. (1991) για πρώτη φορά έδειξαν την ικανότητα των μικροκυμάτων να επαναφέρουν την αντιγονικότητα των ιστών. Έτσι αποτέλεσμα της χρησιμοποίησης του φούρνου μικροκυμάτων είναι η βελτίωση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης, η ελάττωση της μη ειδικής χρώσης, μεγαλύτερη αραίωση των πρωτογενών αντισωμάτων καθώς και η χρήση νέων αντισωμάτων όπως το MIB-1, που χωρίς τα μικροκύματα δεν θα ήταν δυνατή η



εντόπιση των αντίστοιχων αντιγόνων.(Shi et al 1993, Cattoretti et al 1993, Taylor et al 1994, Cattoretti & Sunmeijer 1995).

Η μετουσίωση των πρωτεϊνών, που οφείλεται στην υψηλή θερμοκρασία μπορεί να προκαλέσει την απώλεια των διάχυτων πρωτεϊνών που δεσμεύουν αντιγονικές θέσεις στους ιστούς ή την καθίζηση πρωτεϊνών σε συνδυασμό με τις όξινες συνθήκες. Η υψηλή επίσης θερμοκρασία κινητοποιεί τα υπολείμματα της παραφίνης πάνω στους ιστούς, η οποία ως γνωστόν συμβάλλει και αυτή στην μη ειδική χρώση.

Συγκεκριμένα η ανοσοϊστοχημική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε περιελάμβανε τα παρακάτω στάδια:

- Αποπαραφίνωση, με εμβύθιση των τομών σε ξυλόλη για 20'. Αλλαγή της ξυλόλης έγινε στα πρώτα 10'.
- Ενυδάτωση των τομών σε κατιόντα οιοπνεύματα (100⁰ οιν - 100⁰ οιν - 96⁰οιν - 96⁰οιν) και απεσταγμένο νερό.
- Εμβύθιση των τομών σε μεθυλική αλκοόλη, που περιέχει 1% H₂O₂ για 30' (Σκοπός η δέσμευση ενδογενούς υπεροξειδάσης).
- Πολύ καλή έκπλυση με απεσταγμένο νερό.
- Εφαρμογή φούρνου μικροκυμάτων 700W δύο φορές επί 15' ή επώαση με pronase για 10'.
- Έκπλυση με απεσταγμένο νερό.
- Έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα tris-buffer-saline (TBS), PH=7.6
- Επικάλυψη των τομών με φυσιολογικό ορό κουνελιού, αραιωμένο 1/50 [normal rabbit serum-DAKO (Καλλιφρονάς)] ή με φυσιολογικό ορό χοίρου ίδιας αραιώσης [normal swine serum-DAKO (Καλλιφρονάς)], ανάλογα με το αν επρόκειτο για μονοκλωνικό ή πολυκλωνικό αντίσωμα αντίστοιχα.
- Απομάκρυνση του ορού από τις τομές.
- Επικάλυψη των τομών με τον εκάστοτε πρωταρχικό αντιορό για μια ώρα σε θερμοκρασία δωματίου ή ολονύκτια στους 4⁰ C.
- Έκπλυση των τομών με διάλυμα TBS (2 φορές επί 10').
- Επικάλυψη των τομών με αντιορό κουνελιού έναντι ανοσοσφαιρίνης του ποντικού, αραιωμένο 1/500 [rabbit anti-mouse biotinylated-DAKO (Καλλιφρονάς)] ή με αντιορό χοίρου έναντι ανοσοσφαιρίνης του κουνελιού [swine anti-rabbit biotinylated-DAKO (Καλλιφρονάς)], ανάλογα με το αν επρόκειτο για μονοκλωνικό ή πολυκλωνικό αντίσωμα, αντίστοιχα, για 30'.
- Έκπλυση των τομών με διάλυμα TBS (2 φορές επί 5').
- Επικάλυψη των τομών με το αντιδραστήριο του συμπλέγματος αβιδίνης-βιοτίνης [ABC complex - DAKO (Καλλιφρονάς)] για 60'.
- Έκπλυση των τομών με διάλυμα TBS (2 φορές επί 5').
- Επικάλυψη των τομών με φρέσκο διάλυμα χρωμογόνου, που περιέχει 0.035% διαμινοβενζιδίνη (DAB), σε 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος TBS (ενεργοποιημένου από υπεροξείδιο του υδρογόνου) και έλεγχος των πλακιδίων με το κοινό μικροσκόπιο, μέχρι να γίνει ορατό το φαιό χρώμα των κυττάρων.
- Έκπλυση των τομών με απεσταγμένο νερό.
- Χρώση των τομών με αιματοξυλίνη Harris 10% για 2'.
- Έκπλυση των τομών με νερό βρύσης.
- Αφυδάτωση των τομών σε ανιόντα οιοπνεύματα (96⁰οιν - 96⁰οιν-100⁰ οιν - 100⁰ οιν)
- Καθαρισμός των τομών σε ξυλόλη (Ξ -Ξ)
- Επικάλυψη των τομών με ειδική κόλλα.



ΠΙΝΑΚΑΣ Ι: Αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν

Αντισώματα	Προμηθευτής	Αραίωση	Χρόνος επώασης
HLA-DR	Dako	1:50	Μία ώρα
Metallothionein (E9)	Dako	1:50	Μία ώρα
PC-10(Anti-PCNA)	Dako	1:50	Μία ώρα
MIB1 (Anti-Ki-67)	Ylem	1:50	Ολονύκτιο*
CD8 (T8)	Dako	1:50	Μία ώρα *
CD4 (T4)	Dako	1:50	Μία ώρα
CD68	Dako	1:50	Μία ώρα #
S-100	Dako	1:50	Μία ώρα #

*Εφαρμογή φούρνου μικροκυμάτων

#Επώαση με προνάση

Υποσημείωση: Το αντίσωμα της MT βρέθηκε από τους Jasani και Elmes, ότι είναι ανοσοϊστοχημικά δραστικό έναντι επιτόπου που υπάρχει σε αμφότερες τις ισομορφές 1 και 2 της MT του ανθρώπου αλλά και του ποντικού και του αλόγου, όπως ελέγχθηκε σε ιστολογικές τομές από αυτά τα είδη, που υπέστησαν σταθεροποίηση με φορμαλίνη και μονιμοποίηση με παραφίνη. Το αντίσωμα είναι σήμερα διαθέσιμο στο εμπόριο στην κεκαθαρμένη μορφή του από την Dako (Dakotd, High Wycombe, U.K).



ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Οι παράμετροι που εξετάστηκαν ανοσοϊστοχημικά ήταν:

- 1) Η έκφραση του HLA-DR αντιγόνου στα επιθηλιακά κύτταρα
- 2) Η έκφραση της Μεταλλοθειονίνης στα επιθηλιακά κύτταρα
- 3) Οι δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού PCNA και Ki67
- 4) Η S100 πρωτεΐνη ως δείκτης των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων Langerhans'
- 5) Οι λεμφοκυτταρικοί υποπληθυσμοί CD4 και CD8, ως δείκτες φλεγμονής
- 6) Οι διηθήσεις μακροφάγων CD68, επίσης ως δείκτες φλεγμονής

Η αξιολόγηση των ανοσοϊστοχημικών δεικτών που χρησιμοποιήθηκαν για την εξέταση των ιστών, έγινε με βάση το αν υπήρχε θετική αντίδραση των κυττάρων του ιστού, ανεξάρτητα από τον απόλυτο αριθμό αυτών των κυττάρων που μπορεί να παρουσίαζε η χρωστική αντίδραση. Έτσι με την παρουσία ενός έστω και μικρού αριθμού θετικών κυττάρων, ο ιστός χαρακτηριζόταν θετικός στο εκάστοτε αντιγόνο.

Ως αρνητικοί μάρτυρες για όλα τα αντιγόνα που αναφέρουμε χρησιμοποιήθηκαν παράλληλες τομές παραφίνης, από τους ίδιους ιστούς, οι οποίες χρώστηκαν με την ίδια ακριβώς μέθοδο, παραλείποντας όμως τον πρωταρχικό αντιορό.

Η βαθμολόγηση των ανοσοϊστοχημικών χρώσεων έγινε από δύο παρατηρητές, ανεξάρτητους μεταξύ τους, (τυφλό τεστ), και με βάση τα κριτήρια από προηγούμενες μελέτες των ίδιων δεικτών. Οι δύο εξεταστές κατέληξαν σε συμφωνία οπότε προέκυψε το τελικό αποτέλεσμα.

Πιο συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα των χρώσεων για τους δείκτες HLA-DR, MT, PCNA, και Ki67 εκφράστηκαν με ημιποσοτική διαβάθμιση, ως εκατοστιαία αναλογία θετικών επιθηλιακών κυττάρων, σε σχέση με τον συνολικό αριθμό (περίπου 1000 κύτταρα), στα αντιπροσωπευτικά πεδία, ανεξάρτητα από την ένταση της χρώσης της μεμβράνης για το HLA-DR ή του πυρήνα για τους λοιπούς δείκτες.

Κάθε δείγμα εξετάστηκε αρχικά με χαμηλή μεγέθυνση και τουλάχιστον 6 έως 10 πεδία αξιολογήθηκαν σε μεγάλη μεγέθυνση.

Εκτιμήθηκε η κατανομή (ενδοεπιθηλιακά και εξωεπιθηλιακά-στρωματικά) των δεικτών CD4, CD8, S100, και CD68 και καταμετρήθηκε ο σχετικός αριθμός των κυττάρων. Οι ενδοεπιθηλιακές και ενδοστρωματικές διηθήσεις αξιολογήθηκαν χωριστά. Σε κάθε περίπτωση εξετάστηκε όλη η ιστική τομή και η συχνότητα των θετικών κυττάρων υπολογίστηκε ως μέσος όρος, με καταμέτρηση τουλάχιστον 5 αντιπροσωπευτικών πεδίων με υψηλή μεγέθυνση. (HPF x 40 αντικειμενικός)

Διπλή ανοσοϊστοχημική μέθοδος εφαρμόστηκε προκειμένου να εξεταστεί η συνύπαρξη της έκφρασης HLA-DR αντιγόνου με την έκφραση των λοιπών δεικτών, πολλαπλασιασμού και φλεγμονής. (Φωτ. 10, 11, 12, 14, 15, 16)



ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλα τα στοιχεία εισήχθησαν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή (PC) και πραγματοποιήθηκαν με χρήση του προγράμματος Excell του Microsoft Office (Windows 98).

Για την στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS 10.0 for Windows (Statistical Packages For Social Sciences).

Ο συσχετισμός των συνεχών μεταβλητών επιβεβαιώθηκε με χρήση μη παραμετρικού τεστ για δύο ή περισσότερα ανεξάρτητα δείγματα (Kruskal – Wallis 1 way A Nova). Επίσης χρησιμοποιήθηκε η διμεταβλητή μέθοδος συσχέτισης Spearman. Τιμές P μικρότερες του 0.05 θεωρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές.

ΚΛΙΝΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μετά την επέμβαση αφαίρεσης του πτερυγίου οι ασθενείς επανεξετάζονταν σε τακτά χρονικά διαστήματα, όπως ήδη έχει αναφερθεί σε προηγούμενη παράγραφο. Η μακρύτερη σε χρόνο παρακολούθηση που αφορούσε τον πρώτο ασθενή που χειρουργήθηκε ήταν 3.5 έτη, ενώ η μικρότερη που αφορούσε τον τελευταίο ασθενή που χειρουργήθηκε ήταν 1.7 έτη. Γενικά ο μέσος όρος παρακολούθησης ήταν περί τα 2.5 έτη.

Εκ των χειρουργηθέντων για αφαίρεση πτερυγίου ασθενών, παρουσίασαν υποτροπή εννέα (ποσοστό 9%). Μια υποτροπή εμφανίστηκε στο πρώτο τρίμηνο σε άνδρα ασθενή, ηλικίας 39 ετών. (Βλ Πίνακα II)

Δύο υποτροπές εμφανίστηκαν στο δεύτερο τρίμηνο από την επέμβαση, τέσσερις υποτροπές προέκυψαν στο δεύτερο εξάμηνο, ενώ δύο υποτροπές εμφανίστηκαν στο δεύτερο έτος. (Πίνακας II)

Ο μέσος όρος ηλικίας των υποτροπών ήταν 59.1 έτη Όπως διαπιστώθηκε ήδη από τα προηγούμενα επρόκειτο για 4 γυναίκες και 5 άνδρες.

Στους πίνακες II και III αναγράφονται λεπτομερώς τα κλινικά και εργαστηριακά στοιχεία των ασθενών που εμφάνισαν υποτροπή, προς διευκόλυνση της κατανόησης από τον αναγνώστη των σχολίων που θα ακολουθήσουν.



ΠΙΝΑΚΑΣ II: Ασθενείς που υποτροπίασαν – Κλινικά στοιχεία

ΑΑ	ΦΥΛΟ	ΗΛΙΚΙΑ	ΧΡ ΥΠΟΤΡ	ΠΡΟΗΓ ΥΠΟΤΡ	ΟΙΚ ΙΣΤ	ΔΙΠΛ ΠΤΕΡ	ΑΜΦΩ ΠΤΕΡ	ΠΕΡ ΕΚΘ	ΤΥΠΟΣ ΠΤΕΡ
1	ΑΡΡΕΝ	39	1 ^ο Τρίμηνο	0	-	+	+	+	Μικτό
2	ΘΗΛΥ	65	1 ^ο Εξάμηνο	0	+	-	-	+	Ινώδες
3	ΑΡΡΕΝ	47	1 ^ο Εξάμηνο	0	-	-	-	+	Μικτό
4	ΑΡΡΕΝ	48	2 ^ο Εξάμηνο	0	+	-	-	+	Αγγειώδες
5	ΘΗΛΥ	59	2 ^ο Εξάμηνο	2	+	-	+	+	Αγγειώδες
6	ΘΗΛΥ	80	2 ^ο Εξάμηνο	0	-	-	-	+	Μικτό
7	ΑΡΡΕΝ	64	2 ^ο Εξάμηνο	1	-	-	+	+	Ινώδες
8	ΘΗΛΥ	55	2 ^ο Έτος	0	+	-	+	+	Αγγειώδες
9	ΑΡΡΕΝ	75	2 ^ο Έτος	0	+	-	+	+	Μικτό

ΑΑ: Αύξων Αριθμός

ΧΡ ΥΠΟΤΡ: Χρόνος υποτροπής

ΠΡΟΗΓ ΥΠΟΤΡ: Προηγούμενες υποτροπές

ΟΙΚ ΙΣΤ: Οικογενειακό ιστορικό

ΔΙΠΛ ΠΤΕΡ: Ύπαρξη δικλού πτερυγίου στον ασθενή

ΑΜΦΩ ΠΤΕΡ: Ύπαρξη πτερυγίου αμφοτερόπλευρα

ΠΕΡ ΕΚΘ: Έκθεση του ασθενούς σε βεβαρημένες περιβαλλοντικές συνθήκες (πχ. Ηλιακή ακτινοβολία)

ΤΥΠΟΣ ΠΤΕΡ: Ιστολογικός τύπος του χειρουργηθέντος πτερυγίου

ΠΙΝΑΚΑΣ III: Ασθενείς που υποτροπίασαν – Εργαστηριακά ευρήματα.

ΑΑ	HLA-DR	CD8 εκ -στρ	CD4 εκ -στρ	PCNA	Ki67	CD68 εκ -στρ	S100 εκ -στρ
1	2%	1.8 5.9	0.375 5.5	0	1	0.1 4.4	1.3 1.2
2	75%	0 0	0.1 4	0	0.5	0.2 5.3	0.5 0.7
3	20%	0 0.2	0.25 2.1	0	0.3	0 6.6	4.8 0.2
4	60%	0 0	0 2.55	4.7	3.4	0 6	3.8 0.7
5	10%	0.1 2	0 2.3	2	2	0.1 5.1	1.5 0.1
6	10%	0.1 3	0 2.5	1.9	1.8	0 3	1 0.1
7	1%	0.7 6	0 3.25	2	1.5	0.1 4.2	1 0.7
8	30%	0.5 4	0 1.5	3	3.1	0 2	4.9 1.5
9	40%	0.6 0	0 0.75	3	2.5	0.5 4.2	10.3 1.2



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ

Μετά από μικροσκοπική εξέταση των χρώσεων αιματοξυλίνης – ηωσίνης τα πτερύγια, ανάλογα με το ποσοστό αγγειωδών και ινωδών συστατικών τους ταξινομήθηκαν σε τρεις τύπους (Wong 1978): Αγγειώδη (ποσοστό 26% επί του συνόλου), Ινώδη (ποσοστό 15% επί του συνόλου) και Μικτά (ποσοστό 59% επί του συνόλου). (Φωτ.1, 2, 3)

Έκφραση HLA-DR αντιγόνου ανιχνεύθηκε εντός του επιθηλίου με εντόπιση στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, αποδίδοντας στο μικροσκόπιο χαρακτηριστική εικόνα «δίκην πλακόστρωτου». Το ενδοθήλιο των αγγείων, τα κύτταρα Langerhans' και μερικά φλεγμονώδη κύτταρα ήταν επίσης θετικά και χρησιμοποιήθηκαν ως εσωτερικοί μάρτυρες. (Φωτ.6)

Τα T-κατασταλτικά – κυτταροτοξικά (CD8) λεμφοκύτταρα εντοπίστηκαν κυρίως στην βασική στιβάδα του επιθηλίου, καθώς επίσης και στο ανώτερο στρώμα. (Φωτ.15)

Τα T-βοηθητικά (CD4) λεμφοκύτταρα στην πλειοψηφία τους βρίσκονταν σε συναθροίσεις κάτω από το επιθήλιο, στο ανώτερο στρώμα (Φωτ.4)

Οι κυτταρικές διηθήσεις μακροφάγων (CD68) ήταν εμφανείς λιγότερο εντός του επιθηλίου και περισσότερο κάτω απ' αυτό, εντός του στρώματος. (Φωτ.9)

Τα κύτταρα Langerhans' (S100) εντοπίζονταν κυρίως ενδοεπιθηλιακά, και ειδικότερα στην βασική στιβάδα του επιθηλίου. (Φωτ.5, 13)

Έκφραση των δεικτών πολλαπλασιασμού PCNA και Ki67 παρατηρήθηκε κατά κύριο λόγο στην βασική στιβάδα του επιθηλίου. (Φωτ.7, 8)

• ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΧΡΩΣΗ ΣΤΟ ΠΤΕΡΥΓΙΟ

Έκφραση HLA-DR αντιγόνου παρατηρήθηκε σε αφθονία στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, συνήθως σε εντοπισμένες περιοχές των δειγμάτων. Σε 84% των περιπτώσεων η έκφραση του HLA-DR αντιγόνου ήταν πάνω από 1%, ενώ ξεπερνούσε το 5% σε ποσοστό 49% των εξεταζομένων περιστατικών.

Η έκφραση του HLA-DR αντιγόνου ήταν ηπίως πιο αυξημένη στον αγγειώδη τύπο των πτερυγίων, σε σχέση με τους άλλους τύπους (ινώδη και μικτά). Όμως η διαφορά αυτή ως προς την έκφραση HLA-DR ανάμεσα στους τρεις τύπους πτερυγίου δεν ήταν στατιστικώς σημαντική.

Γενικά η έκφραση HLA-DR αντιγόνου ήταν παράλληλη με την κατανομή και τον αριθμό των CD4 και CD8 καθώς και των PCNA και Ki67 θετικών κυττάρων. Η παρατήρηση αυτή ήταν ιδιαίτερα προφανής στις τομές με διπλή χρώση. (Φωτ.10, 11, 12, 14, 15)

Μια στατιστικώς σημαντική θετική συσχέτιση προέκυψε ανάμεσα στην έκφραση του HLA-DR αντιγόνου στο επιθήλιο και σε αμφότερα τα ενδοστρωματικά και ενδοεπιθηλιακά CD4 κύτταρα ($P=0.03$ και $P=0.004$ αντίστοιχα) (Scatterplot 2,3). Η έκφραση HLA-DR αντιγόνου επίσης συσχετίστηκε θετικά στατιστικώς σημαντικά με τα ενδοστρωματικά και ενδοεπιθηλιακά κύτταρα Langerhans' ($P=0.018$ και $P<0.01$ αντίστοιχα) (Scatterplot 8,9). Επιπλέον βρέθηκε θετική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση HLA-DR αντιγόνου και στα CD68 ενδοεπιθηλιακά κύτταρα ($P=0.002$) (Scatterplot 4). Τέλος υπάρχει ισχυρή θετική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση HLA-DR αντιγόνου και στα επίπεδα PCNA και Ki67 ($P=0.002$ και $P=0.002$ αντίστοιχα) (Scatterplot 6, 7).



Η υπεροχή της έκφρασης του HLA-DR αντιγόνου (Ιστόγραμμα 1) και των PCNA και Ki67 αντιγόνων ήταν προφανής στο περύγιο σε σχέση με τον φυσιολογικό επιπεφυκότα και το στεάτιο (Scatterplot 17). Με μικρότερη διαφορά ισχύει το ίδιο για τους λεμφοκυτταρικούς υποπληθυσμούς (CD4 και CD8) και τα ενδοστρωματικά μακροφάγα (CD68) καθώς και τα κύτταρα Langerhans' (S100) (Πίνακας IV).

Μετά από στατιστική ανάλυση, υπολογίστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά που βρέθηκε να συμφωνεί με τις παραπάνω παρατηρήσεις όπως φαίνεται στον Πίνακα VI.

Η ανοσοϊστοχημική έκφραση της Μεταλλοθειονίνης ήταν σχεδόν πανταχού παρούσα τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στον πυρήνα των θετικών επιθηλιακών κυττάρων των περυγίων. (Φωτ.17, 18) (Πίνακας VII).

Η ανοσοδραστικότητας (αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος) της Μεταλλοθειονίνης περιοριζόταν συνήθως στις βασικές στιβάδες του επιθηλίου (Φωτ.17, 18).

Τα ανοσοθετικά για την Μεταλλοθειονίνη κύτταρα παρουσίασαν θετική συσχέτιση με τα κύτταρα Langerhans' (S100) του επιθηλίου ($r = 0.6$, $P < 0.001$) (Scatterplot 15). Υπάρχει επίσης θετική συσχέτιση ανάμεσα στα ανοσοθετικά για την Μεταλλοθειονίνη κύτταρα και στα ενδοεπιθηλιακά και ενδοστρωματικά μακροφάγα, CD68 ($r = 0.4$, $P < 0.001$ και $r = 0.3$, $P = 0.04$ αντίστοιχα) (Scatterplot 12, 13). Επιπλέον η έκφραση της Μεταλλοθειονίνης συσχετίστηκε ασθενώς πλην όμως θετικά με τους CD8 λεμφοκυτταρικούς υποπληθυσμούς ($r = 0.3$, $P = 0.01$) (Scatterplot 12). Επιπροσθέτως θετική συσχέτιση προέκυψε ανάμεσα στην έκφραση της Μεταλλοθειονίνης και σε κείνη των Ki67 και PCNA ($r = 0.5$, $P < 0.001$ και $r = 0.4$, $P < 0.001$ αντίστοιχα). (Scatterplot 14, 16) (Πίνακας VIII).

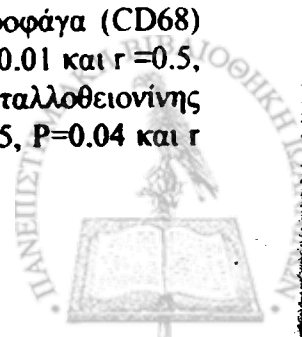
Μεταξύ HLA-DR έκφρασης και έκφρασης μεταλλοθειονίνης δεν διαπιστώθηκε καμιά στατιστικώς σημαντική συσχέτιση. Η ίδια διαπίστωση προέκυψε και στους άλλους δυο ιστούς (φυσιολογικό επιπεφυκότα και στεάτιο).

Θα πρέπει επίσης να αναφέρουμε ότι καμιά στατιστικώς σημαντική συσχέτιση δεν προέκυψε ανάμεσα στην έκφραση Μεταλλοθειονίνης και στον τύπο του περυγίου, την υποτροπή, το φύλο και το οικογενειακό ιστορικό των ασθενών.

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΧΡΩΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΕΠΙΠΕΦΥΚΟΤΑ

Χαμηλή έκφραση HLA-DR, PCNA και Ki67 αντιγόνων παρατηρήθηκε. Υπήρχαν αραιές λεμφοκυτταρικές διηθήσεις (CD4, CD8) και σπάνια μακροφάγα (CD68) και κύτταρα Langerhans' (S100). Δεν βρέθηκε στατιστικώς καμιά συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση HLA-DR αντιγόνου και στα προαναφερόμενα θετικά κύτταρα (Πίνακας V).

Η ανοσοϊστοχημική εντόπιση της Μεταλλοθειονίνης ήταν σχεδόν πανταχού παρούσα, τόσο στο κυτταρόπλασμα, όσο και στον πυρήνα των επιθηλιακών κυττάρων με εντόπιση κυρίως στις βασικές στιβάδες του επιθηλίου. (Πίνακας VII). Η έκφραση της Μεταλλοθειονίνης συσχετίστηκε θετικά με τα μακροφάγα (CD68) του στρώματος και τα ενδοεπιθηλιακά CD4 λεμφοκύτταρα ($r = 0.4$, $P = 0.01$ και $r = 0.5$, $P = 0.01$ αντίστοιχα). Θετική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της Μεταλλοθειονίνης και της έκφρασης των δεικτών PCNA και Ki67 βρέθηκε επίσης ($r = 0.5$, $P = 0.04$ και $r = 0.9$, $P < 0.001$) (Πίνακας VIII).



ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΧΡΩΣΗ ΣΤΕΑΤΙΟΥ

Η έκφραση HLA-DR αντιγόνου, οι ενδοεπιθηλιακές διηθήσεις CD8 και οι ενδοεπιθηλιακές και ενδοστρωματικές διηθήσεις CD4 βρέθηκαν ελαφρώς υψηλότερες σε σχέση με κείνες του φυσιολογικού επιπεφυκότα (Πίνακας IV). Ίσως αυτή η διαφοροποίηση οφειλόταν σε κάποιες περιπτώσεις στεατίων με φλεγμονώδη τύπο. Πάραυτα δεν προέκυψε καμία στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση HLA-DR αντιγόνου και στα διάφορα προαναφερόμενα ανοσοθετικά κύτταρα (Πίνακας V).

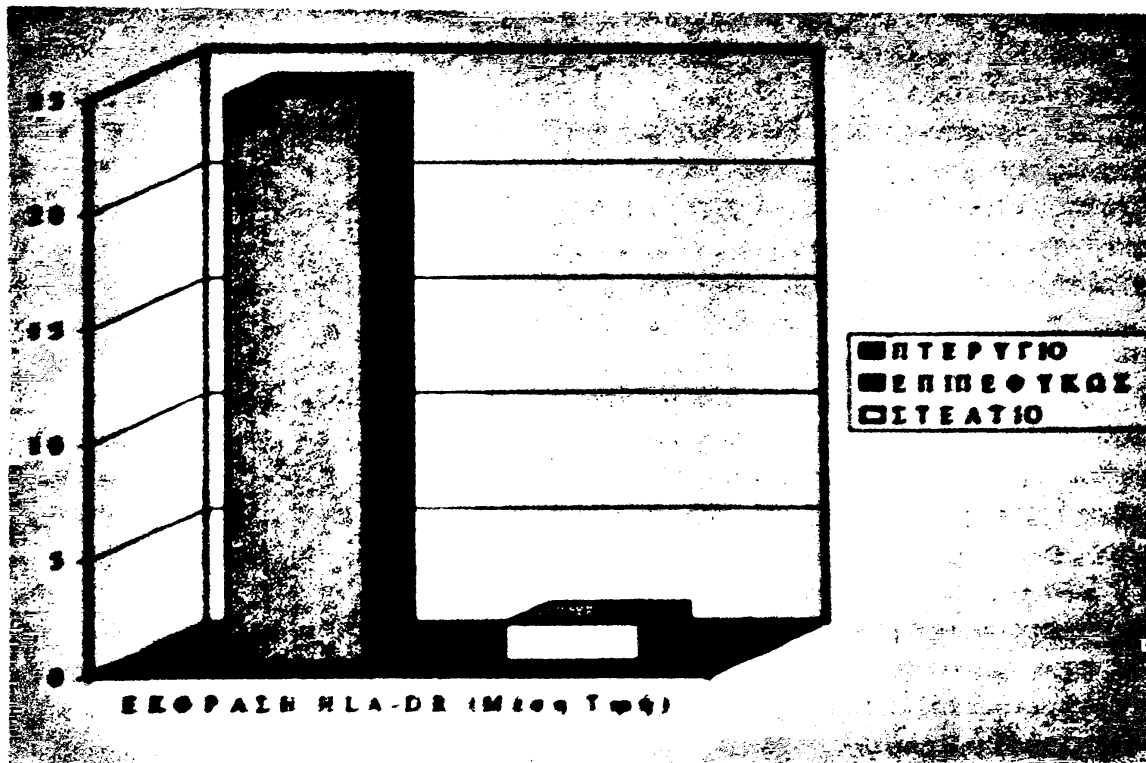
Η έκφραση της Μεταλλοθειονίνης ήταν συγκρίσιμη με εκείνη του φυσιολογικού επιπεφυκότα και του περυγίου, με ανάλογη μικροσκοπική εικόνα (Πίνακας VII). Οι θετικές συσχετίσεις της Μεταλλοθειονίνης με τους λοιπούς παράγοντες δεν ήταν στατιστικώς σημαντικές. Θα πρέπει μόνο να σημειώσουμε ότι μια τάση θετικής συσχέτισης ανέκυψε μεταξύ Μεταλλοθειονίνης και των δεικτών πολλαπλασιασμού PCNA και Ki67 ($r = 0.5$, $P = 0.07$ και $r = 0.5$, $P = 0.05$) (Πίνακας VIII).

Γενικά η έκφραση Μεταλλοθειονίνης ήταν συγκρίσιμη στον φυσιολογικό επιπεφυκότα (Μέση τιμή: 8.84, Διάμεση τιμή:3), στο στεάτιο (Μέση τιμή: 4.41, Διάμεση τιμή:4), και στο περύγιο (Μέση τιμή: 7.33, Διάμεση τιμή:4) (Πίνακας VII, Scatterplott 1, Box Whisker 1). Δεν παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά ως προς την έκφραση της Μεταλλοθειονίνης ανάμεσα στους τρεις τύπους ιστών.

Σε όλες τις ομάδες ιστών ερευνήσαμε ξεχωριστά για τον καθένα (περύγιο, στεάτιο, φυσιολογικό επιπεφυκότα) την συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση PCNA και Ki67, προκειμένου να επιβεβαιώσουμε εάν βρίσκονται σε συμφωνία, όπως λογικά θα ήταν αναμενόμενο, αφού στην ουσία αποτελούν δείκτες του ίδιου παράγοντα, δηλαδή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Από την στατιστική επεξεργασία διαπιστώθηκε ότι ήταν αναμενόμενο, δηλαδή η ισχυρή θετική συσχέτιση των δύο δεικτών και στους τρεις ιστούς ($P < 0.001$ στο περύγιο, $P = 0.005$ στο στεάτιο και $P = 0.008$ στον φυσιολογικό επιπεφυκότα).



Ιστόγραμμα 1: Έκφραση HLA-DR αντιγόνου σε πτερύγιο, φυσιολογικό επιπεφυκότα και στεάτιο.



ΠΙΝΑΚΑΣ IV: Έκφραση των HLA-DR αντιγόνων, PCNA, Ki67 και CD68, S100 και των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών σε πτερύγιο, φυσιολογικό επιπεφυκότα και στεάτιο [mean (μέση τιμή), median (διάμεση τιμή), maximum (μέγιστη τιμή) and minimum (ελάχιστη τιμή) αναγράφονται αντίστοιχα στα κελιά].

	Πτερύγιο	Επιπεφυκώς	Στεάτιο
	Mean (Me,max,min)	Mean (Me,max,min)	Mean (Me,max,min)
HLA-DR*	24.15 (6, 90, 0)	0.37 (0, 7, 0)	1.82 (0, 20, 0)
CD4str #	5.65 (4.2, 24.5, 0)	2.59 (2, 10.1, 0)	4.49 (2.4, 38, 0)
CD4epith #	0.40 (0.2, 4.6, 0)	0.33 (0.2, 1.2, 0)	0.36 (0.2, 2, 0)
CD8str #	3.28 (2.6, 18.7, 0)	2.37 (9, 7.6, 0)	2.25 (1.5, 6.8, 0)
CD8epith #	2.27 (1.6, 10.8, 0)	1.96 (1.2, 6.6, 0)	2.69 (1.8, 9, 0)
CD68str #	2.97 (2.2, 15, 0)	0 (0, 0, 0)	0 (0, 0, 0)
CD68epith #	0.13 (0.1, 1.3, 0)	1.07 (0.8, 2.8, 0)	1.26 (0.4, 7, 0)
S100str #	1.29 (1.2, 6.6, 0)	0.44 (0.3, 1.4, 0)	0.53 (0.5, 1.8, 0)
S100epith #	5.5 (4.3, 21.4, 0.3)	0.38 (0.2, 1.8, 0)	0.66 (0.6, 17, 0)
PCNA *	6.22 (2, 40, 0)	3.55 (0.1, 15, 0)	3.05 (1.9, 20, 0)
Ki67 *	1.24 (0.1, 14, 0)	0.04 (0, 0.5, 0)	0.07 (0.01, 0.5, 0)

* % Ποσοστό θετικών κυττάρων

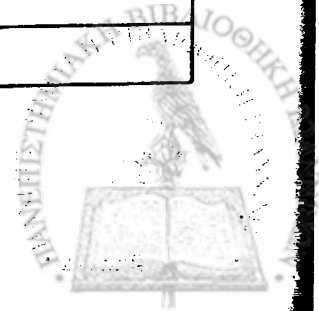
Μέση τιμή ανά πεδίο υψηλής μεγέθυνσης



ΠΙΝΑΚΑΣ V: Συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση HLA-DR αντιγόνων, Ki67, PCNA και στις επιμέρους κυτταρικές πυκνότητες σε πτερύγιο, στεάτιο και φυσιολογικό επιπεφυκότα.

ΣΥΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ	ΠΤΕΡΥΓΙΟ	ΕΠΙΠΕΦΥΚΩΣ	ΣΤΕΑΤΙΟ
HLA-DR – CD4str	P=0,03	NS	NS
HLA-DR – CD4epith	P=0,004	NS	NS
HLADR - CD8str	NS	NS	NS
HLA-DR - CD8epith	NS	NS	NS
HLA-DR – CD68str	NS	NS	NS
HLA-DR– CD68epith	P=0,002	NS	NS
HLA-DR – S100str	P=0,018	NS	NS
HLA-DR–S100epith	P<0,001	NS	NS
HLA-DR – Ki67	P=0,002	NS	NS
HLA-DR - PCNA	P=0,002	NS	NS
Ki67 – CD4str	NS	NS	P=0,016
Ki67 – CD4epith	P=0,003	NS	NS
Ki67 – CD8str	NS	NS	NS
Ki67 – CD8epith	P=0,02	NS	NS
Ki67 – S100str	NS	NS	NS
Ki67 – S100epith	P<0,001	NS	NS
Ki67 – CD68str	P=0,001	NS	NS
Ki67 – CD68epith	P=0,001	NS	NS
PCNA – CD4str	NS	NS	NS
PCNA – CD4epith	P=0,02	P=0,034	NS
PCNA – CD8str	NS	P=0,034	NS
PCNA – CD8epith	P=0,013	NS	NS
PCNA – S100str	P=0,005	P=0,028	NS
PCNA – S100epith	P<0,001	P=0,042	NS
PCNA – CD68str	NS	NS	NS
PCNA – CD68epith	NS	NS	NS

NS: Not Significant (Μη στατιστικώς σημαντικό)



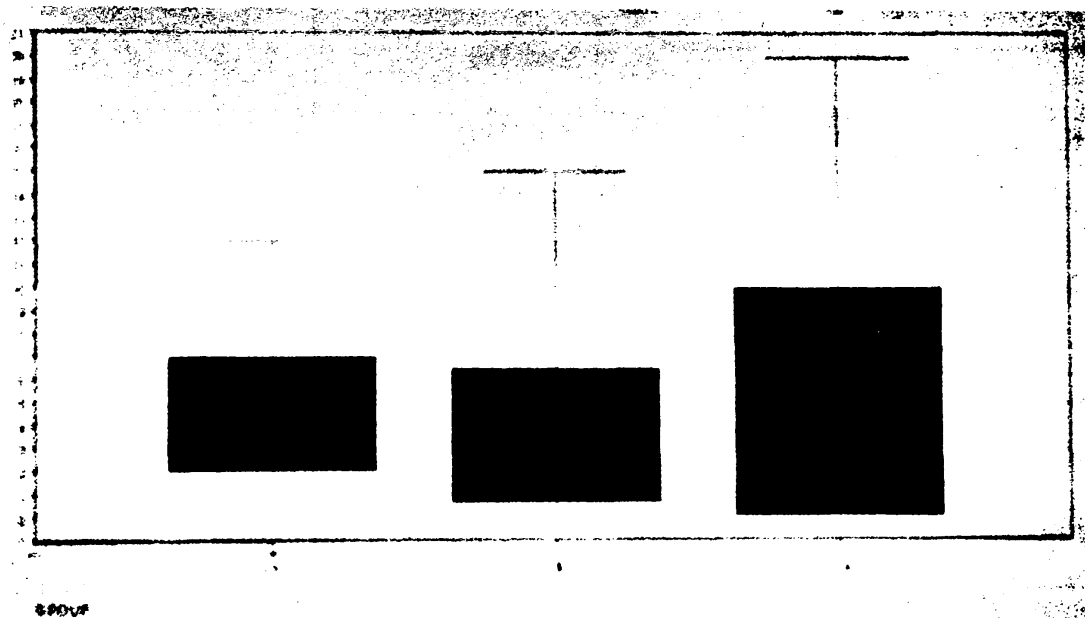
ΠΙΝΑΚΑΣ VI: Σύγκριση μεταξύ πτερυγίου, φυσιολογικού επιπεφυκότα και στεατίου ως προς την έκφραση HLA-DR αντιγόνων, λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών, μακροφάγων, κυττάρων Langerhans' και δεικτών πολλαπλασιασμού.

<u>Παράμετρος *</u>	<u>Πτερύγιο-Επιπεφυκώς</u>	<u>Πτερύγιο- Στεάτιο</u>	<u>Στεάτιο-Επιπεφυκώς</u>
HLA-DR	P<0,0001	P=0,0001	NS
CD4str	P=0,03	NS	NS
CD4epith	NS	NS	NS
CD8str	NS	NS	NS
CD8epith	NS	NS	NS
CD68epith	P<0,0001	P<0,0001	NS
S100str	P<0,0001	P=0,0002	NS
S100epith	P<0,0001	P<0,0001	NS
PCNA	P<0,0001	P<0,0001	NS
Ki67	P=0,005	P=0.006	NS

NS: Not significant (Μη στατιστικώς σημαντικό)

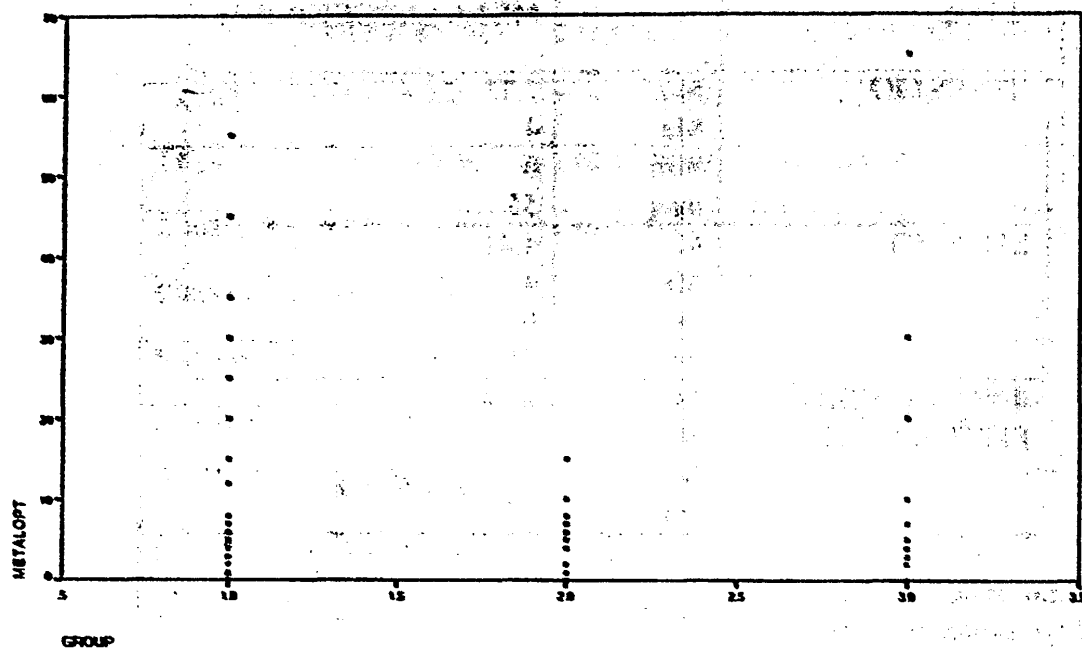


Box Whisker 1: Έκφραση της Μεταλλοθειονίνης σε Πτερύγιο, Στεάτιο και Φυσιολογικό Επιπεφυκότα.



METALLOPT : Μεταλλοθειονίνη
Pt Πτερύγιο
St Στεάτιο
Con Επιπεφυκότα

Scatterplot 1: Έκφραση MT σε πτερύγιο, στήθος και επιπεφυκότα.



Group 1.0: Πτερύγιο
 Group 2.0: Στήθος
 Group 3.0: Επιπεφυκός
 METALOPT: Μεταλλοθεσνίνη



ΙΠΝΑΚΑΣ VII: Μέση τιμή, Διάμεσος, Διακύμανση έκφρασης της Μεταλλοθειονίνης σε πτερύγιο, στεάτιο και φυσιολογικό επιπεφυκότα.

ΙΣΤΟΣ		ΜΕΤΑΛΛΟΘΕΙΟΝΙΝΗ
ΠΤΕΡΥΓΙΟ	M	7.33
	Me	4
	Min	0
	max	55
ΣΤΕΑΤΙΟ	M	4.41
	Me	4
	Min	0
	max	15
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΠΙΠΕΦΥΚΩΣ	M	8.84
	Me	3
	Min	0
	max	65

Επιθ: ενδοεπιθηλιακά

Στρ: ενδοστρωματικά

ΙΣΤ: Ιστός, Πτ: Πτερύγιο, Στ: Στεάτιο, ΦΕ: Φυσιολογικός Επιπεφυκότας

M: Mean (Μέση τιμή), Me: Median (Διάμεση Τιμή),

Min: Minimum (Ελάχιστη τιμή), Max: Maximum (Μεγίστη τιμή)



ΠΙΝΑΚΑΣ VIII: Συσχέτιση των επιμέρους κυτταρικών διηθήσεων και της έκφρασης MT σε περύγιο, στεάτιο και φυσιολογικό επιπεφυκότα.

	ΠΤΕΡΥΓΙΟ- MT	ΣΤΕΑΤΙΟ-MT	ΕΠΙΠΕΦΥΚΩΣ-MT
T8 επιθ	r=0.3 P=0.01	r=0.3 P=0.2	r=0.3 P=0.1
T8 στρ	r=0.2 P=0.06	r=0.4 P=0.1	r=0.3 P=0.1
CD68 επιθ	r=0.4 P<0.001	r=0.4 P=0.1	r=0.2 P=0.3
CD68 στρ	r=0.3 P<0.04	-	-
S100 επιθ	r=0.6 P<0.001	r=0.2 P=0.3	r=0.2 P=0.2
S100 στρ	r=0.1 P=0.1	r=0.05 P=0.8	r=0.4 P=0.05
Ki67	r=0.5 P<0.001	r=0.4 P=0.07	r=0.4 P=0.04
PCNA	r=0.4 P<0.001	r=0.5 P=0.05	r=0.8 P<0.001
T4 επιθ	r=0.07 P=0.4	r=0.1 P=0.4	r=0.5 P=0.01
T4 στρ	r=0.2 P=0.1	r=0.06 P=0.8	r=0.3 P=0.1

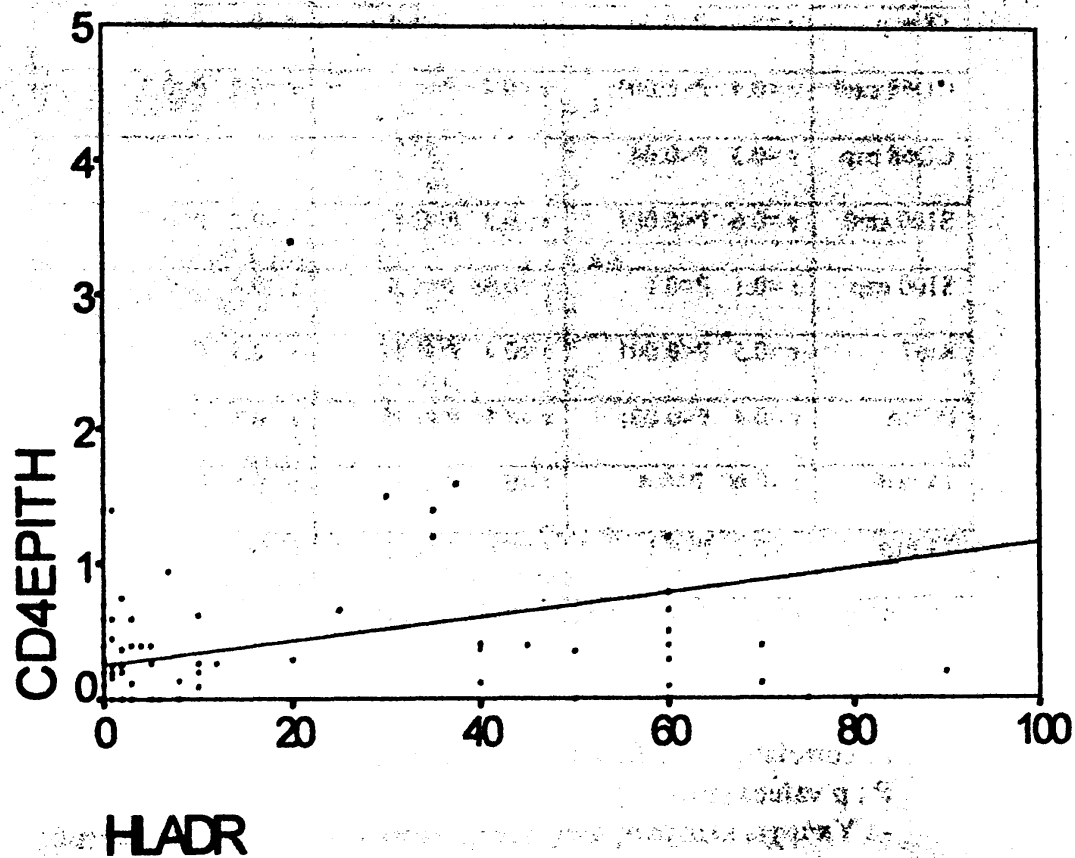
r : correlation coefficient (συντελεστής συσχέτισης)

P : p values (τιμές p)

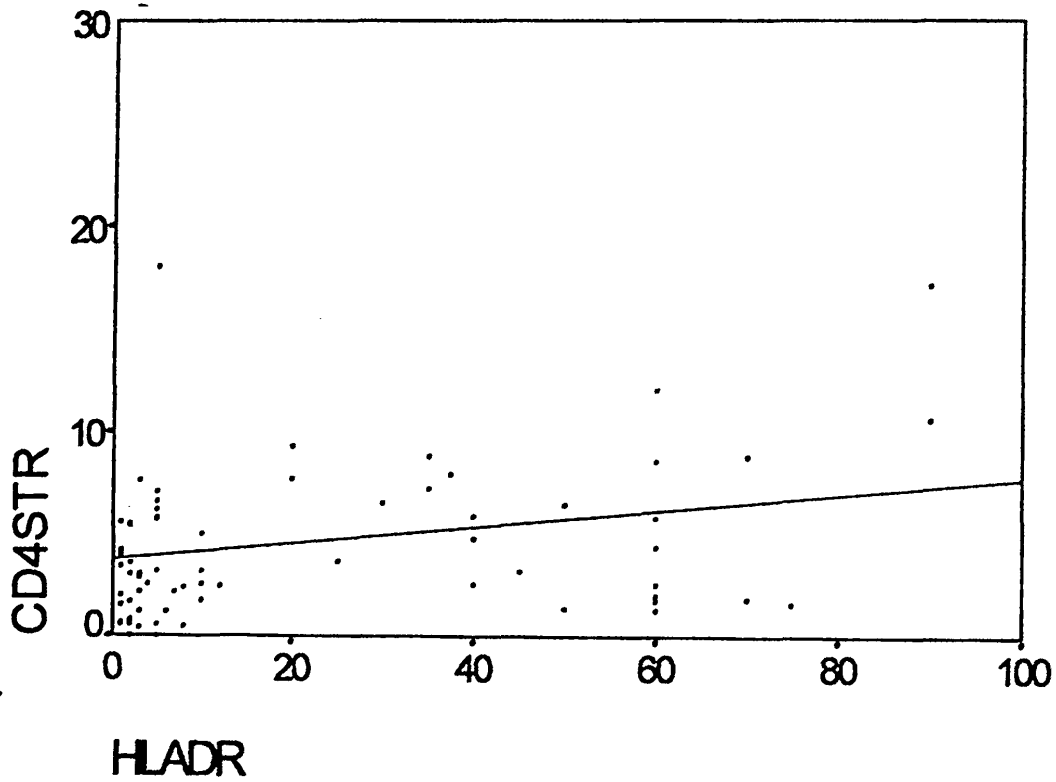
- : Υπάρχει ελάχιστη ανίχνευση, οπότε δεν υπολογίζονται τιμές



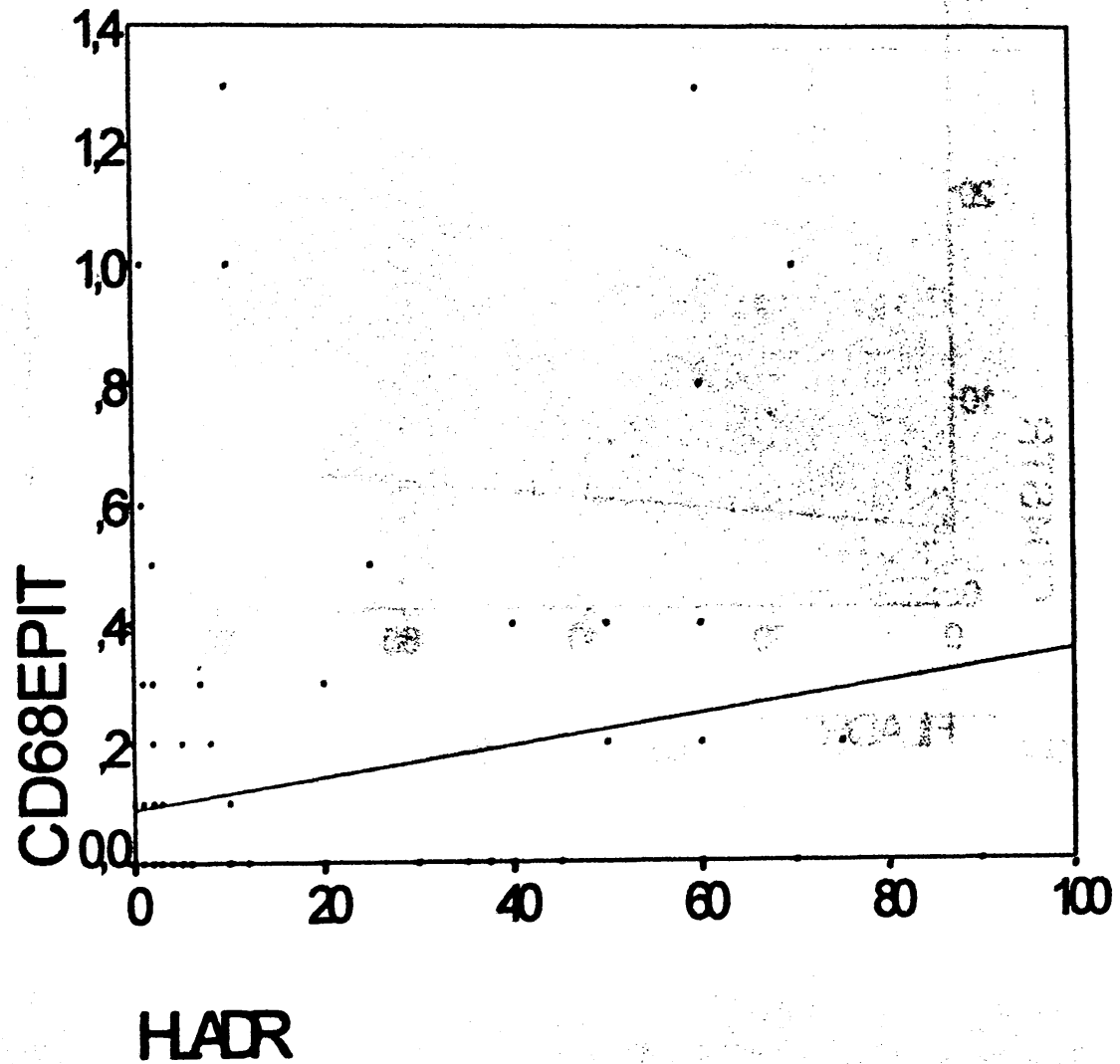
Scatterplot 2: Συσχέτιση έκφρασης HLA-DR αντιγόνων και CD4 ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων στο πτερύγιο.



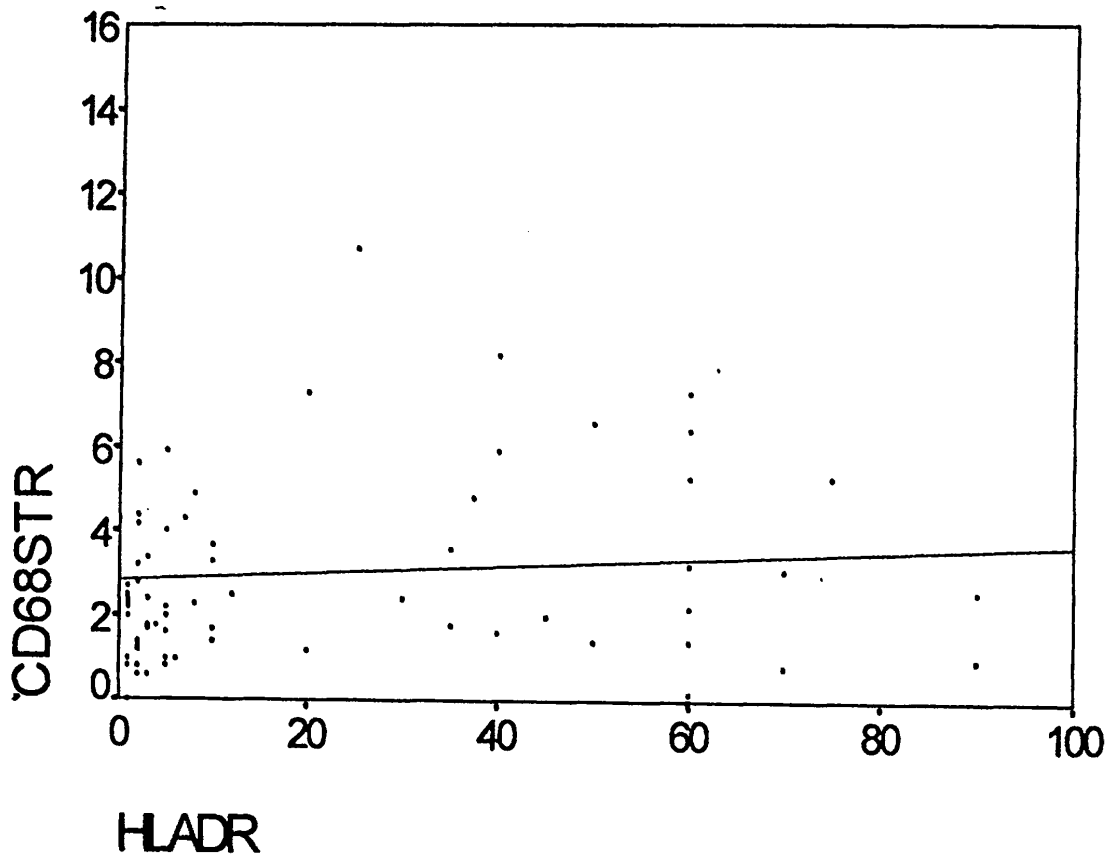
Scatterplot 3: Συσχέτιση έκφρασης HLA-DR αντιγόνων και CD4 ενδοστρωματικών λεμφοκυττάρων στο πτερύγιο.



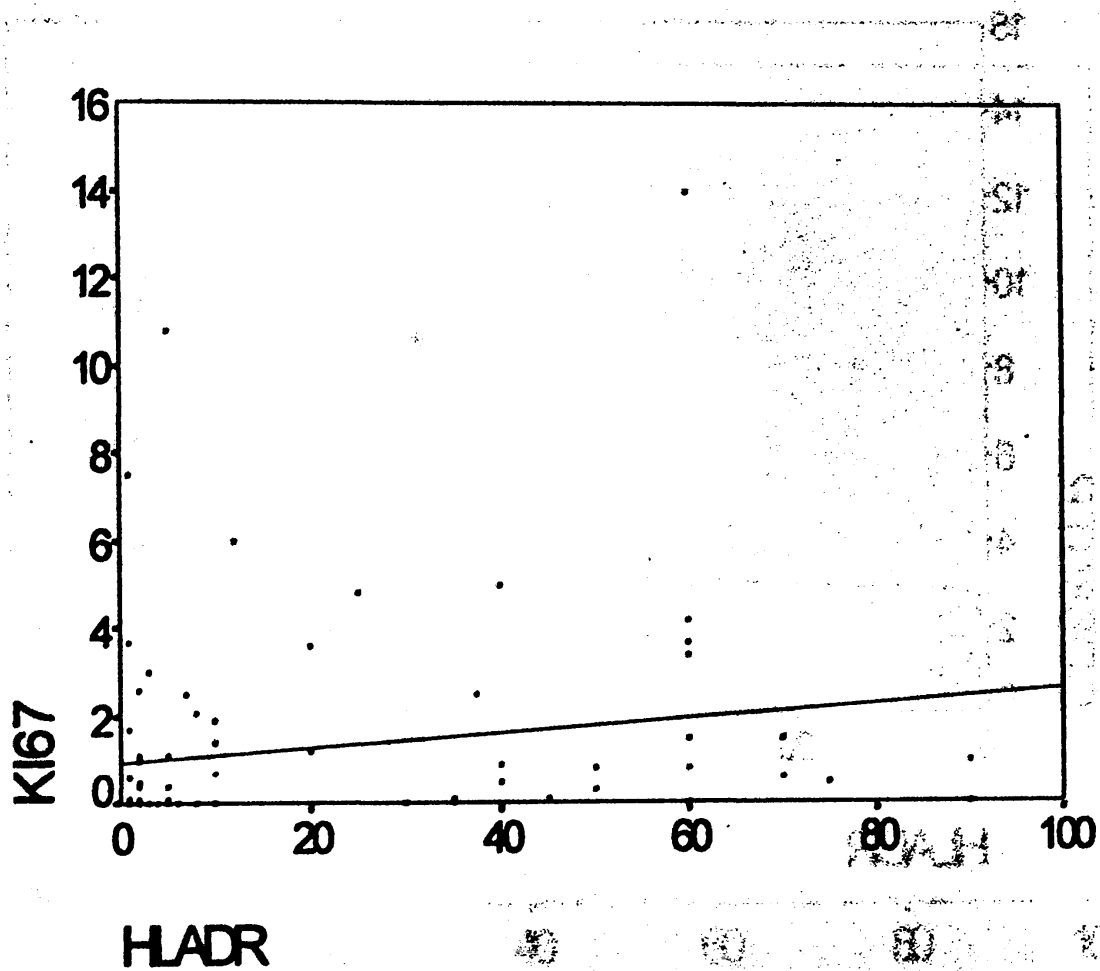
Scatterplot 4: Συσχέτιση έκφρασης HLA-DR αντιγόνων και CD68
ενδοεπιθηλιακών κυττάρων στο περύγιο.



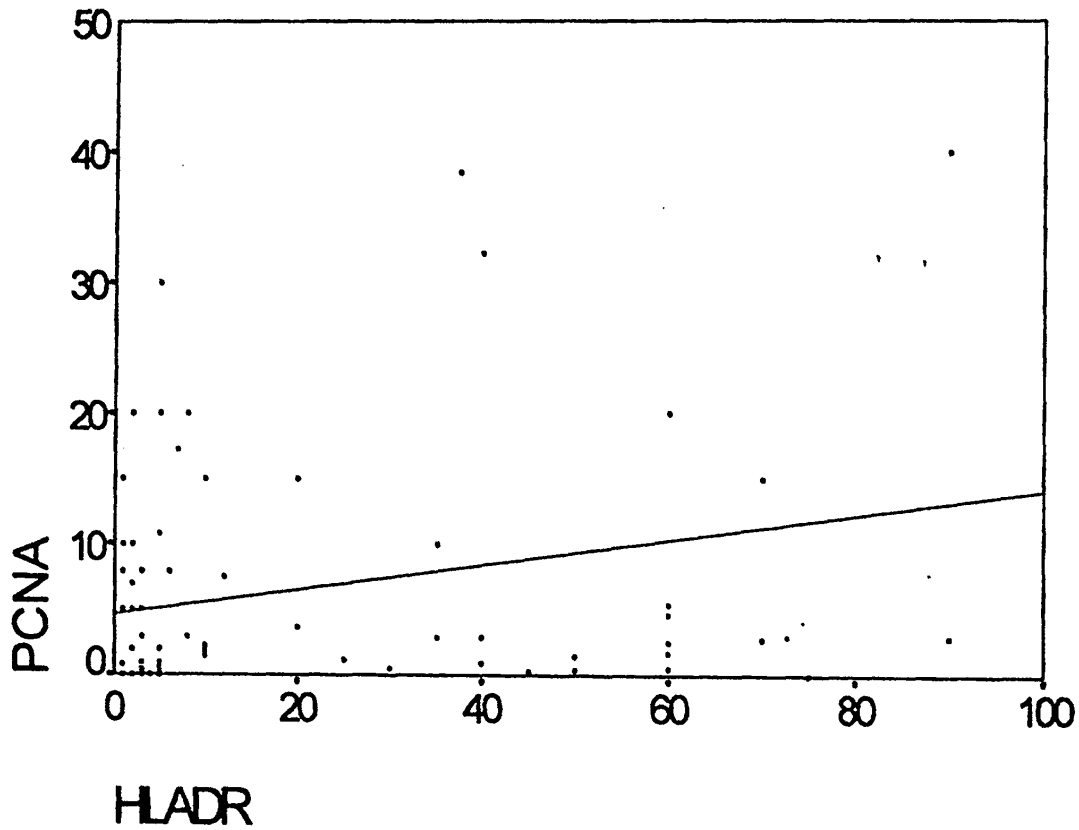
Scatterplot 5: Συσχέτιση έκφρασης HLA-DR αντιγόνων και CD68 ενδοστρωματικών κυττάρων στο περύγιο.



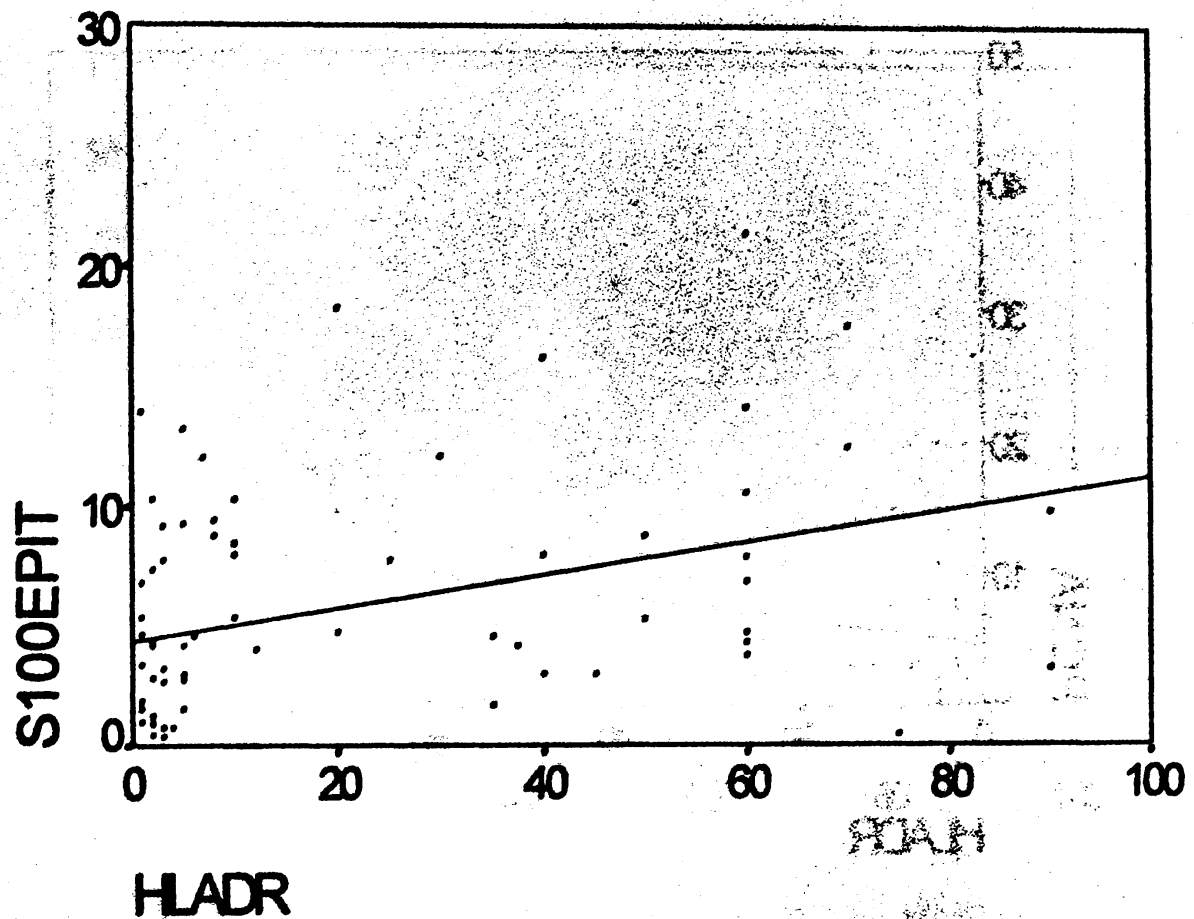
Scatterplot 6: Συσχέτιση έκφρασης HLA-DR αντιγόνων και Ki67 στο πτερύγιο.



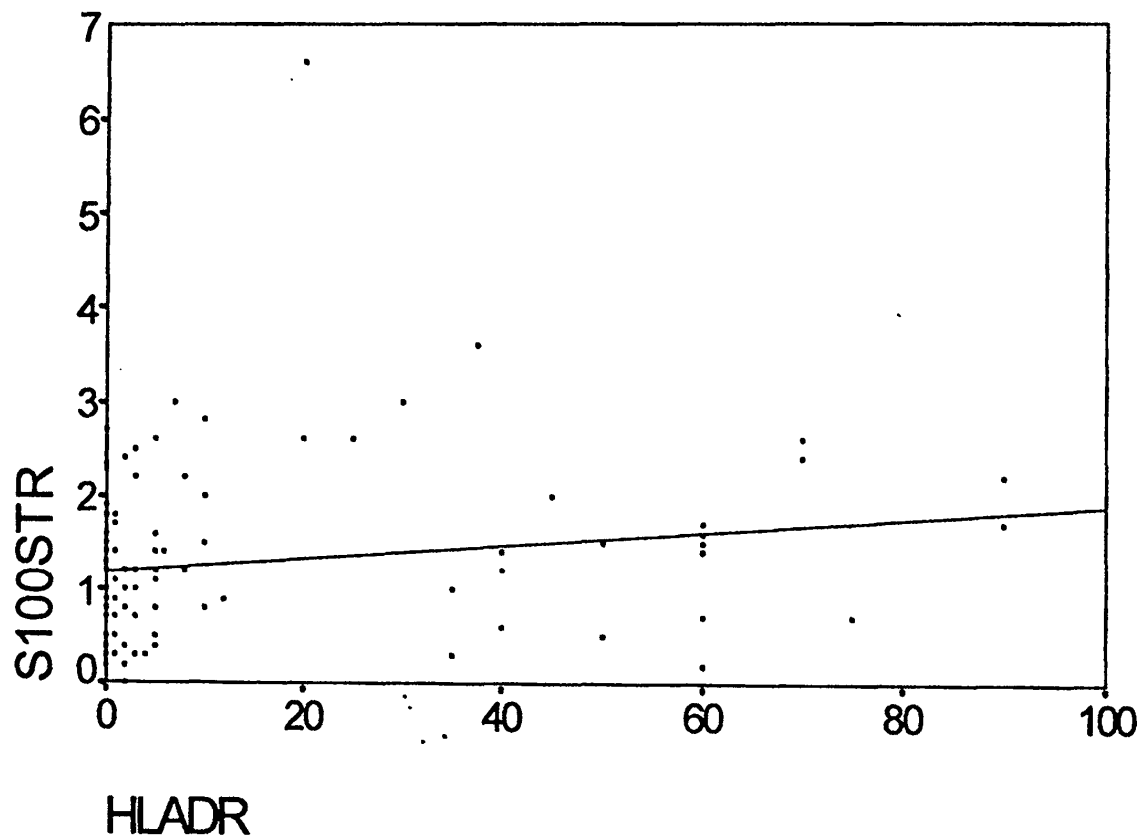
Scatterplot 7: Συσχέτιση έκφρασης HLA-DR αντιγόνων και PCNA στο πτερύγιο.



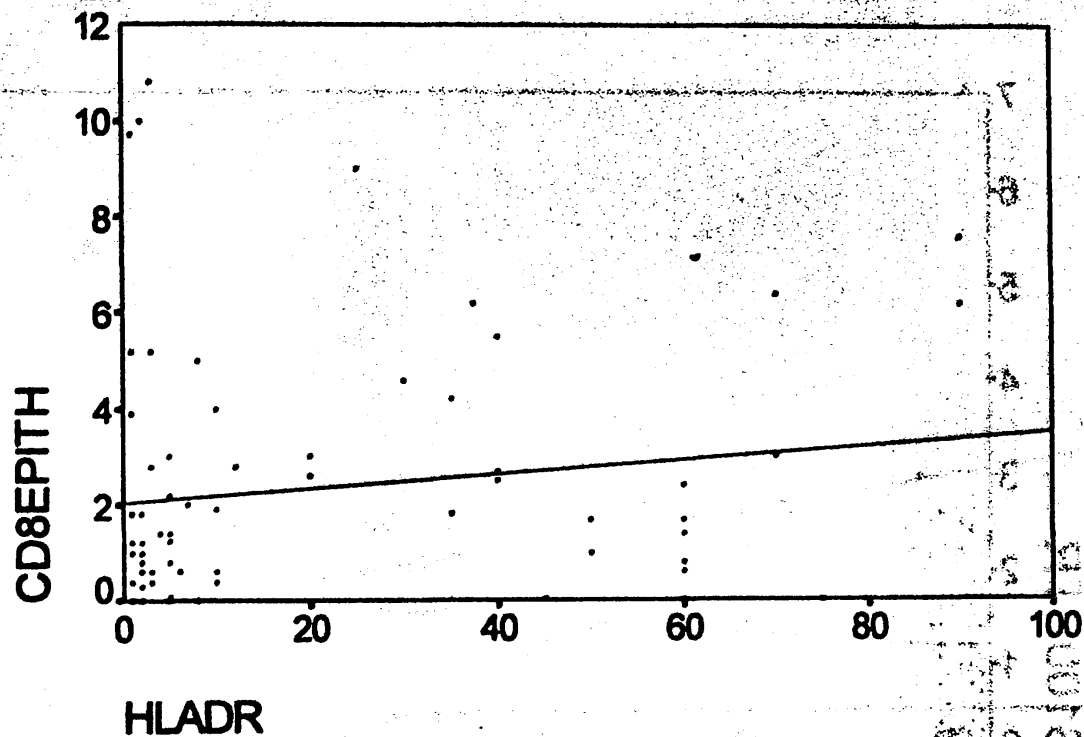
Scatterplot 8: Συσχέτιση έκφρασης HLA-DR αντιγόνων και S100 ενδοεπιθηλιακής έκφρασης στο πτερύγιο.



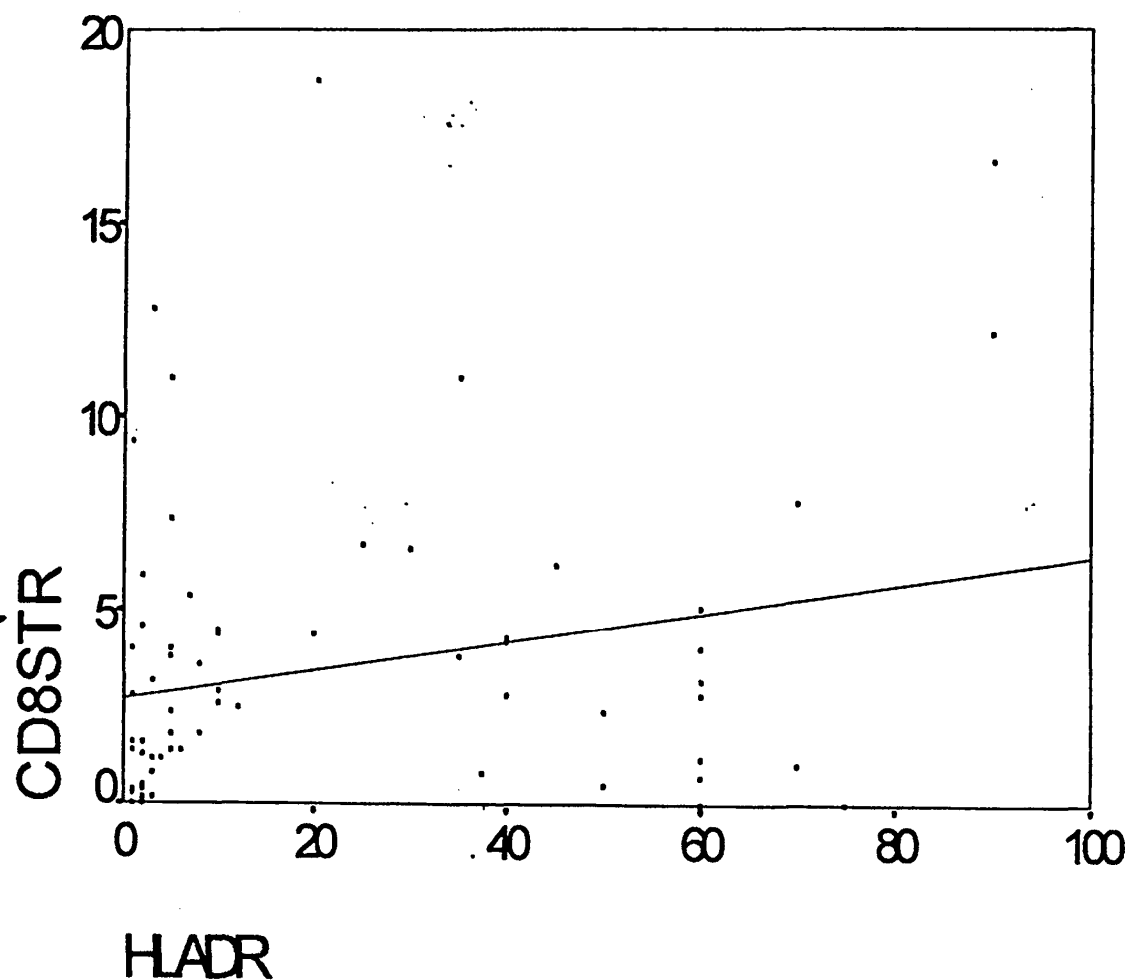
Scatterplot 9: Συσχέτιση έκφρασης HLA-DR αντιγόνων και S100 ενδοστρωματικής έκφρασης στο περύγιο.



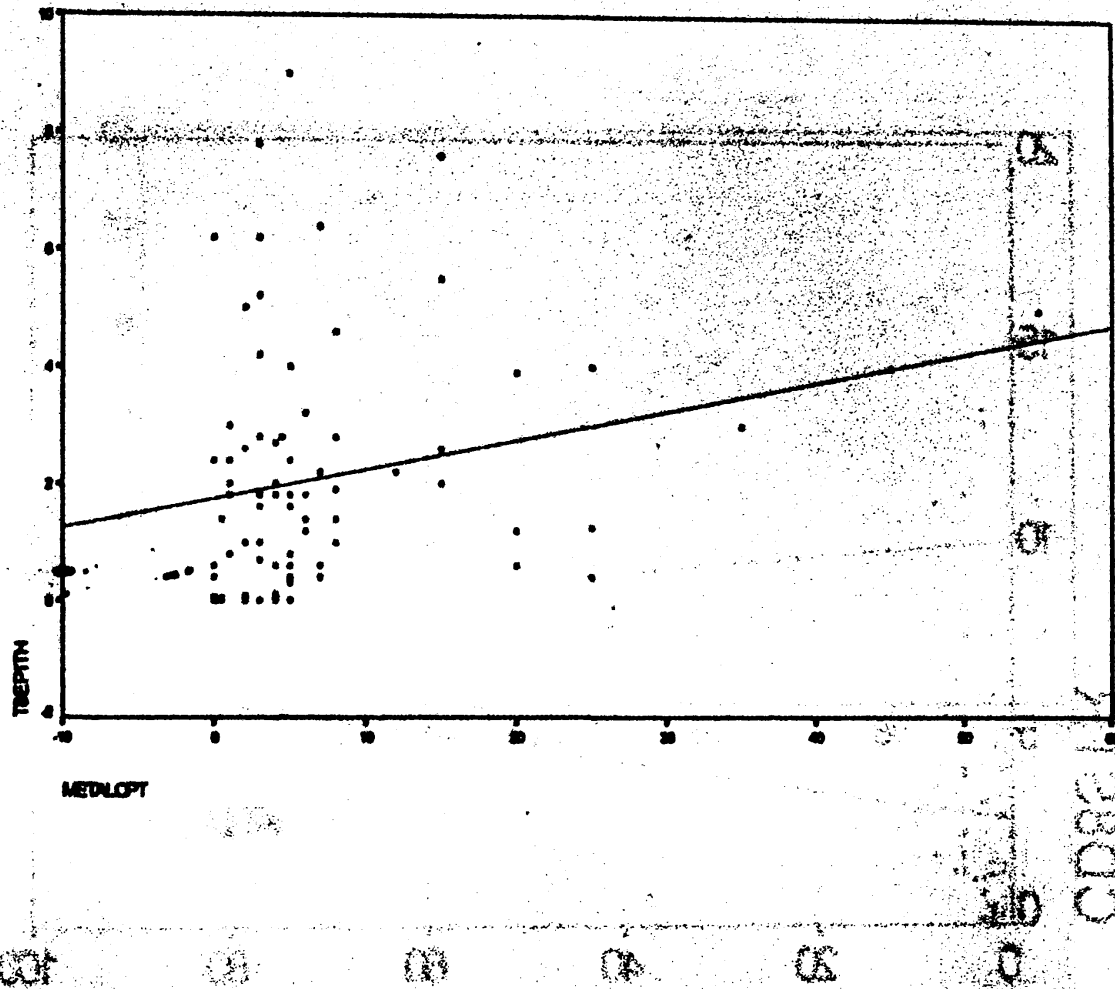
Scatterplot 10: Συσχέτιση έκφρασης HLA-DR αντιγόνων και CD8 ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων στο περύγιο.



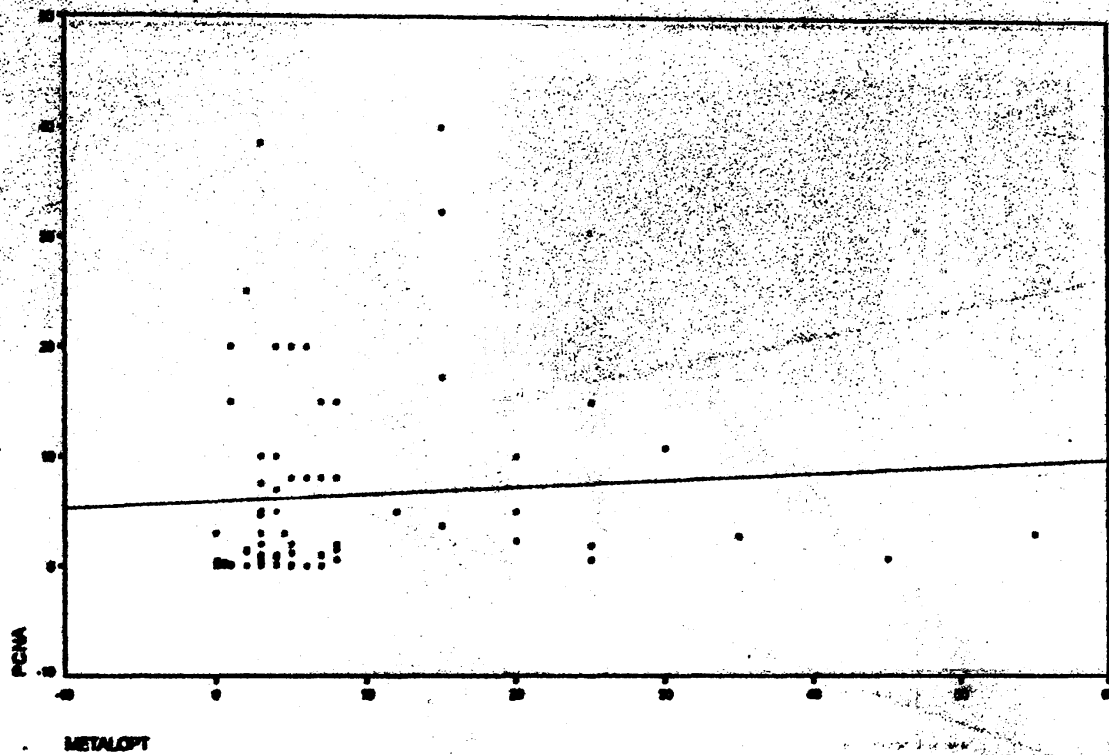
Scatterplot 11: Συσχέτιση έκφρασης HLA-DR αντιγόνων και CD8 ενδοστρωματικών λεμφοκυττάρων στο πτερύγιο.



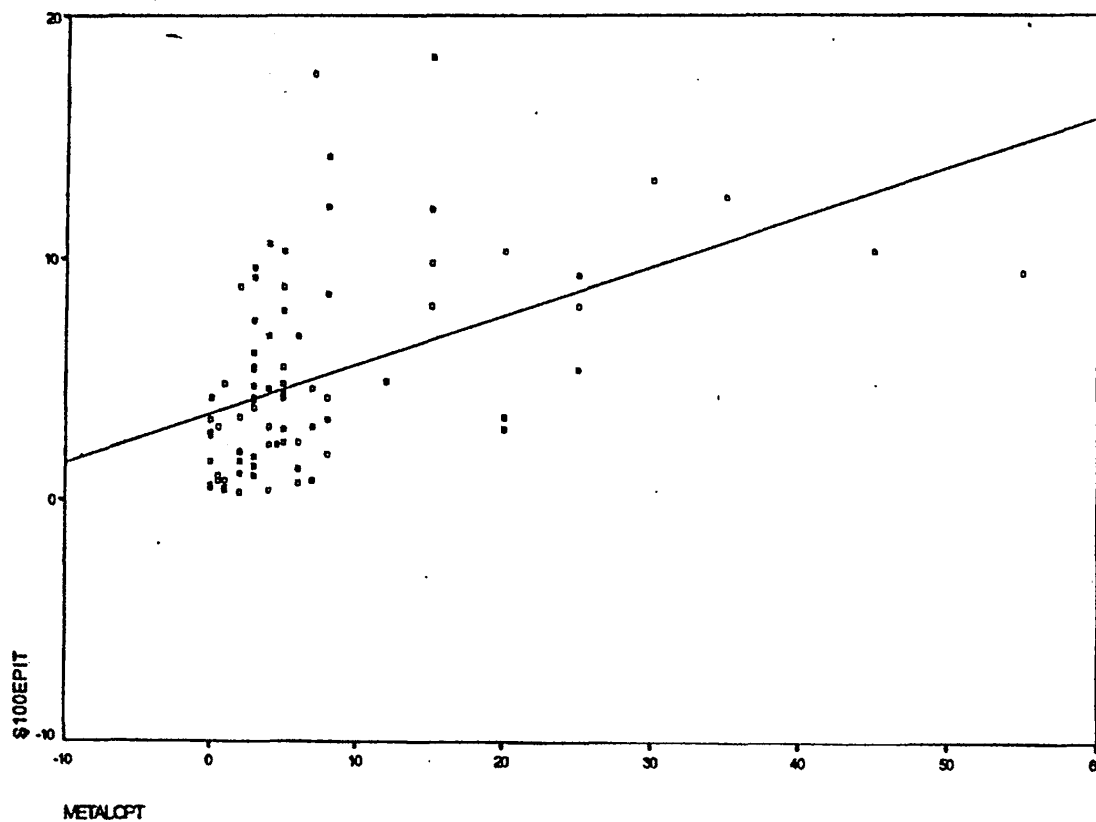
Scatterplot 12: Συσχέτιση της έκφρασης Μεταλλοθειονίνης και των CD8 λεμφοκυττάρων στο πτερύγιο.



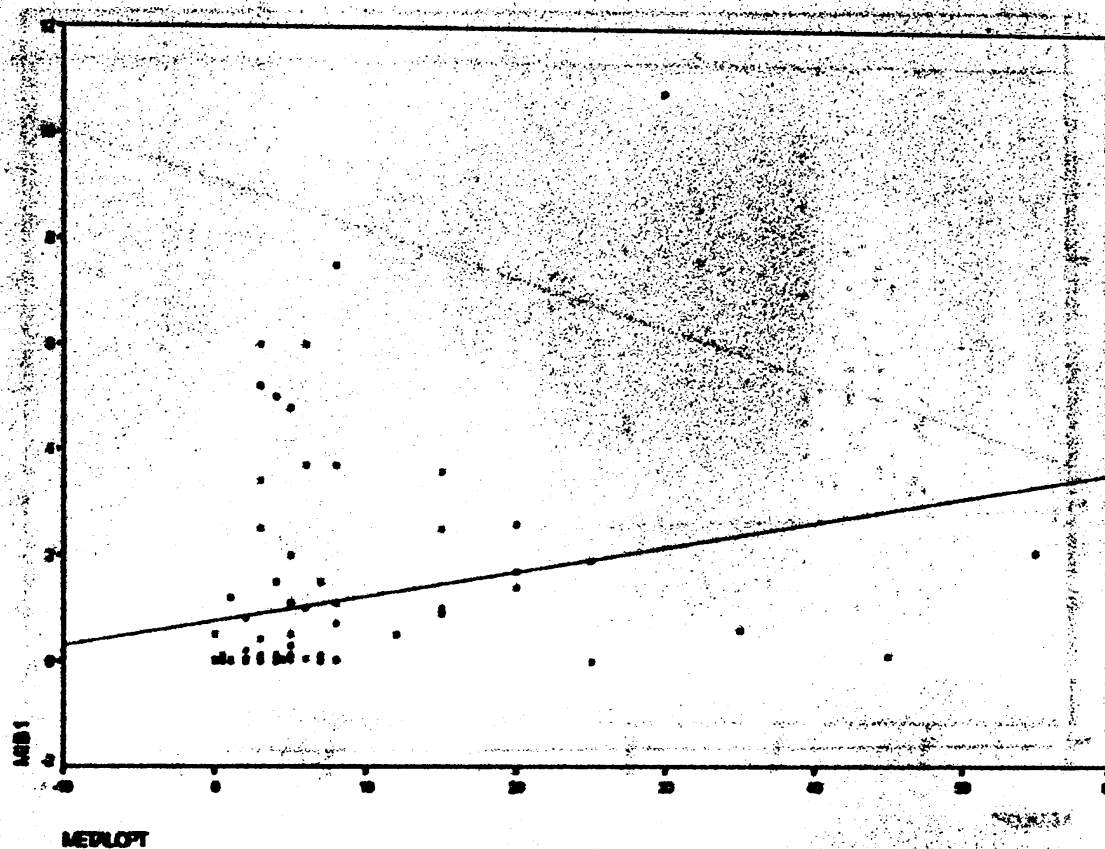
Scatterplot 14: Συσχέτιση έκφρασης Μεταλλοθειονίνης και PCNA στο ισόπλευρο πεντάγωνο.



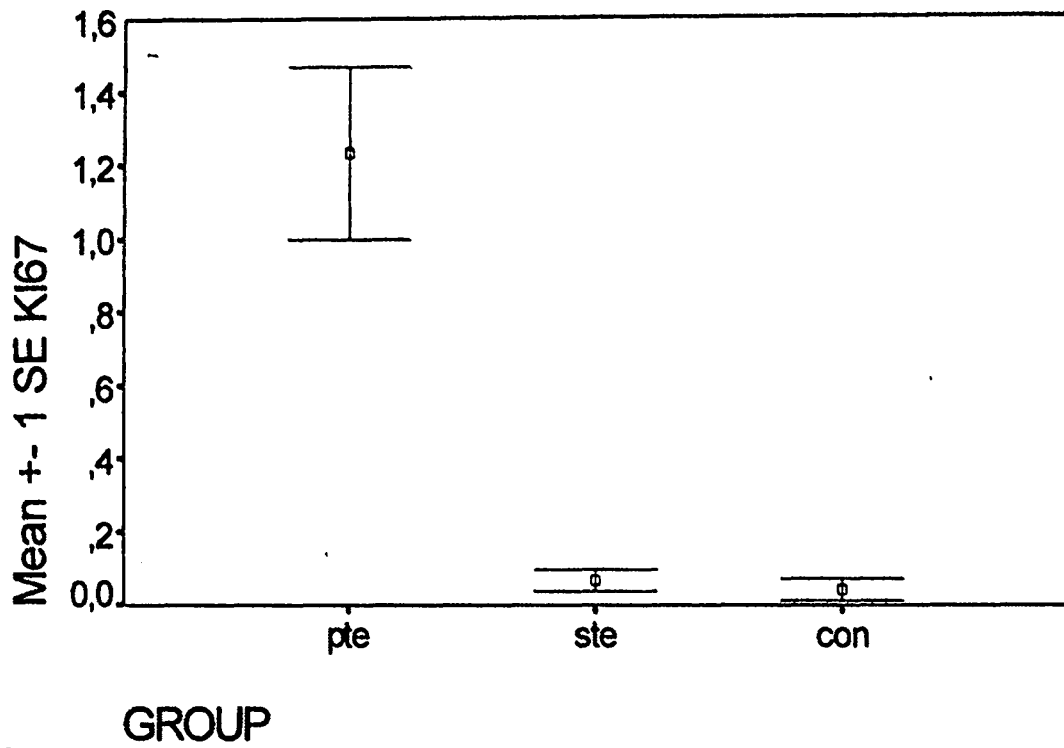
Scatterplot 15: Συσχέτιση έκφρασης Μεταλλοθειονίνης και κυττάρων Langerhans' στο περύγιο.



Scatterplot 16: Συσχέτιση έκφρασης Μεταλλοθειονίνης και Ki67 (MIB1) στο περύγιο.

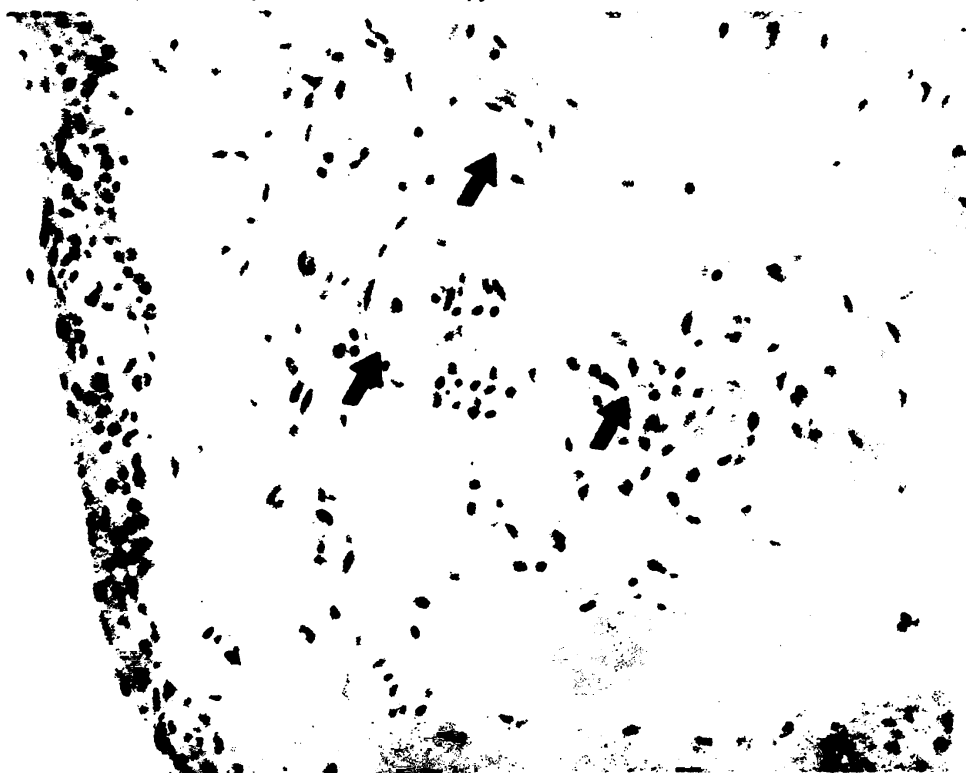


Scatterplot 17: Η έκφραση του δείκτη πολλαπλασιασμού Ki67 σε πτερύγιο, στεάτιο και φυσιολογικό επιπεφυκότα.

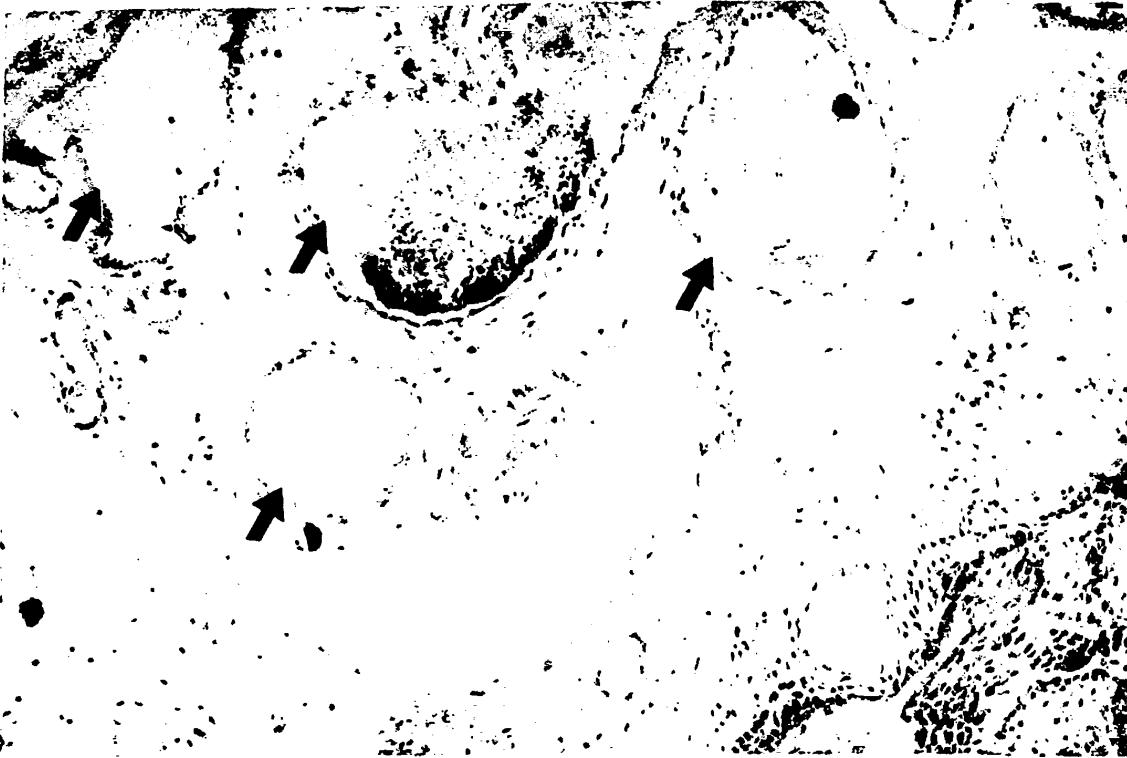




Φωτογραφία 1: Ινώδης τύπος πτερυγίου. Τα βέλη υποδεικνύουν την βασική στιβάδα του επιθηλίου του πτερυγίου. Το υποκείμενο στρώμα του ιστού αποτελείται μόνο από ινώδη στοιχεία. (χρώση αιματοξυλίνης - ηωσίνης)



Φωτογραφία 2: Μικτός τύπος πτερυγίου. Τα βέλη υποδεικνύουν τομές αγγείων που διακρίνονται μέσα στα ινώδη στοιχεία του στρώματος. (χρώση αιματοξυλίνης - ηωσίνης)

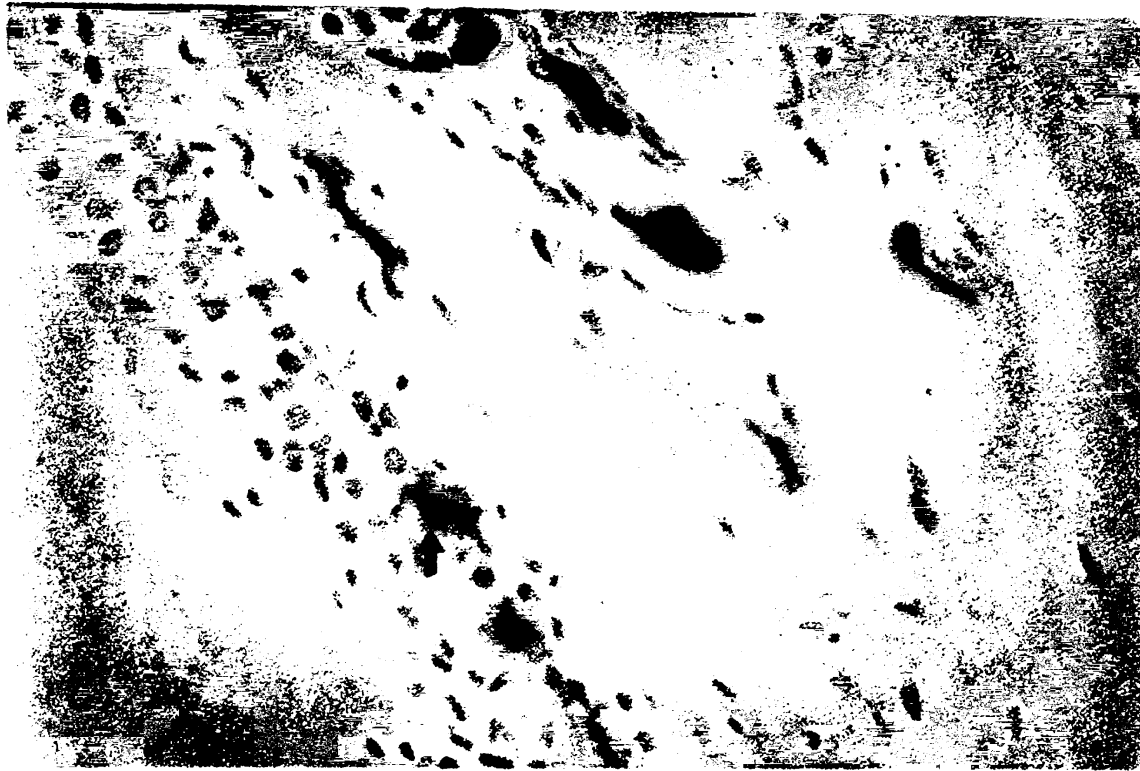


Φωτογραφία 3: Αγγειώδης τύπος πτερυγίου. Τα βέλη υποδεικνύουν μερικά από τα πολλά και ευμεγέθη αγγεία που διακρίνονται σε τομή. Έμορφα συστατικά του αίματος είναι διακριτά εντός των αγγείων. (χρώση αιματοξυλίνης –ηωσίνης)



Φωτογραφία 4: Διηθήσεις CD4 λεμφοκυττάρων σε πτερύγιο. Η χρώση αφορά την κυτταρική μεμβράνη και δίνει στα λεμφοκύτταρα (βέλη) όψη «δακτυλιδιού» (ABC x 200)



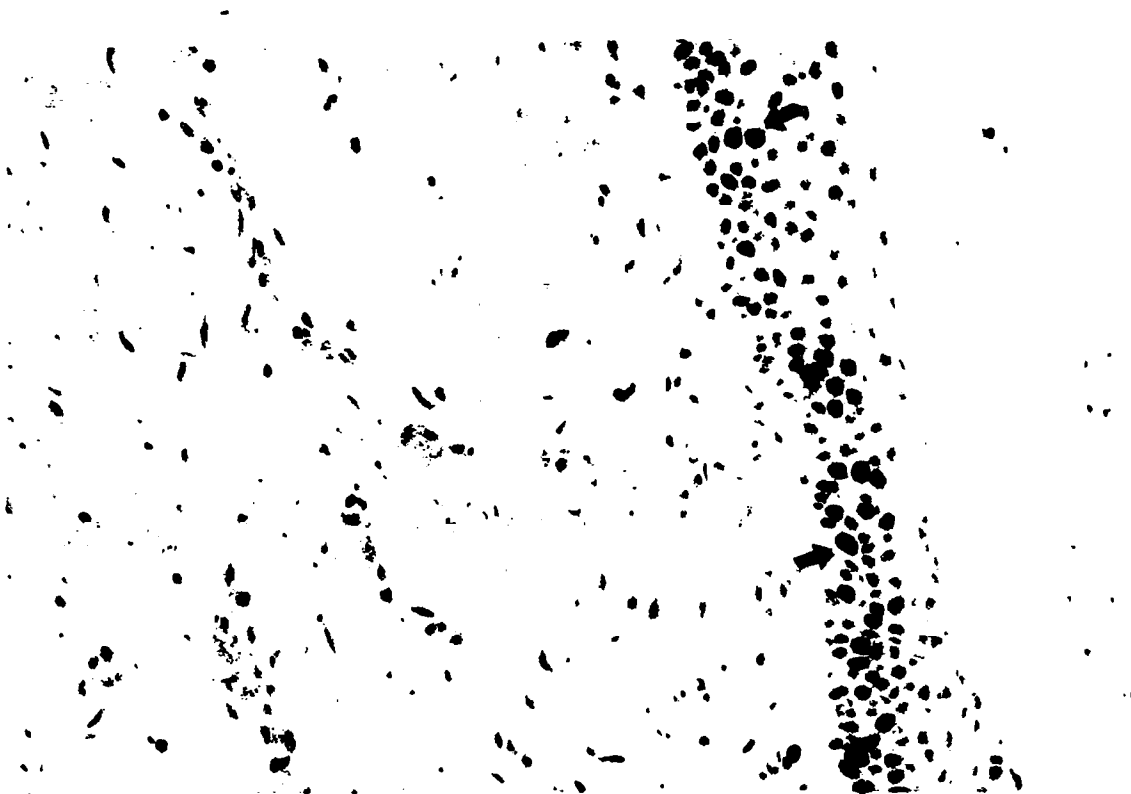


Φωτογραφία 5: Χρώση S100 κυττάρων Langerhans* (βέλος) σε πτερύγιο (ABC x 400)



Φωτογραφία 6: Χρώση (δίκην «πλακοστρώτου») HLA-DR αντιγόνου (βέλη) σε πτερύγιο (ABC x 100)

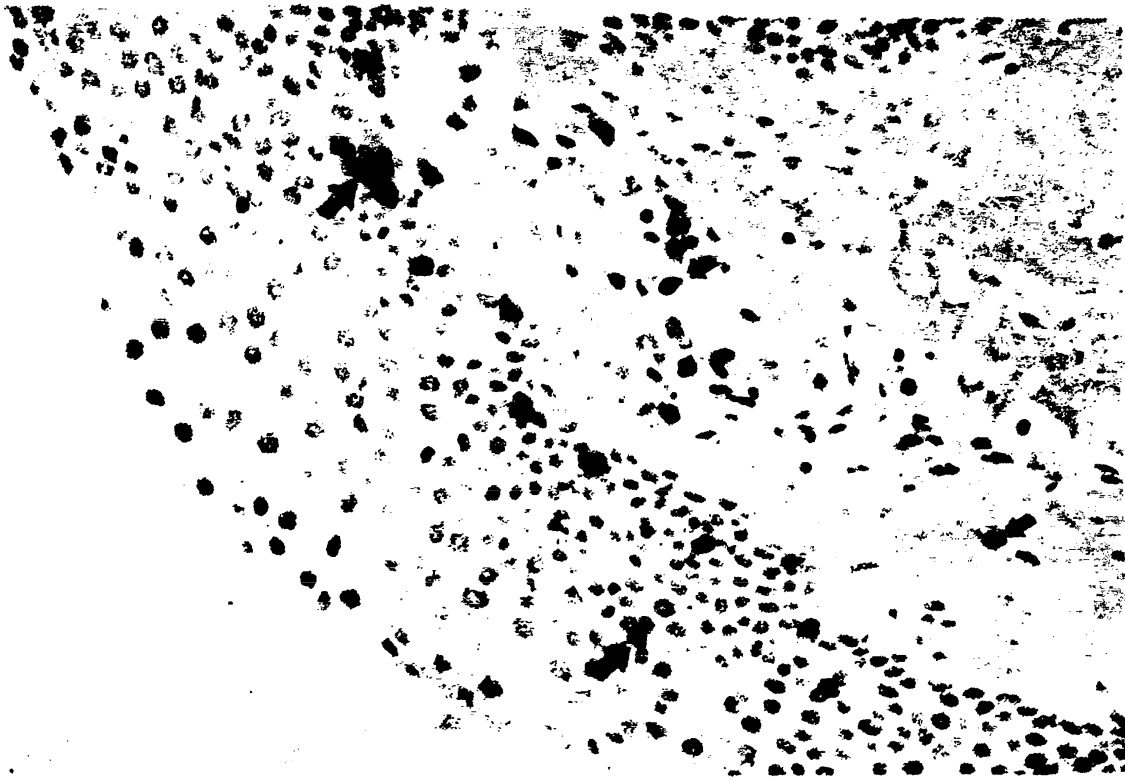




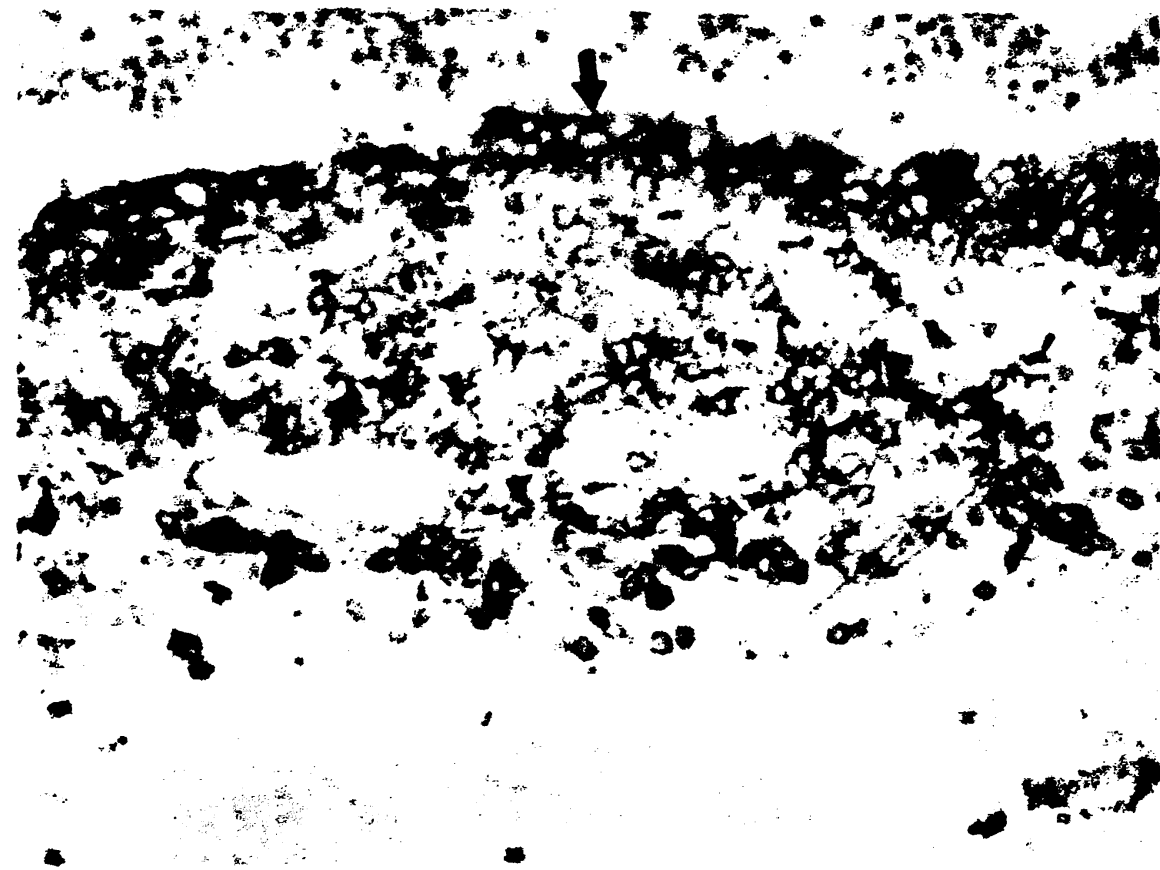
Φωτογραφία 7: Χρώση δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA σε πτερύγιο. Πρόκειται για πυρηνική χρώση. Χαρακτηριστικά ανοσοθετικά κύτταρα του επιθηλίου υποδεικνύονται με βέλη. (ABC x 200)



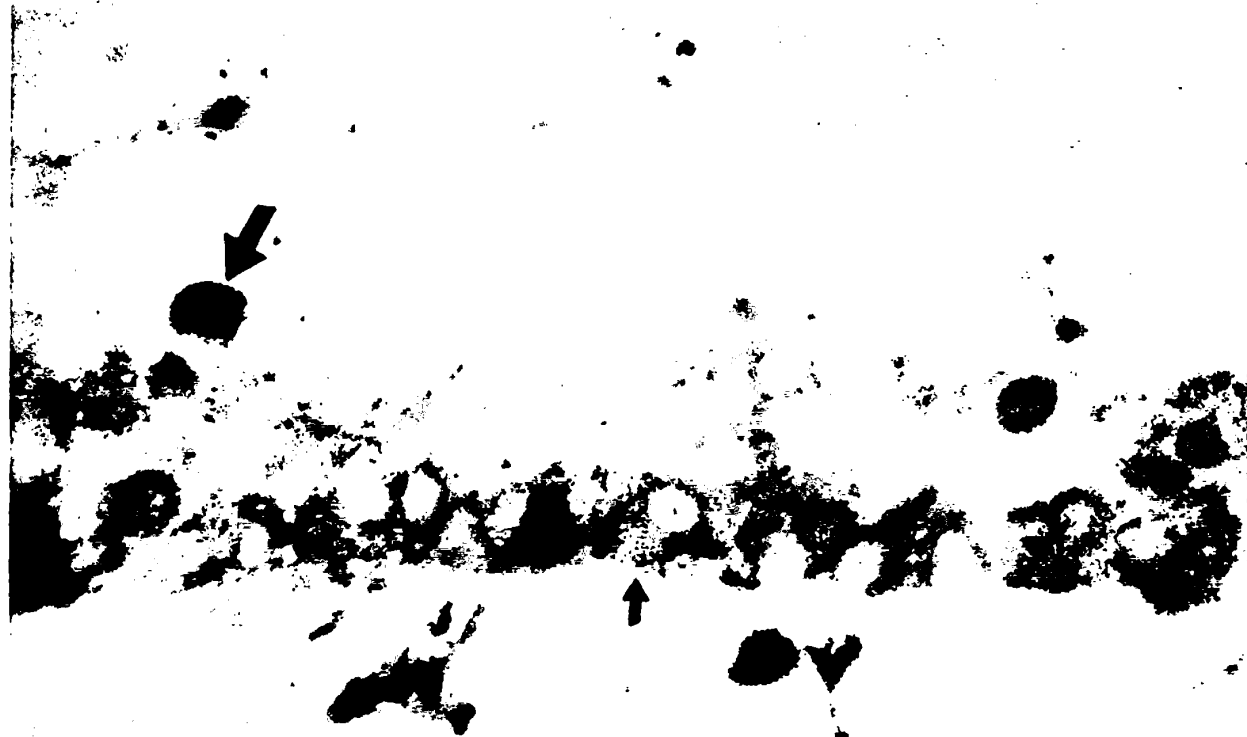
Φωτογραφία 8: Χρώση δείκτη πολλαπλασιασμού Ki67 σε πτερύγιο. Πρόκειται για πυρηνική χρώση. Ανοσοθετικά κύτταρα διακρίνονται σε όλο το μήκος του επιθηλίου της παρούσας τομής. (ABC x 100).



Φωτογραφία 9: Διηθήσεις CD68 λεμφοκυττάρων σε περύγιο. Διακρίνονται ενδοεπιθηλιακά (μεγάλα βέλη) και ενδοστρωματικά (μικρά βέλη) (ABC x 200)



Φωτογραφία 10: Διπλή χρώση, HLA-DR αντιγόνου (μεγάλο βέλος) και CD4 λεμφοκυττάρων (μικρό βέλος) σε περύγιο. (ABC x 100)



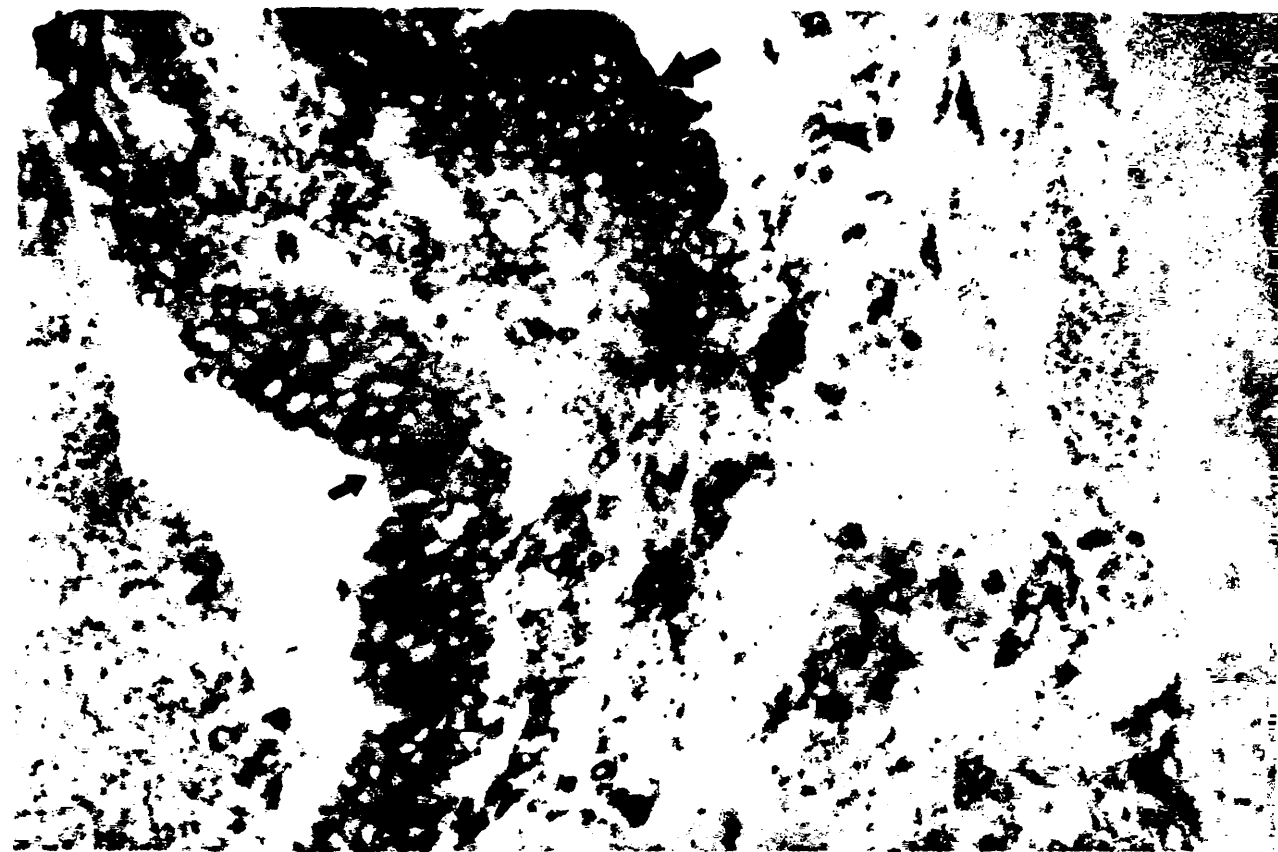
Φωτογραφία 11: Διπλή χρώση, HLA-DR αντιγόνου (μικρό βέλος) και δείκτη πολλαπλασιασμού Ki67 (μεγάλο βέλος) σε πτερύγιο. (ABC x 400)



Φωτογραφία 12: Διπλή χρώση, HLA-DR αντιγόνου (μεγάλο βέλος) και δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA (μικρό βέλος) σε πτερύγιο. (ABC x 400)

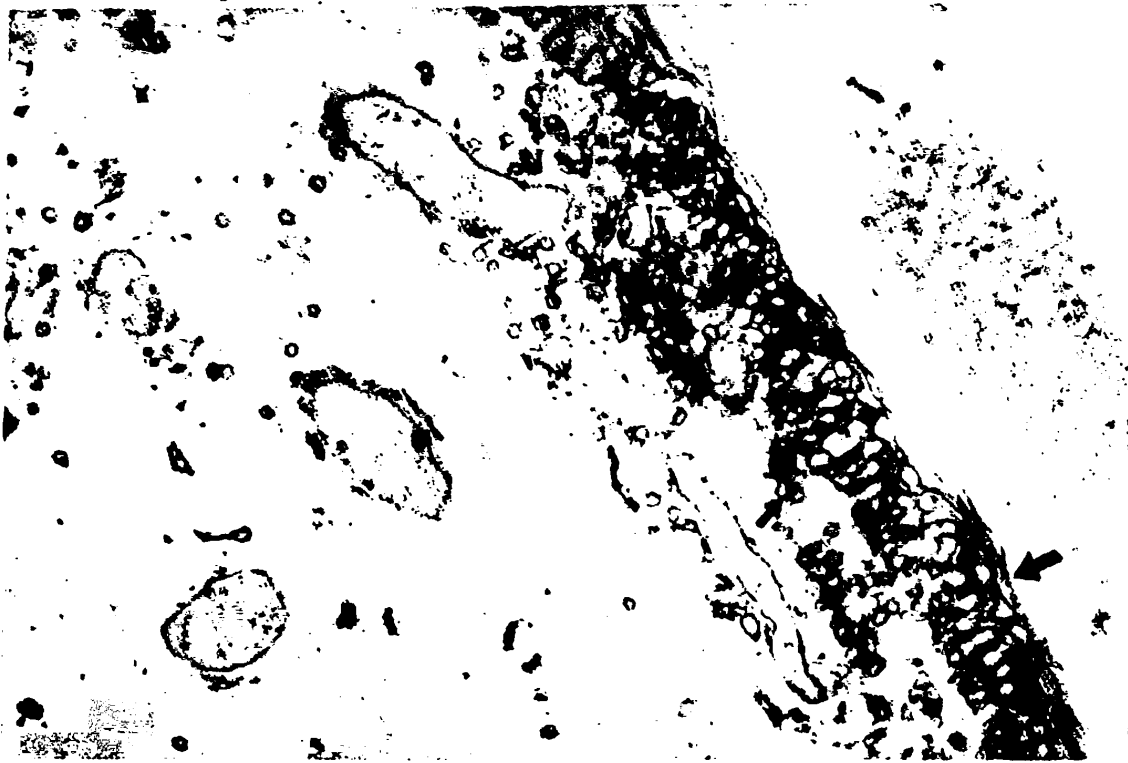


Φωτογραφία 13: S100 θετικά κύτταρα Langerhans' κυρίως στην βασική στιβάδα του επιθηλίου, σε πτερύγιο. Τα βέλη υποδεικνύουν χαρακτηριστικά κεχωρωμένα, ανοσοθετικά κύτταρα. (ABC x 200)

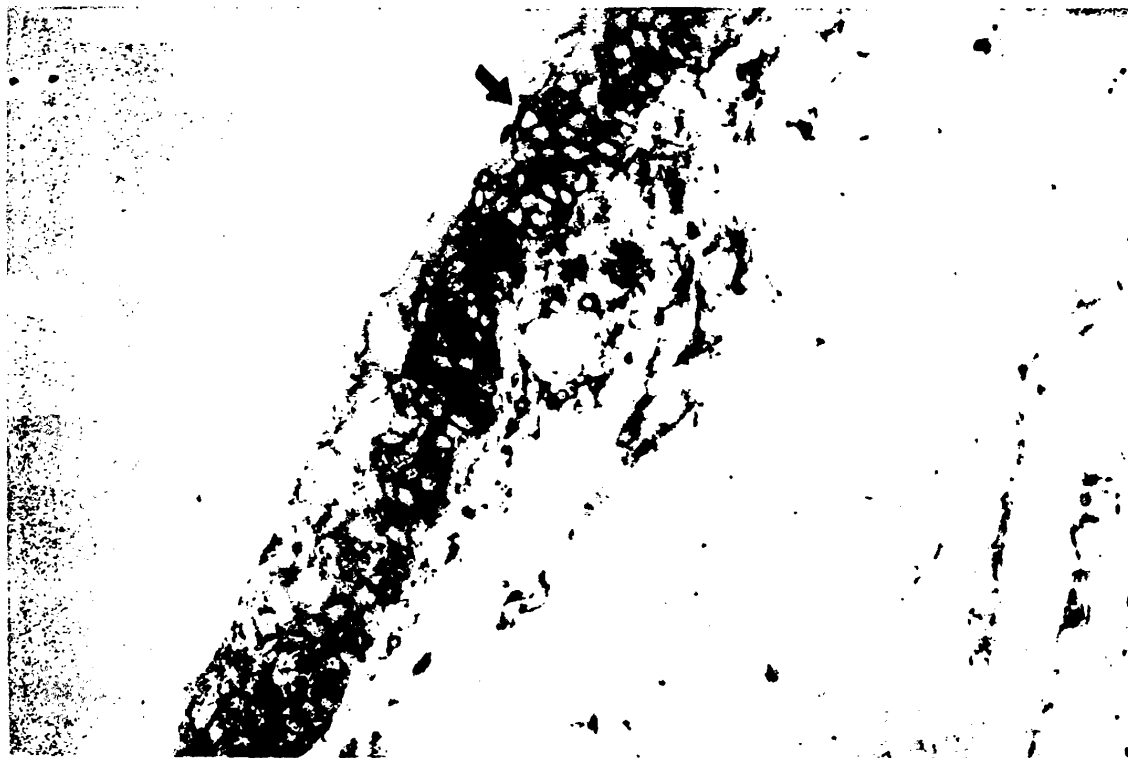


Φωτογραφία 14: Διπλή ανοσοϊστοχημική χρώση, όπου φαίνεται η επιθηλιακή έκφραση του HLA-DR αντιγόνου (μικρό βέλος) σε συνδιασμό με CD4 θετικά λεμφοκύτταρα (μεγάλο βέλος) που βρίσκονται μεμονωμένα ή σε συσσωρεύσεις κυρίως στο στρώμα του πτερυγίου. (APAAP x 200)

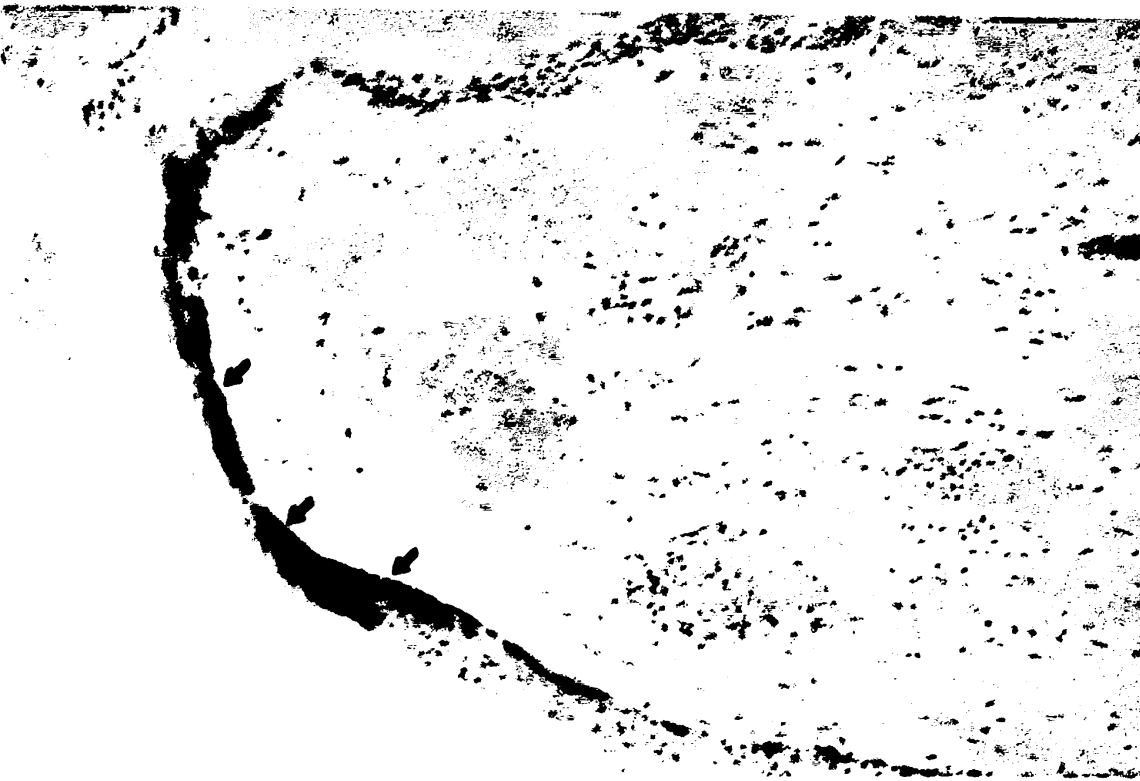




Φωτογραφία 15: Έκφραση HLA-DR αντιγόνου (μεγάλο βέλος) στο επιθήλιο σε συνδυασμό με ενδοεπιθηλιακά και ενδοστρωματικά CD8 θετικά κύτταρα (μικρό βέλος) σε πτερύγιο. (APAAP x 200)



Φωτογραφία 16: Έκφραση HLA-DR αντιγόνου (μεγάλο βέλος) και PCNA θετικά επιθηλιακά κύτταρα (μικρό βέλος) στην ίδια περιοχή πτερυγίου. (APAAP x 200)



Φωτογραφία 17: Έκφραση Μεταλλοθειονίνης (βέλη) στο επιθήλιο πτερυγίου. (ABC x100)



Φωτογραφία 18: Υψηλή μεγέθυνση επιθηλιακής έκφρασης Μεταλλοθειονίνης σε πτερύγιο. (ABC x 400)

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Παρά τις πολυάριθμες μελέτες και θεωρίες σχετικά με τα αίτια για την εμφάνιση και την ανάπτυξη του πτερυγίου, ως γνωστόν υπάρχει ακόμη διαφωνία και προβληματισμός σχετικά με τους μηχανισμούς και την εξέλιξη της βλάβης και τόσο η αιτιολογία όσο και η παθογένεια είναι ως σήμερα μερικώς άλυτα προβλήματα.

Έρευνες σχετικές με τον ρόλο του ανοσοποιητικού συστήματος στο πτερύγιο είναι περιορισμένες παρά τις ποικίλες προηγούμενες μελέτες, σχετικά με την ανοσολογική βάση της παθογένειας του πτερυγίου (Ratnakar et al 1976, Rinkerton et al 1984, Solomon 1985, Lia 1993, Lin & Yang 1993, Joachim – Velogianni et al 1995, Nakagami et al 1998, Nakagami et al 1999).

ΠΕΡΙ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΩΝ

Η χειρουργική μέθοδος που εφαρμόστηκε για την αντιμετώπιση του πτερυγίου στην παρούσα εργασία (ήδη λεπτομερώς περιγράφηκε νωρίτερα), είχε ως αποτέλεσμα ίαση ενενηταενός (91) ασθενών (ποσοστό 91%), ενώ υποτροπίασαν εννέα (9) πτερύγια (ποσοστό 9%). Το ποσοστό αυτό υποτροπής συγκαταλέγεται ανάμεσα στα πολλά και ποικίλα ποσοστά αποτυχίας της χειρουργικής αποκατάστασης του πτερυγίου με αυτομόσχευμα επιπεφυκότα, που αναφέρονται στην διεθνή βιβλιογραφία (Serrano 1977, Vastine et al 1982, Herman et al 1983, Kenyon et al 1985, Lewallen 1989, Starck et al 1991, Figueiredo et al 1997, Tan 1999a, Tan 1999, Cris et al 2000, Dua & Azuara – Blanco 2000) και μάλιστα ανήκει σε κείνα που μπορούν να θεωρηθούν ικανοποιητικά.

Ενδεικτικά αξίζει να αναφερθεί ότι στην πιο πρόσφατη πολυκεντρική μελέτη (Ti et al 2000) για την ανάλυση της ποικιλοτήτας στο ποσοστό επιτυχίας της χειρουργικής αντιμετώπισης του πτερυγίου με αυτομόσχευμα επιπεφυκότα, η διαπίστωση ήταν μια «τεράστια» απόκλιση των ποσοστών επιτυχίας, από 5% έως 82%, και το αποτέλεσμα συνδέθηκε ιδιαίτερα με τον υποκειμενικό παράγοντα της ικανότητας και της εμπειρίας του εκάστοτε χειρουργού.

Στο παρόν πόνημα η εφαρμογή της επέμβασης έγινε από ένα και μόνο χειρουργό, ώστε να υπάρχει σταθερότητα και συνέπεια στο πρακτικό μέρος. Η δε μετεγχειρητική παρακολούθηση των ασθενών (μέσος όρος: 2.5 έτη) είναι από τις μακρύτερες που αναφέρονται στην διεθνή βιβλιογραφία. Θεωρούμε ότι οι δύο αυτοί παράγοντες συμβάλλουν θετικά στην τελική εκτίμηση και αξιολόγηση της χειρουργικής τεχνικής. Υπό το πρίσμα της ήδη υπάρχουσας εμπειρίας στην χειρουργική του πτερυγίου, όπως σε στιγμιότυπο παρουσιάστηκε ανάγλυφα και στην προηγούμενη αναφορά, το αποτέλεσμα της παρούσας εργασίας θεωρείται αρκούντως ικανοποιητικό, ώστε να νομιμοποιεί την εφαρμογή της χειρουργικής μεθόδου που περιγράφηκε.

Από τα έντεκα (11) υποτροπιάζοντα πτερύγια που χειρουργήθηκαν υποτροπίασαν εκ νέου τα δύο (2), δηλαδή το ποσοστό υποτροπής ήταν 18%. Το ποσοστό είναι από τα καλύτερα που αναφέρονται στην διεθνή βιβλιογραφία, στην αντιμετώπιση των υποτροπιάζόντων πτερυγίων, (Serano 1977, Kenyon et al 1985, Starck et al 1991, Rao et al 1998, Talu et al 1998, Forbes et al 1998, Multu et al 1998, Cris et al 2000) λαμβανομένου μάλιστα υπόψη και του χρόνου παρακολούθησης. Αξίζει να αναφερθεί πάντως ότι και οι δύο υποτροπές προέκυψαν κατά το δεύτερο εξάμηνο παρακολούθησης μετά την επέμβαση (Πίνακας II). Αν η παρατήρηση αυτή συνδυαστεί και με το ότι επτά (7) από τις εννέα (9) υποτροπές γενικά, προέκυψαν το πρώτο έτος μετά από την χειρουργική αφαίρεση του πτερυγίου και μόνο δύο το δεύτερο έτος μετά την επέμβαση, φαίνεται να συνηγορεί με την άποψη που



επανειλημμένα έχει έως σήμερα διατυπωθεί στην διεθνή βιβλιογραφία. Δηλαδή το κρίσιμο για υποτροπή διάστημα φαίνεται να είναι το πρώτο μετεγχειρητικά έτος. (Πίνακας II)

Η αναλογία σε ότι αφορά το φύλο των ασθενών που υποτροπίασαν δεν υποδεικνύει διαφορά συμπεριφοράς μεταξύ ανδρών και γυναικών, καθώς υποτροπίασαν τέσσερις (4) γυναίκες και πέντε (5) άνδρες.

Η μέση ηλικία των υποτροπών στο πρώτο τρίμηνο ήταν τριάντα εννέα (39) έτη, στο πρώτο εξάμηνο πενήντα επτά περίπου (57.4) έτη ενώ στο δεύτερο έτος εξήντα πέντε (65) έτη. (Πίνακας II). Συνολικά η μέση ηλικία υποτροπής ήταν περίπου πενήντα εννέα (59.1) έτη, ηλικία δηλαδή που προσεγγίζει την μέση ηλικία των χειρουργηθέντων. Προκύπτει επομένως το συμπέρασμα ότι η υποτροπή αφορά όλες τις ηλικίες. Όμως οι υποτροπές που εμφανίζονται νωρίτερα φαίνονται να αφορούν μάλλον νεότερα άτομα.

Το οικογενειακό ιστορικό τεσσάρων (5) εκ των εννέα (9) ασθενών που εμφάνισαν υποτροπή (ποσοστό δηλαδή 55.5%), ήταν θετικό, γεγονός που συμφωνεί με τα ως σήμερα γνωστά για την οικογενή προδιάθεση του πτερυγίου.

Παρουσία διπλού πτερυγίου στον έτερο οφθαλμό υπήρχε σε έναν μόνο ασθενή, ενώ πτερύγιο και στον άλλο οφθαλμό είχε ποσοστό 55% των ασθενών (5 άτομα) που εμφάνισαν υποτροπή. Το ποσοστό αυτό προσεγγίζει το ποσοστό επίπτωσης αμφοτερόπλευρου πτερυγίου (62%) του συνόλου των χειρουργηθέντων ασθενών και υποδεικνύει ότι η συνύπαρξη πτερυγίου στον έτερο οφθαλμό δεν αποτελεί παράγοντα που θα έπρεπε να λαμβάνεται υπόψη από τον θεράποντα ιατρό, στον σχεδιασμό μιας αφαίρεσης πτερυγίου ή στην πρόβλεψή του για την πορεία του χειρουργηθέντος οφθαλμού.

Με ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρατηρείται ότι όλοι οι ασθενείς που παρουσίασαν υποτροπή, ήταν άνθρωποι που ζούσαν και εργαζόνταν στην ύπαιθρο, εκτεθειμένοι στην ηλιακή ακτινοβολία, ενώ ο ασθενής που παρουσίασε την πρώτη χρονικά υποτροπή, εργαζόνταν επιπλέον σε περιβάλλον επιβαρημένο με σκόνες (μαρμαράς). Οι παρατηρήσεις αυτές συμφωνούν με την μέχρι τώρα αντίληψη για την επιβαρυντική δράση, τόσο της υπεριώδους ακτινοβολίας όσο και του ρυπογόνου περιβάλλοντος. (Elliot 1966, Cilova – Atanasova 1971, Orde – Rechor 1972, Moran 1984, Kwork 1994, Taylor 1995, Corso – Alvarez 1997, Threffal 1999, Sliney 1999, Tenkate 1999, Sasaki et al 1999, Tang et al 1999, Saw & Tan 1999, Coroneo et al 1999, McCarty et al 2000, Saw et al 2000).

Σε ότι αφορά τον τύπο των πτερυγίων που υποτροπίασαν, υπερτερούν τα «μικτά» (4) και τα «αγγειώδη» (3), έναντι των «ινωδών» (2). Φαίνεται δηλαδή ότι υποτροπίασαν περισσότερο πτερύγια με μεγαλύτερη αγγειοβρίθια.

Από την στατιστική επεξεργασία των επί μέρους δεδομένων προέκυψαν ενδιαφέροντα συμπεράσματα που παραθέτουμε στις επόμενες παραγράφους.

Από τα 100 ασθενείς που χειρουργήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας για αφαίρεση πτερυγίου οι 38 (ποσοστό 38%) ανέφεραν θετικό οικογενειακό ιστορικό, γεγονός που είναι σύμφωνο με τα όσα είναι γνωστά ως σήμερα για την οικογενή προδιάθεση του πτερυγίου. Το οικογενειακό ιστορικό όμως, επιπλέον παρουσίασε θετική συσχέτιση ($P=0.02$) με την παρουσία πτερυγίου και στους δύο οφθαλμούς. Δηλαδή άτομα που έχουν θετικό οικογενειακό ιστορικό για πτερύγιο φαίνεται όχι απλώς να έχουν προδιάθεση για εμφάνιση πτερυγίου, αλλά και εμφάνιση πτερυγίου αμφοτερόπλευρα.

Σε ότι αφορά τον τύπο του πτερυγίου, διαπιστώθηκε ότι υπάρχει θετική συσχέτιση ($P=0.04$) με την ηλικία. Έτσι ο «ινώδης» τύπος πτερυγίου εμφανίζεται περισσότερο σε μεγαλύτερες ηλικίες, καθώς ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών με

ινώδες πτερύγιο ήταν 61.5 έτη. Ο «αγγειώδης» τύπος πτερυγίου εμφανίζεται σε μικρότερες ηλικίες και ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών μας με αγγειώδες πτερύγιο ήταν 58.4 έτη. Τέλος ο «μικτός» τύπος πτερυγίου φαίνεται να αφορά νεώτερα άτομα. Ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών με μικτό πτερύγιο ήταν 42.5 έτη.

Τα πτερύγια κατετάγησαν κλινικά σε τρεις ομάδες ανάλογα με την «ηλικία» της βλάβης. Στην πρώτη ομάδα εντάχθηκαν τα πτερύγια που χρονολογούνταν έως τρία έτη. Στην δεύτερη ομάδα εντάχθηκαν τα «ηλικίας» από τριών έως δέκα ετών και στην τρίτη ομάδα τα παλαιότερα των δέκα ετών. Από την μελέτη που έγινε δεν προέκυψε στατιστικώς σημαντική διαφορά ως προς την έκφραση HLA-DR αντιγόνου ανάμεσα στις τρεις ομάδες. Το ίδιο προέκυψε και για την έκφραση της Μεταλλοθειονίνης.

Γενικότερα σε ότι αφορά την έκφραση της Μεταλλοθειονίνης, δεν διαπιστώσαμε καμία στατιστικώς σημαντική συσχέτιση με κλινικές παραμέτρους. Η Μεταλλοθειονίνη δηλαδή, φαίνεται να είναι παράγων που εκφράζεται με έναν σχετικά σταθερό τρόπο, ανεξάρτητα από την εκάστοτε διαφορετικότητα των επιμέρους κλινικών παραγόντων, πιθανώς υπακούοντας σε αρχέγονους κανόνες των «εμβίων» όντων.

Η έκφραση HLA-DR αντιγόνου δεν συσχετίστηκε στατιστικώς σημαντικά με κλινικές παραμέτρους όπως η ηλικία του ασθενούς, φύλο, οικογενειακό ιστορικό, έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία και υποτροπή, γεγονός που εκτενέστερα σχολιάζουμε παρακάτω.

Παρατηρώντας τα ανοσοϊστοχημικά ευρήματα που αφορούν τα περιστατικά που τελικά υποτροπίασαν διαπιστώνουμε ότι ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η έκφραση των δεικτών πολλαπλασιασμού (PCNA, Ki67). Έτσι διακρίνεται ότι στα περιστατικά που πρώτα χρονικά υποτροπίασαν είναι χαμηλή η έκφραση των δεικτών πολλαπλασιασμού, ενώ μεγαλύτερη παρουσιάζεται σε αυτά που υποτροπιάζουν αργότερα, δηλαδή μετά το πρώτο εξάμηνο. Από την άλλη πλευρά, οι δείκτες φλεγμονής (CD8, CD4, S100, CD68) είναι αρκούντως αυξημένοι σε όλα τα περιστατικά και μάλιστα υπάρχει μια αξιοσημείωτη αύξηση του δείκτη CD8 στην πρώτη υποτροπή. (Πίνακας III). Στην περίπτωση αυτή η επίδραση εξωγενών ρυπογόνων παραγόντων ήταν έντονη καθώς ο ασθενής εργαζόταν σχεδόν αμέσως μετά την επέμβαση στην ύπαιθρο σε περιβάλλον με μαρμαρόσκονη. Ο αυξημένος αριθμός CD8 λεμφοκυττάρων ήταν αναμενόμενος καθώς αυτά συνδέονται με ανοσία έναντι εξωγενών παραγόντων. (Roit 1988, Joachim – Velogianni 1995).

Οι διαπιστώσεις αυτές δείχνουν ότι οι υποτροπές που εμφανίστηκαν νωρίτερα δεν παρουσιάζουν τόσο μιτωτική δραστηριότητα αλλά μάλλον φλεγμονώδη. Η ισορροπία αυτή φαίνεται να αλλάζει σταδιακά προς ενίσχυση της μιτωτικής διαδικασίας, όσο αργότερα εμφανίζεται η υποτροπή. Η διαπίστωση αυτή είναι σύμφωνη με προηγούμενα ιστολογικά δεδομένα σε παρελθούσες μελέτες, όπου υποστηρίζεται ότι τα υποτροπιάζοντα πτερύγια αποτελούνται κατά βάση από αντιδραστικό ιστό και διαφέρουν επομένως από τα πρωτοπαθή.

Στον πίνακα III φαίνεται ότι σε όλους ανεξαιρέτως τους ασθενείς που εμφάνισαν υποτροπή ανιχνεύεται έκφραση HLA-DR αντιγόνου στο επιθήλιο του επιπεφυκότα που καλύπτει το πτερύγιο τους. Όμως, το ποσοστό ανίχνευσης HLA-DR δεν είναι ούτε ανάλογο του χρόνου υποτροπής, ούτε της ηλικίας. Έτσι πχ. στον νεαρό άνδρα (39 ετών) που παρουσίασε υποτροπή στο πρώτο τρίμηνο μετά την επέμβαση, η έκφραση HLA-DR που ανευρίσκεται είναι 2%, ενώ στην ογδοντάχρονη ασθενή που παρουσίασε υποτροπή στο δεύτερο εξάμηνο η έκφραση HLA-DR που ανευρίσκεται είναι 10% και στον εβδομηνταπεντάχρονο που παρουσίασε υποτροπή στο δεύτερο έτος ήταν 40%! Οι παρατηρήσεις αυτές επιβεβαιώνονται από την στατιστική επεξεργασία του συνόλου των δεδομένων, όπου διαπιστώθηκε ότι η έκφραση HLA-



DR δεν παρουσιάζει στατιστικώς σημαντική συσχέτιση με την υποτροπή ή την ηλικία! Από την άλλη πλευρά όλα τα περιστατικά που υποτροπίασαν παρουσιάζουν άλλοτε άλλη έκφραση HLA-DR. Η ανομοιογένεια όμως της έκφρασης αυτής και η έλλειψη συνεπών συσχέτισης με επιμέρους κλινικούς δείκτες αποτελεί αντικείμενο σκέψης και προβληματισμού.

Η «ακατάλληλη» έκφραση του HLA-DR αντιγόνου στα επιθηλιακά κύτταρα του πτερυγίου, που διαπιστώσαμε στην παρούσα μελέτη αποδεικνύει ότι τοπικοί αυτοάνοσοι μηχανισμοί ενεργοποιούνται στο πτερύγιο και συμπορεύονται με την αυξητική του δραστηριότητα. Η παρουσία των διάφορων ανοσοκυτταρικών υποπληθυσμών συνηγορεί στο παραπάνω συμπέρασμα. Φαίνεται μάλιστα ότι η έκφραση HLA-DR και τα διάφορα ανοσοκύτταρα να αλληλοενισχύονται σε σχέση αμοιβαίας εξάρτησης με την βοήθεια ουσιών διαμεσολαβητών.

Η ετερογένεια απ' την άλλη πλευρά στην έκφραση του HLA-DR αντιγόνου, που διαπιστώσαμε στο σύνολο των περιστατικών και που φαίνεται πιο ανάγλυφα στα περιστατικά που υποτροπίασαν, μπορεί να εξηγηθεί ποικιλοτρόπως.

Το μικρό μέγεθος της βλάβης αποτελεί ένα τεχνικό πρόβλημα. Ήδη περιγράφηκε και φάνηκε και από το φωτογραφικό υλικό, ότι η έκφραση HLA-DR αντιγόνου αφορά το επιθήλιο κατά τόπους και μάλιστα εκεί που υπάρχει η μεγάλη αυξητική δραστηριότητα, δηλαδή στην «κεφαλή». Κατά την διάρκεια της προετοιμασίας λοιπόν και της κατάτμησης των ιστοτεμαχίων, είναι πιθανή η απώλεια επίμαχων τμημάτων, γεγονός αναπόφευκτο λόγω των τεχνικών εργαστηριακών τεχνικών. Επίσης σε αρκετές περιπτώσεις, πολλές τομές του ιδίου περιστατικού αναγκαστικά χρειάστηκε να εξαιρεθούν από την μικροσκοπική εξέταση, λόγω τεχνικών προβλημάτων των χρώσεων που εφαρμόστηκαν. Έτσι τα αναπόφευκτα τεχνικά κολλήματα μιας τέτοιας εργαστηριακής μελέτης μπορεί να μας στέρησαν επίμαχα τμήματα κάποιων ιστοτεμαχίων, που θα τροποποιούσαν μερικώς ποσοτικά και ποιοτικά τα αποτελέσματά μας.

Από την άλλη πλευρά, αρκεί κανείς να εξετάσει συνολικά την προβληματική της παθογένειας του πτερυγίου για να καταλήξει με βεβαιότητα στην «ποικιλότητα» της βλάβης σε κάθε έκφασή της.

Η γονιδιακή επιβάρυνση, συμβατή με την κληρονομικότητα και την οικογενή προδιάθεση της νόσου, έχει ήδη ερευνητικά επικυρωθεί σε παρελθούσες μελέτες. (Hilgers 1960, Qi 1966, Elliot 1996, Chang 1987, Detorakis et al 1998, Sasaki et al 1999, Saw & Tan 1999). Αυτή είναι ικανή να δημιουργήσει «αυτοάνοση» τάση και απάντηση, δηλαδή έκφραση HLA-DR αντιγόνου.

Οι εξωγενείς αιτιολογικοί παράγοντες με την σειρά τους έχουν και αυτοί επιβεβαιωθεί με πλήθος ερευνητικών μελετών. (Elliot 1966, Cilova – Atanasova 1971, Orde – Reckar 1972, Moran 1984, Kwork 1994, Taylor 1995, Corso – Alvarez 1997, Threffal 1999, Sliney 1999, Tenkate 1999, Sasaki et al 1999, Tang et al 1999, Saw & Tan 1999, Coroneo et al 1999, McCarty et al 2000, Saw et al 2000). Έτσι, η ηλιακή ακτινοβολία, οι ιοί και οι όποιοι περιβαλλοντικοί χρόνιοι ερεθιστικοί παράγοντες είναι ικανοί να αλλάξουν την μοριακή δομή και το αντιγονικό προφίλ στην επίμαχη περιοχή, ενεργοποιώντας τον ανοσολογικό μηχανισμό και οδηγώντας σε αυτοάνοση δράση, δηλαδή στην έκφραση HLA-DR αντιγόνου.

Φαίνεται έτσι καθαρά ότι υπάρχει πολυπλοκότητα και πληθώρα παραγόντων στην αιτιοπαθογένεια του πτερυγίου, που σε συνδυασμό και με τις ιδιαίτερες συνθήκες της ιδιοσυγκρασίας κάθε οργανισμού (ηλικία, φύλο, κατάσταση ανοσοποιητικού συστήματος κλπ.), οδηγούν πολυβηματικά στην εκδήλωση του πτερυγίου. Η σημασία της «ιδιοσυγκρασίας» και η «εξατομίκευση» είναι σαφείς, αν σκεφτεί κανείς και μόνο το γεγονός ότι άνθρωποι κάτω από τις ίδιες ακριβώς

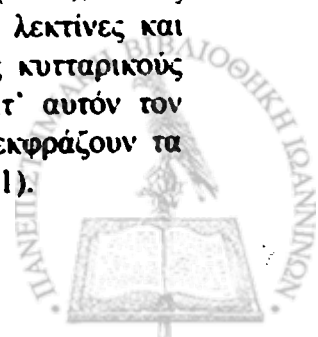
Είναι λοιπόν απόλυτα δικαιολογημένο κάτω από αυτές τις συνθήκες, η ποικιλία των παραγόντων του πρώτου επιπέδου να οδηγεί σε διαφορετικότητα και στο δεύτερο επίπεδο, εκείνο δηλαδή της έκφρασης HLA-DR. Και αυτή η έκφραση με την σειρά της έχει άλλοτε άλλη εξέλιξη ανάλογα με τις ιδιαιτερότητες του κάθε οργανισμού και κυρίως ανάλογα με την ανοσολογική του «ταυτότητα», που ως γνωστόν εξατομικεύεται. Υπό αυτήν την έννοια είναι απόλυτα δικαιολογημένη και αναμενόμενη η ποικιλότητα και η ετερογένεια στην έκφραση HLA-DR αντιγόνου που παρατηρήθηκε στην παρούσα μελέτη! Επιπλέον δε είναι ανώφελο να αναζητεί κανείς «ευθείες» συσχετίσεις της έκφρασης HLA-DR με κάθε έναν παράγοντα ξέχωρα (πχ. ηλικία, φύλο κλπ.) εφόσον φαίνεται ότι η «βιολογική συνάρτηση» που αφορά την έκφραση HLA-DR και το πτερύγιο γενικότερα, δεν είναι ούτε ολίγων μεταβλητών, ούτε εξασφαλίζει απλές «γραμμικές» σχέσεις! Άλλωστε είναι ξεκάθαρο πλέον ότι εφόσον συνδιάζονται παράγοντες όπως η γονιδιακή επιβάρυνση, οι αστάθμητοι εξωγενείς παράγοντες και τέλος το ανοσοποιητικό σύστημα, το ζήτημα καθίσταται ήδη πολύπλοκο ως προς την λεπτομερή ανάλυσή του και κάθε προσπάθεια απλοποίησης των μηχανισμών ενέχει σαφώς τον κίνδυνο λάθους.

Πάντως η ύπαρξη έκφρασης HLA-DR στην πλειοψηφία των περιστατικών και βεβαίως σε όλες τις υποτροπές δηλώνει ότι η παρουσία του είναι ενοχοποιητική για την νόσο αλλά και την βαρύτητά της και δίνει πλέον άλλη διάσταση στο ανοσολογικό «προφίλ» της βλάβης. Έτσι η έκφραση HLA-DR καθίσταται «επίσημη» παράμετρος του προβλήματος: «πτερύγιο»!

Το πτερύγιο σήμερα έχει πάρει νέες προεκτάσεις ως νόσημα. (Tan et al 1997b). Δεν είναι πλέον μια απλή εκφυλιστική βλάβη. Ίσως πρόκειται για γονιδιακή νόσο ή για «νεοπλασία» από ακτινοβολία ή από επίδραση ιών, όπως υποδεικνύουν τα νεώτερα δεδομένα της βιβλιογραφίας. (Tan et al 1997b, Dushku et al 1999, Detorakis et al 2000). Από την παρούσα μελέτη πάντως διαπιστώνεται ότι τελικά εκδηλώνεται ως εξεργασία με «τοπική αυτοάνοση» δραστηριοποίηση, με συμμετοχή δηλαδή του ανοσοποιητικού συστήματος και όχι σε απλό επίπεδο φλεγμονής όπως πιστεύαμε παλαιότερα. Είτε υπάρχει γονιδιακή επιβάρυνση, είτε τοπικό έναυσμα, είτε τα προηγούμενα λειτουργούν σε συνδυασμό και συνεργούν και αθροίζονται έχοντας άλλοτε άλλα μεγέθη και βαθμό συμμετοχής, συγκλίνουν στην ενεργοποίηση των ανοσολογικών μηχανισμών και τελικά στην εκδήλωση του πτερυγίου.

ΠΕΡΙ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΩΝ ΕΥΡΗΜΑΤΩΝ

Είναι γνωστό ότι τα MIC αντιγόνα (Σύστημα Μεγίστης Ισοσυμβατότητας) δεν έχουν την ίδια κατανομή σε όλα τα σωματικά κύτταρα (Μουτσόπουλος 1984). Τα τάξεως I γονίδια εκφράζονται φυσιολογικά σε όλα τα εμπύρνηνα κύτταρα, ενώ τα τάξεως II (HLA-DR, HLA-DQ) περιορίζονται στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (Antigen Presenting Cells ή APC) πχ. ώριμα Β λεμφοκύτταρα, ενεργοποιημένα Τ λεμφοκύτταρα, αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα και δενδριτικά κύτταρα, όπως τα κύτταρα Langerhans και τα ενεργοποιημένα μακροφάγα. Τα σωματικά κύτταρα, εξαιρουμένων των προαναφερθέντων, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, δεν εκφράζουν τα τάξεως II MHC μόρια (Μουτσόπουλος 1984). Όμως οι κυτοκίνες, όπως η Ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) και ο Παράγων Νέκρωσης των Υγκων (TNF), καθώς και ουσίες διαμεσολαβητές όπως η προσταγλανδίνη E₂, αλλά και οι λεκτίνες και ορμόνες, επάγουν την έκφραση των παραπάνω μορίων, σε κάποιους κυτταρικούς τύπους (πχ. κερατινοκύτταρα, θυρεοειδικό επιθήλιο, ενδοθήλια). Κατ' αυτόν τον τρόπο επιτρέπουν στους προαναφερόμενους κυτταρικούς τύπους να εκφράζουν τα γονίδια αυτά (Todd et al 1985, Mechtersheimer et al 1990, Fais et al 1991).



Ο πιο ισχυρός δυνητικός επαγωγέας των HLA-DR αντιγόνων σε κύτταρα είναι η IFN- γ , που κατά κόρον παράγεται από τα ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα (Todd et al 1985, Mechtersheimer et al 1990, Fais et al 1991). Σε άλλες καταστάσεις ασθένειας η επιθηλιακή έκφραση του HLA-DR αντιγόνου έχει βρεθεί *in vivo* να εξαρτάται από την ενεργοποίηση του τοπικού ανοσοποιητικού συστήματος και τον σχηματισμό-αυτόλογων T κυτταρικών κλώνων. Υπάρχουν πλέον αποδείξεις ότι η αυξημένη έκφραση του HLA-DR αντιγόνου στα επιθηλιακά κύτταρα είναι χαρακτηριστικό φλεγμονωδών αντιδράσεων, όπου παρεμβαίνει το ανοσοποιητικό σύστημα. Στην ασθένεια αλλά και στην υγεία, αυτή η έκφραση παίζει πρωταρχικό ρόλο στην ανοσολογική ομοιοστάση διαφορετικών οργάνων και ιστών.

Η επαγωγή της «ακατάλληλης» έκφρασης των τάξεως II MHC αντιγόνων, ίσως συμβάλλει στην παθογένεια αυτοάνοσων νοσημάτων και στην παρατεταμένη φλεγμονή (Roit 1988).

Επιπλέον η σύνδεση ανάμεσα σε αυτοάνοσα νοσήματα και σε συγκεκριμένους MHC τύπους, πιθανώς συσχετίζεται με τον ρόλο που παίζουν τα MHC μόρια στην παρουσίαση των αντιγόνων στα T λεμφοκύτταρα, τα οποία είναι ο βασικός άξονας για την ανάπτυξη αυτοάνοσης αντίδρασης και κατά συνέπεια αυτοάνοσης ασθένειας (Fais et al 1991).

Πρόσφατα καταδείχθηκε έκτοπη έκφραση HLA-DR αντιγόνου στα επιθηλιακά κύτταρα οργάνων που ενέχονται σε αυτοάνοσες διαδικασίες, όπως στους σιελογόνους αδένες στο σύνδρομο Sjogren (Lindahl et al 1985, Moutsopoulos et al 1985), στα θυρεοειδή θυλάκια στις νόσους Graves και Hashimoto (Hanafusa et al 1983, Ailinger et al 1985), στον χοληδόχο πόρο στην πρωτοπαθή χολική κίρρωση (Ballardini et al 1984), στον γαστρικό βλεννογόνο στον τύπο B της χρόνιας γαστρίτιδας (Papadimitriou et al 1988), στην ουροδόχο κύστη στο μεταβατικό καρκίνωμα της κύστεως (Ioachim et al 1994). Επομένως συμπεραίνεται ότι στο ανθρώπινο επιθήλιο, η έκφραση των HLA-DR αντιγόνων συσχετίζεται με την κατάσταση ενεργοποίησης των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων και δηλώνεται με έμφαση ο ρόλος του HLA-DR αντιγόνου στην παρουσίαση ειδικών αντιγόνων των οργάνων και στην πυροδότηση, όσο και στην συντήρηση αυτοάνοσων αντιδράσεων (Malmnas - Tjerlund 1980, Morhenn et al 1982, Bottazo et al 1983).

Ο λειτουργικός ρόλος των HLA-DR αντιγόνων είναι να διαμεσολαβούν στην επικοινωνία ανάμεσα στα κύτταρα του ανοσοποιητικού (Roit 1988). Πιο συγκεκριμένα τα επιθηλιακά κύτταρα που εκφράζουν HLA-DR αντιγόνα, έχουν λόγω αυτής της έκφρασης μετατραπεί σε αντιγονοπαρουσιαστικά. Έτσι αλληλεπιδρούν με τα T λεμφοκύτταρα ως στόχοι. Τα ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα μπορούν *in vivo* να συνθέτουν Ιντερφερόνη- γ (Breathnach & Katz 1983). Επίσης τα ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα αναμιγνύονται στην ρύθμιση της έκφρασης HLA-DR στα κύτταρα. Με την σειρά τους τα θετικά HLA-DR επιθηλιακά κύτταρα, ίσως λειτουργούν ως κλασσικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, ενεργοποιώντας τοπικά τα λεμφοκύτταρα και επάγοντας ειδικούς T κυτταρικούς κλώνους.

Συμπερασματικά, το επιθήλιο συμμετέχει ενεργά, ως γενεσιουργός παράγοντας στην τοπική ανοσοποιητική απάντηση (Malmnas - Tjerlund 1980, Morhenn et al 1982, Bottazo et al 1983, Hanafusa et al 1985, Moutsopoulos et al 1985, Papadimitriou et al 1988, Joachim et al 1994)!

Οι ανωτέρω διαπιστώσεις φαίνονται να βρίσκονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, όπου τα HLA-DR θετικά επιθηλιακά κύτταρα του περυγίου συνδιάζονται με σημαντικά αυξημένο αριθμό T λεμφοκυττάρων, αλλά επίσης και με υψηλή πυκνότητα μακροφάγων και κυττάρων Langerhans', ενώ τίποτα



από τα παραπάνω δεν παρατηρήθηκε τόσο στον φυσιολογικό επιπεφυκότα όσο και στο στεάτιο.

Τα κύτταρα Langerhans' είναι δεντριτικά μονοπύρρηνα κύτταρα τα οποία εγκαθίστανται στα λεμφοειδή όργανα (Roit 1988). Αυτά, όπως και τα μακροφάγα είναι ικανά να παρουσιάζουν αντιγόνα και να αναπτύσσουν δυνητικά κυτταρική συνεργική δράση στην ανοσοαντίδραση. Η εκτεταμένη παρουσία τους στο πτερύγιο υποδηλεί ότι πιθανώς «παρουσιάζουν» αντιγόνα στα T λεμφοκύτταρα, όντας κατά συνέπεια άμεσα αναμειγμένα στην ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων. Τα ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα ως γνωστόν, παράγουν ανοσοενεργές ουσίες-μεσολαβητές (κυτοκίνες), μεταξύ των οποίων και τον ισχυρό επαγωγέα Ιντερφερόνη-γ (Μουτσόπουλος 1984, Roit 1988).

Από την άλλη πλευρά, η έκφραση HLA-DR αντιγόνου παρατηρήθηκε στην πλειοψηφία των πτερυγίων, κυρίως σε περιοχές των ιστών, όπου υπήρχαν άφθονα CD4 λεμφοκύτταρα κάτω από το επιθήλιο. Τα CD4 λεμφοκύτταρα μπορούν να επάγουν όπως προειπώθηκε, την έκφραση του HLA-DR αντιγόνου δια της παραγωγής λεμφοκινών, όπως η Ιντερφερόνη-γ, υποκινώντας και ενισχύοντας ταυτόχρονα τις τοπικές αυτοάνοσες διαδικασίες. Άλλωστε σε πλήθος προηγούμενων μελετών τα CD4 λεμφοκύτταρα έχουν συσχετιστεί με αυτοανοσία σε συνδυασμό με την «παράδοση» έκφραση των HLA-DR γονιδίων σε διάφορους ιστούς (Morhenn et al 1982, Bottazo et al 1983, Ballardini et al 1984, Papadimitriou et al 1988, Joachim et al 1994, Joachim – Velogianni et al 1995).

Ετσι προκύπτει ο κυριότερος μηχανισμός που υποδηλώνεται από τα αποτελέσματά μας, που περιγράφεται ως εξής: τα επιθηλιακά κύτταρα του πτερυγίου, εκφράζοντας τα HLA-DR αντιγόνα λόγω επαγωγών, όπως η Ιντερφερόνη-γ που παράγεται από τα ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα, μετατρέπονται τα ίδια σε αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και με την σειρά τους αλληλεπιδρούν με τα T λεμφοκύτταρα ως στόχοι. Δηλαδή τα θετικά HLA-DR επιθηλιακά κύτταρα δυνητικά λειτουργούν ως κλασσικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, ενεργοποιώντας τοπικά τα λεμφοκύτταρα και επάγοντας ειδικούς T κυτταρικούς κλώνους. Συμπερασματικά το ίδιο το επιθήλιο ενεργά συμμετέχει στην τοπική ανοσοποιητική απάντηση!

Καθώς οι νέες πληροφορίες, όπως ήδη έχουν αναφερθεί πιο πάνω, έρχονται στο φως, ο ρόλος του ανοσοπαθογενετικού μηχανισμού για την παθογένεση του πτερυγίου διαφαίνεται καθοριστικός (Ratnacar et al 1976, Pinkerton et al 1984, Soloman 1985, Joachim – Velogianni et al 1995, Nakagami et al 1998, Nakagami et al 1999). Παράλληλα όμως ανακύπτει ένα άλυτο αίνιγμα όσον αφορά την «ακατάλληλη» έκφραση των MIC II γονιδίων.

Η «ακατάλληλη» έκφραση των τάξεως II MIC γονιδίων είναι το αποτέλεσμα μιας προϋπάρχουσας τάσης αυτοανοσίας ή η αυτοανοσία είναι αποτέλεσμα κάποιου παράγοντα που προκαλεί την «ακατάλληλη» έκφραση των τάξεως II MIC μορίων ;

Η πρώτη περίπτωση βρίσκεται σε συμφωνία με τον οικογενή χαρακτήρα του πτερυγίου (Zhang 1987, Saw & Tan 1999, Mc Carty et al 2000), τα νέα δεδομένα για γονιδιακή επιβάρυνση (Detorakis et al 2000, Ian et al 2000) και με το γεγονός ότι άνθρωποι ανάλογης απασχόλησης και περιβαλλοντικής επιβάρυνσης δεν αναπτύσσουν όλοι πτερύγιο (Sasaki et al 1999, Tang et al 1999, Coroueo et al 1999). Η δεύτερη εκδοχή συνηγείται με την παλιότερη υπόθεση ότι η χρόνια ερεθιστική επιπεφυκίτις, οι μικροτραυματισμοί, η υπεριώδης ακτινοβολία και γενικά οι περιβαλλοντικοί παράγοντες ή ακόμη και κάποιοι ιοί, ίσως παίζουν καθοριστικό ρόλο στην παθογένεση του πτερυγίου (Elliott 1966, Qi 1966, Cilova – Atanasova 1971, Orde – Peckar 1972, Wong 1978, Detorakis et al 2000). Επιπλέον σ' αυτή την τελευταία περίπτωση, η έκφραση των τάξεως II MHC γονιδίων θα ήταν ικανή να

συμβάλλει στην συντήρηση της παθογενετικής διαδικασίας. Η εκτίμησή μας, όπως αναλύεται παρακάτω, είναι ότι η «αλήθεια» βρίσκεται κάπου ενδιάμεσα, με όλους τους παράγοντες να συνεργούν στην εκδήλωση της τοπικής αυτοανοσίας, ως παθογενετικού μηχανισμού του πτερυγίου, σαν ένα παζλ, όπου κάθε κομμάτι παίζει τον ρόλο του! (Σχήμα 6)

Ένα επιπλέον ερώτημα που τίθεται, είναι αν η αυτοάνοση διαδικασία απευθύνεται σε συγκεκριμένα αυτοαντιγόνα που ενώ είναι «φυσιολογικής» δομής αναγνωρίζονται από λάθος ως ξένα και εχθρικά ή τροποποιημένα δομικά αντιγόνα που θεωρούνται δικαιολογημένα ως ξένα.

Στην πρώτη περίπτωση μπορεί να παίζει τον ρόλο της η γονιδιακή προδιάθεση του ατόμου, με την έλλειψη ετεροζυγωτίας (Loss of heterozygosity ή LOH) (Detorakis et al 2000) που πρόσφατα επιβεβαιώθηκε στο πτερύγιο, δίνοντας νέες διαστάσεις στον γονιδιακό χαρακτήρα και στην κληρονομικότητα της νόσου.

Στην δεύτερη περίπτωση ταιριάζουν απόλυτα τα νεώτερα δεδομένα για την δράση της υπεριώδους ακτινοβολίας (Moran & Hollows 1984, Kwork et al 1994, Threffal 1999, Tang et al 1999, Saw & Tan 1999, Maccarty et al 2000, Saw et al 2000), χρονίων ερεθιστικών παραγόντων (Cilova, – Atanasova 1971, Orde – Peckar 1972, Coroneo et al 1999) και των ιών (Detorakis et al 2000). Έτσι η επίδραση της UV ακτινοβολίας οδηγεί σε υπεροξειδωση των λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών, σε μεταλλάξεις του γενετικού υλικού και σε μετουσίωση των κυτταρικών πρωτεϊνών. Η τελευταία ειδικά δράση της αλλάζει όπως είναι φανερό την αντιγονική δομή και σύνθεση των κυττάρων, καθιστώντας τα μη αναγνωρίσιμα ως «οικεία» από το ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού. Αν οι βλάβες προχωρήσουν σε επίπεδο γενετικού υλικού (DNA) τότε σε πρώτη φάση ενεργοποιούνται αντινεοπλασματικοί ενδογενείς παράγοντες, όπως ο P53, ή η αμυντική φυσιολογική διαδικασία απόπτωσης. Και στις δύο περιπτώσεις η εμπλοκή και ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού μηχανισμού τοιουτοτρόπως, είναι αναπόφευκτη (Σχήμα 6).

Οι χρόνιοι ερεθιστικοί παράγοντες με την σειρά τους μπορούν να προκαλέσουν είτε δομικές μικροαλλαγές στην αντιγονική σύσταση, οπότε ενεργοποιούνται με τρόπους που προαναφέρθηκαν οι τοπικοί αυτοάνοσοι μηχανισμοί, είτε δραστηριοποιούν χρονίως το τοπικό ανοσοποιητικό μηχανισμό, ο οποίος κάποια στιγμή δια των ουσιών μεσολαβητών ενεργοποιεί με την σειρά του τις τοπικές αυτοάνοσες διεργασίες (Σχήμα 6).

Τέλος οι ιοί που μπορεί να προβάλλουν τον ιστό είναι επίσης ικανοί να προκαλέσουν αυτοανοσία, πιθανώς μέσω της απελευθέρωσης αντιγόνων, τα οποία φυσιολογικά αποκρύβονται από το ανοσοποιητικό σύστημα, ή επάγοντας την έκφραση αναπτυσσικών αντιγόνων ή, τέλος, διεγείροντας άμεσα τα αυτοαντιδραστικά λεμφοκύτταρα. Επίσης κάποιοι ιοί, όταν ενσωματωθούν στο DNA του γονιδιώματος του ξενιστή, μπορεί να οδηγήσουν στην έκφραση νέων αντιγόνων ιστοσυμβατότητας. Τα νεώτερα ερευνητικά δεδομένα επιβεβαιώνουν την παρουσία ογκοϊών, όπως ο ανθρώπινος ιός του θηλώματος (Human Papilloma Virus ή HPV) και ο ιός του συμπλέγματος του έρπητα (Herpes Simplex Virus ή HSV) στο πτερύγιο (Detorakis et al 2000), δίνοντας έτσι και μια άλλη διάσταση στην πιθανή νεοπλασματική φύση της νόσου. Γνωρίζοντας και την δυνητική συμβολή των ιών στην αυτοανοσία, όπως περιγράφηκε παραπάνω, αντιλαμβανόμαστε και από μια ακόμη οπτική γωνία την ενεργοποίηση των αυτοάνοσων μηχανισμών στο πτερύγιο.

Απ' την άλλη πλευρά τα CD8 λεμφοκύτταρα, επίσης παρόντα στο πτερύγιο, ειδικά στο επιθήλιο, είναι κατά πάσα πιθανότητα η απάντηση στην επίδραση ξеноαντιγόνων (αλλοαντιγόνα) από εξωτερικά περιβαλλοντικά (Fais et al 1991) ερεθίσματα (πχ. σκόνες, ατμοσφαιρικοί ρύποι, ιοί κλπ.)



Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα ανωτέρω, συμπεραίνουμε ότι οι αυτοάνοσες διαδικασίες, αλλά επίσης και εξωτερικά ερεθίσματα συνεργάζονται στην παθογένεια του πτερυγίου. (Σχήμα 6)

Επιπλέον οι μικρές διηθήσεις CD4 λεμφοκυττάρων εντός του επιθηλίου, ίσως, όπως ήδη είναι γνωστό στην ανοσολογία (Roit 1988), ασκούν επιπρόσθετο έλεγχο πάνω στις λειτουργίες των CD8 ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων. Έτσι, έμμεσα με την παραγωγή Ιντερφερόνης-γ, επάγουν κι αυτά με την σειρά τους την έκφραση HLA-DR αντιγόνου στα επιθηλιακά κύτταρα. Κατά τον τρόπο αυτό αύξηση και ενεργοποίηση των CD4 λεμφοκυττάρων εξαιτίας εξωτερικών ερεθιστικών παραγόντων, καταλήγει δια της οδού που περιγράφηκε, στην κινητοποίηση ή στην επιβολή των τοπικών αυτοάνοσων διεργασιών.

Γνωρίζοντας τις πολλαπλές αλληλεπιδράσεις των επιμέρους κυττάρων του ανοσοποιητικού, μέσω της πληθώρας των ουσιών-διαμεσολαβητών, μπορεί κανείς να αντιληφθεί ότι δεν μπορούν να οριστούν διαχωριστικές γραμμές στην δράση του κάθε παράγοντα. Καθίσταται ίσως έτσι αντιληπτό, πως κατά καιρούς τόσοι πολλοί παράγοντες ενδογενείς (γονίδια, κληρονομικότητας), αλλά και εξωγενείς (ηλιακή ακτινοβολία, ερεθιστικοί παράγοντες, ιοί) έχουν ενοχοποιηθεί για την παθογένεια του πτερυγίου, χωρίς κανείς τους να μπορεί να χαρακτηριστεί από αποκλειστικότητα και να δώσει την τελική λύση, η οποία ίσως είναι τελικά η πολύπλευρη συνέργεια στην τοπική αυτοανοσία (Σχήμα 6)!

Μια παρατήρηση που οφείλει να υπογραμμιστεί στην παρούσα μελέτη είναι η συνύπαρξη υψηλής έκφρασης HLA-DR αντιγόνου και των δύο δεικτών πολλαπλασιασμού PCNA και Ki67. Η θετική συσχέτιση των παραπάνω παραγόντων ήταν, όπως ήδη έχει αναφερθεί, λιαν στατιστικώς σημαντική. Επιπλέον δε, το γεγονός αυτό ήταν ιδιαίτερα εμφανές στις διπλές χρώσεις που πραγματοποιήθηκαν όπου διαπιστώθηκε ότι όχι απλώς στα ίδια ιστοτεμάχια αλλά στις ίδιες ακριβώς περιοχές του ίδιου ιστοτεμαχίου, υπήρχε αυξημένη έκφραση, τόσο του HLA-DR αντιγόνου, όσο και των δεικτών πολλαπλασιασμού. (Φωτ. 11, 12, 16). Με άλλα λόγια η πρόοδος της βλάβης (οι μιτωτικές διαδικασίες) είναι παράλληλη με την έκφραση του HLA-DR αντιγόνου. Αυτό το ενδιαφέρον εύρημα ενδυναμώνει την υπόθεση ότι η έκφραση HLA-DR ίσως παίζει έναν σημαντικό ρόλο όχι μόνο στην παθογένεια αλλά και στην εξέλιξη και αύξηση του πτερυγίου.

Θεωρούμε ότι δύο είναι οι πιθανές εξηγήσεις που θα μπορούσαν να δοθούν για την ποικιλία στην έκφραση του HLA-DR αντιγόνου στο πτερύγιο. Είτε η περιοχή αύξησης, δηλαδή η κεφαλή του πτερυγίου που επιπνέει στον κερατοειδή χάθηκε μερικώς κατά την διάρκεια της προετοιμασίας ή της κατάτμησης των ιστών (το μικρό μέγεθος της βλάβης αποτελεί σαφώς ένα πρακτικό πρόβλημα) ή σε κάποιες περιπτώσεις τα αυξητικά φαινόμενα του πολλαπλασιασμού υπερίσχυαν έναντι του ανοσοπαθογενετικού μηχανισμού. Επιπλέον όμως πρέπει να λάβουμε υπόψη ότι συζητούμε για γονιδιακή έκφραση και για δραστηριοποίηση του ανοσοποιητικού μηχανισμού, που έχει σαφώς ένα μοναδικό προφίλ και έναν ιδιαίτερο τρόπο έκφρασης, κυριολεκτικά, στο κάθε άτομο ξεχωριστά (Dennis W. Ross 1999). Ίσως λοιπόν θα πρέπει να αφήσει κανείς και ένα περιθώριο διαφορετικότητας και ιδιαιτερότητας έκφρασης, που αφορά την ιδιοσυγκρασία του κάθε οργανισμού ξεχωριστά και δεν μπορεί ή δεν πρέπει απαραίτητα να ερμηνευτεί ή να παραβλεφθεί συνολικά.

Από την παρούσα μελέτη πάντως καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι ένας ανοσοπαθογενετικός μηχανισμός λαμβάνει χώρα στην παθογένεια και στην ανάπτυξη του πτερυγίου. Ο μηχανισμός αυτός φαίνεται να βρίσκεται στο σημείο σύγκλισης μιας πολυβηματικής, πολυπαραγοντικής διαδικασίας. Ο δε συνδυασμός και η

συνέργεια όλων των επιμέρους παραγόντων, ίσως να είναι εκείνος, που σε τόσα χρόνια μελέτης και ερευνών, δεν έχει επιτρέψει έναν κάθετο, οριστικό, σαφή, καθορισμένο και αποκλειστικό προσδιορισμό ενός συγκεκριμένου, μοναδικού αιτιοπαθογενετικού μηχανισμού.

Η συλλογιστική που αναπτύξαμε με βάση την προϋπάρχουσα βιβλιογραφία σε συνδυασμό με τα ευρήματα της δικής μας μελέτης περιγράφεται σχηματικά σε συνοπτική μορφή στο σχήμα 6. Περαιτέρω έρευνα στο μέλλον ελπίζουμε να ρίξει οριστικά άπλετο φως στο ενδιαφέρον αίνιγμα της αιτιοπαθογένειας του πτερυγίου. Πιστεύουμε πάντως ότι η πληροφορία για την έκφραση του HLA-DR στο επιθήλιο του πτερυγίου, όπως προέκυψε στην παρούσα μελέτη, αποτελεί τουλάχιστον το άκρο του «μίτου της Αριάδνης».

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη που πραγματοποιήσαμε όμως προσέγγισε το θέμα του πτερυγίου και από μία άλλη οπτική γωνία, καθώς μελετήθηκε στο επιθήλιο του πτερυγίου και η έκφραση της πρωτεΐνης Μεταλλοθειονίνης.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί νωρίτερα, οι Μεταλλοθειονίνες είναι πρωτεΐνες με υψηλή χημική συγγένεια για τα μέταλλα, σημαντικές για τον μεταβολισμό κυρίως του ψευδαργύρου και του χαλκού στον άνθρωπο, αλλά και γενικότερα στο ζωικό βασίλειο (Fresno et al 1993, National Cancer Institute Workshop 1993, Zelger et al 1993, Woo & Lazo 1997). Η έκφραση της Μεταλλοθειονίνης επάγεται εύκολα και γρήγορα από ποικιλία παραγόντων του stress, μεταξύ των οποίων είναι όλες οι ουσίες διαμεσολαβητές, που προκύπτουν από τα ανοσοκύτταρα, όπως η Ιντερφερόνη-γ (Wood et al 1993, Sunardhi – Widayaputra et al 1995). Η τελευταία, όπως αναφέραμε προηγούμενα έχει μια πρωτεύουσα θέση και μια νευραλγική σημασία στον ανοσολογικό μηχανισμό του πτερυγίου, με τρόπους που ήδη αναπτύχθηκαν στις προηγούμενες παραγράφους.

Ταυτόχρονα όμως είναι γνωστός ο ρόλος της Μεταλλοθειονίνης ως μορίου «οδοκαθαριστή» (scavenger) του κυττάρου, που παίζει ρόλο κυτταροπροστατευτικού μηχανισμού από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (O_2) (Ofner – Hans Maier et al 1994). Οι τελευταίες μπορούν να παραχθούν ενδοκυττάρια εξαιτίας διαφόρων αιτιών, μεταξύ των οποίων πρωτεύουσα θέση έχει η επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας (Lieberman et al 1983, Thornalley & Vasac 1985, Hanada et al 1991, Hanada et al 1993, Chubatsu & Meneghini 1993, Anstey et al 1996).

Η μελέτη της Μεταλλοθειονίνης, που ως βιολογικό μόριο «ισορροπεί» αιτιολογικά ανάμεσα σε παράγοντες που θεωρούνται σαφώς ενοχοποιημένοι στην παθογένεια του πτερυγίου (ανοσολογικοί μηχανισμοί, φλεγμονή, υπεριώδης ακτινοβολία) παρουσιάζει εξ' ορισμού ενδιαφέρον και μας οδήγησε σε αναλόγως ενδιαφέρουσες διαπιστώσεις και προβληματισμούς.

Είναι γνωστό ότι η Μεταλλοθειονίνη, υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν εκφράζεται στους ιστούς σε ποσότητες ανιχνεύσιμες ανοσοϊστοχημικά, εκτός από λίγους ειδικούς κυτταρικούς τύπους, όπως τα μυοεπιθηλιακά, τα νεφρικά και τα θυρεοειδικά κύτταρα (Douglas – Jones et al 1995).

Σύμφωνα με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, ο φυσιολογικός επιπεφυκότας, και πιο συγκεκριμένα το επιθήλιό του, θα πρέπει να προστεθεί στον κατάλογο των ιστών στους οποίους τα γονίδια της Μεταλλοθειονίνης εκφράζονται εξ' ιδιοσυστασίας σε ανιχνεύσιμα ποσά, υπό φυσιολογικές συνθήκες!

Αυτό το νέο δεδομένο θέτει τον προβληματισμό για το ποιοι είναι οι πιθανοί παράγοντες που επάγουν την Μεταλλοθειονίνη στο επιθήλιο του επιπεφυκότα, σε επίπεδα τόσο αυξημένα, ώστε να είναι ανοσοϊστοχημικά ανιχνεύσιμα.

Προηγούμενες μελέτες επιβεβαίωσαν ότι αυξημένα επίπεδα υπεριώδους ακτινοβολίας είναι ικανά να επάγουν την Μεταλλοθειονίνη σε ανοσοϊστοχημικά



ανιχνεύσιμα επίπεδα στο ανθρώπινο δέρμα (κερατινοκύτταρα και ινοβλάστες δέρματος) *in vivo* (Hanada et al 1991; 1993, Zelger et al 1993, Anstey et al 1996). Επίσης καταδείχθηκε η ταυτόχρονη φωτοεπαγωγή της P53 ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης, μετά από έκθεση του δέρματος στην υπεριώδη ακτινοβολία (Jasani et al 1993, Zelger et al 1993, Hall et al 1993, Anstey et al 1996). Όλα τα στοιχεία που έχουν συγκεντρωθεί από τις ήδη υπάρχουσες μελέτες, υποδηλώνουν ότι η Μεταλλοθειονίνη έχει έναν φωτοπροστατευτικό ρόλο. Όμως, υπό τις παρούσες συνθήκες είναι ακόμη ασαφές εάν η Μεταλλοθειονίνη λειτουργεί ανεξάρτητα από τις οδούς της κυταροπλασματικής πρωτεϊνικής κινάσης Ha-ras ή αν δραστηριοποιείται ως αναπόσπαστο κομμάτι αυτής της απάντησης (Takahashi et al 1993, Anstey et al 1996). Είναι πάντως βέβαιο, ότι η Μεταλλοθειονίνη ασκεί δράση «οδοκαθαριστή» για τις ελεύθερες ρίζες και έτσι ευθύνεται μερικώς (κατά μεγαλύτερο ή μικρότερο βαθμό είναι προς διερεύνηση) για την κυτταρική προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία και από τους κυτταροτοξικούς αλκυλιωτικούς παράγοντες (Hanada et al 1991; 1993, Fornace 1992, Zelger et al 1993, Jasani et al 1993, Takahashi et al 1993, Anstey et al 1996).

Έχοντας όλα τα ανωτέρω υπόψη, καταλήγουμε ότι η παρουσία της Μεταλλοθειονίνης στα επιθηλιακά κύτταρα του φυσιολογικού επιπεφυκότα παίζει έναν φωτοπροστατευτικό ρόλο, συνεισφέροντας στην κυτταρική SOS απάντηση στην υπεριώδη ακτινοβολία, δηλαδή σε έναν αρχέγονο, πολύπλοκο, βιολογικό μηχανισμό παγκοσμίου και συμπαντικής σημασίας.

Στην παρούσα εργασία διαπιστώθηκαν παρόμοια επίπεδα έκφρασης Μεταλλοθειονίνης στο επιθήλιο του επιπεφυκότα, τόσο στα φυσιολογικά δείγματα, όσο και στο πτερύγιο και στο στεάτιο, καθώς από την στατιστική επεξεργασία διαπιστώθηκε ότι οι ποσοτικές διαφορές μεταξύ των τριών ιστών δεν ήταν στατιστικώς σημαντικές (Box Whisker I).

Η παρουσία αυξημένης έκφρασης Μεταλλοθειονίνης ιδιοσυστατικά, στα επιθηλιακά κύτταρα του φυσιολογικού επιπεφυκότα σε «βασικά» επίπεδα, ίσως δικαιολογεί την έλλειψη κινητικής αύξησης και την παρόμοια ποσοτικά έκφραση Μεταλλοθειονίνης σε βλάβες όπως το στεάτιο και το πτερύγιο.

Προηγούμενες μελέτες υποδηλώνουν ότι εάν η καταστροφή του κυτταρικού DNA οφείλεται σε ελεύθερες ρίζες, τότε η επαγωγή της Μεταλλοθειονίνης λαμβάνει ίσως ιδιαίτερη λειτουργική σημασία λόγω της ικανότητάς της να «καθαρίζει» το κύτταρο από τις ελεύθερες ρίζες (Miyachi et al 1983, Danno et al 1984, Jasani et al 1993, Takahashi et al 1993). Έτσι ασκεί μια «αντινεοπλασματική» δράση, περιορίζοντας την χρωμοσωμική αστάθεια και για τον λόγο αυτό, την ανάπτυξη κυτταρικών σειρών με χρωμοσωμικές ανωμαλίες, δηλαδή «κλώνων».

Τα δεδομένα αυτά οδηγούν σε σκέψεις και συσχετισμούς ιδιαίτερου ενδιαφέροντος, στην περίπτωση του πτερυγίου για δύο κυρίως λόγους. Ο πρώτος είναι η γνωστή αιτιολογική συσχέτισή του με την χρόνια επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας (Qi 1966, Wong 1978, Moran & Hollows 1984, Kwork & Coroneo 1994, Tang et al 1999, Threffal 1999). Ο δεύτερος λόγος είναι όλα τα νεότερα ερευνητικά δεδομένα (έλλειψη ετεροζυγωτίας, παθολογική έκφραση P53, παρουσία ογκοϊών) που υποστηρίζουν την πιθανή νεοπλασματική φύση του πτερυγίου (Tan et al 1997; 2000, Detorakis et al 2000, Shimmura et al 2000).

Η υπεριώδης ακτινοβολία επάγει την παραγωγή πολλαπλών κυτοκινών, μεταξύ των οποίων πρωτεύουσα θέση έχει η Ιντερφερόνη-γ (Miyachi et al 1983, Engelberg et al 1994). Επίσης επάγει την παραγωγή ενεργών ριζών O_2 που προέρχονται από ενδογενώς παρόντα χρωμοφόρα, όπως η ριβοφλαβίνη, οι πορφυρίνες, οι κινόνες και το NADPH (Anstey et al 1996). Αυτές προκαλούν υπεροξειδωση των λιπιδίων,

βλάβες της κυτταρικής μεμβράνης, μετουσίωση των πρωτεϊνών και καταστροφή του DNA. Οι παράγοντες ίσως είναι δυνητικά μεταλλαξιογόνοι ή ικανοί να οδηγήσουν σε κυτταρικό θάνατο. Η ενεργοποίηση της διαδικασίας του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, δηλαδή της απόπτωσης, μέσω παραγόντων όπως ο P53, συνήθως προλαμβάνει την νεοπλασματική εξέλιξη του ιστού (Lane 1992, Jasani et al 1993, Anstey et al 1996).

Έχοντας αυτά υπόψη, διερωτάται κανείς εάν η Μεταλλοθειονίνη θα μπορούσε να ασκεί από την πλευρά της μια αντινεοπλασματική δράση, «καθαρίζοντας» το κύτταρο από τις ελεύθερες ρίζες και αιτιολογώντας μερικώς τα καλοήγη και «ενδιάμεσα» χαρακτηριστικά του πτερυγίου, καθώς η βλάβη μπορεί να αναπτύσσεται πολύ και να διεισδύει εντός του επιφανειακού κερατοειδούς, διασπώντας την μεμβράνη του Bowman, αλλά ποτέ δεν διαβρώνει, ούτε μεθίσταται.

Επιπλέον δε υπάρχουν μόνο στοιχεία που καταδεικνύουν ότι τα κύτταρα, σε συνθήκες stress τείνουν να υπερεκφράσουν Μεταλλοθειονίνη, ως εκδήλωση προστασίας στην καταστροφική για τις κυτταρικές δομές (μεμβράνες, πρωτεΐνες, DNA) επίδραση των ελευθέρων τοξικών ριζών. Σύμφωνα με πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα υποδηλώνεται επίσης μια σχέση ανάμεσα στην Μεταλλοθειονίνη και στην έκφραση του ογκοκατασταλτικού παράγοντα P53, σε μια αμυντική συνεργική δράση (Fornace 1992, Jasani et al 1993, Anstey et al 1996).

Από την άλλη πλευρά, πρόσφατες μελέτες περιγράφουν διαταραχή της φυσιολογικής διαδικασίας απόπτωσης στο πτερύγιο (Tan et al 2000). Πρόκειται δηλαδή για διαταραχή του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, που αποτελεί πρωταρχικό προστατευτικό μηχανισμό, έναντι της μεταλλαξιογόνου δράσης της υπεριώδους ακτινοβολίας. Έτσι περιγράφεται αύξηση της πρωτεΐνης απόπτωσης bcl-2 καθώς και της bax, καθώς επίσης και ανώμαλη έκφραση του παράγοντα P53 ή πιο συγκεκριμένα, μεταλλάξεις του P53 στα επιθηλιακά κύτταρα του επιπεφυκότα του πτερυγίου, αλλά και του στεατίου (Dushku & Reid 1997, Tan et al 1997, Tan et al 2000). Αυτά και μόνα είναι αρκετά για να στηρίξουν την θεωρία (ήδη αναπτύχθηκε πιο πάνω) ότι το πτερύγιο είναι μάλλον μια υπερτροφική-υπερπλαστική νεοπλασματικού χαρακτήρα βλάβη, παρά μια απλή εκφυλιστική εξεργασία, όπως νομίζαμε μέχρι πρότεινος.

Η δε παθολογική έκφραση του P53 στο πτερύγιο μπορεί να αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα στην συνολική αντινεοπλασματική άμυνα, και ανάλογα και στην αντιοξειδωτική αντινεοπλασματική δράση της Μεταλλοθειονίνης, καθώς όπως προειπώθηκε, είναι γνωστή η στενή συσχέτιση και συνεργική δράση των δύο αυτών παραγόντων. Έτσι πιθανώς δικαιολογείται ότι ενώ στον φυσιολογικό επιπεφυκότα με φυσιολογική έκφραση P53 και με αυξημένη έκφραση Μεταλλοθειονίνης υπάρχει η ανάλογη «αντίσταση» στην επίδραση της UVA ακτινοβολίας, ενώ στο πτερύγιο και στο στεάτιο με αυξημένη έκφραση Μεταλλοθειονίνης αλλά παθολογική έκφραση P53, η άμυνα είναι αναποτελεσματική, επιτρέποντας έτσι την ανάπτυξη βλάβης.

Ιδιαίτερο βέβαια ενδιαφέρον θα είχε να διαπιστωθεί η έκφραση της Μεταλλοθειονίνης στο *in situ* καρκίνωμα του επιπεφυκότα καθώς και στο πλακώδες καρκίνωμα του επιπεφυκότα, όπου επίσης είναι ήδη γνωστή η παθολογική έκφραση του P53, και καθώς όλες οι προαναφερόμενες οντότητες θεωρούνται διαφορετικές καταλήξεις της επίδρασης του ίδιου παράγοντα, δηλαδή της υπεριώδους ακτινοβολίας.

Από την στατιστική μελέτη των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης διαπιστώθηκε ότι υπάρχει μια στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση της Μεταλλοθειονίνης και στους ανοσοκυτταρικούς υποπληθυσμούς, περισσότερο με τα κύτταρα Langerhans'(SI00) και τα μακροφάγα (CD68) και

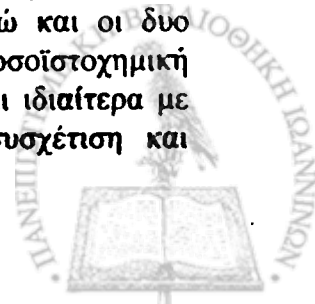


λιγότερο με τα λεμφοκύτταρα (CD4, CD8) (Scatterplots 12, 13, 15). Η παρουσία των ανοσοκυτταρικών διηθήσεων (Πιν. IV, Φωτ. 4, 5, 9, 10, 13, 14, 15) στο πτερύγιο ήταν αναμενόμενη, καθώς πολλές μελέτες στο παρελθόν έχουν υποδείξει την ύπαρξη ποικίλων ανοσοκυττάρων στην βλάβη αυτή (Ratnagar et al 1976, Pinkerton et al 1984, Solomon 1985, Joachim – Velogianni et al 1995, Nakagami et al 1998, Nakagami et al 1999). Από την άλλη πλευρά, είναι γνωστό ότι ενδογενείς παράγοντες όπως οι κυτοκίνες, οι οποίες είναι προϊόντα δραστηριοποιημένων ανοσοκυττάρων (όπως πχ. η Ιντερφερόνη-γ, που έχουμε προαναφέρει), είναι ικανές να επάγουν την έκφραση της Μεταλλοθειονίνης (Hamer 1986, Imbra et al 1987). Έτσι το ερώτημα που προκύπτει είναι εάν οι ανοσολογικές διεργασίες στο πτερύγιο ενέχονται, λιγότερο ή περισσότερο, στην επαγωγή των γονιδίων της Μεταλλοθειονίνης. Αυτό θα μπορούσε μερικά να αποτελέσει μια εναλλακτική εξήγηση για την επαγωγή της Μεταλλοθειονίνης, ειδικά στο πτερύγιο, αλλά είναι μάλλον αβέβαιης σημασίας ωστόσο να είναι διαθέσιμα περισσότερα ερευνητικά στοιχεία για το θέμα αυτό. Πάντως στο πτερύγιο συνυπάρχουν περισσότεροι του ενός παράγοντες που επάγουν την έκφραση της Μεταλλοθειονίνης, όπως η επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας και τα παράγωγα των ενεργοποιημένων ανοσοκυττάρων. Θα περίμενε λοιπόν κανείς μια πιθανή συνεργική δράση με αύξηση της έκφρασης της Μεταλλοθειονίνης σε επίπεδα, διακριτά υψηλότερα από εκείνα του φυσιολογικού επιπεφυκότα. Το γεγονός ότι αυτό δεν παρατηρείται και τα επίπεδα είναι εφάμιλλα (Box Whisker 1, Scatterplot 1) μας οδηγεί ξανά στην σκέψη ότι τα ήδη αυξημένα «βασικά» επίπεδα της πρωτεΐνης στις φυσιολογικές συνθήκες είναι τέτοια που δεν επιδέχονται περαιτέρω αύξηση έστω κι αν υπάρχουν και επιδρούν πρόσθετοι επαγωγικοί παράγοντες.

Η έκφραση της Μεταλλοθειονίνης συσχετίστηκε θετικά με τους δείκτες πολλαπλασιασμού (PCNA, Ki67) και στους τρεις τύπους ιστών (Πίνακας VIII, Scatterplots 14, 16). Τα αποτελέσματά μας αυτά συνηγορούν με προηγούμενες μελέτες (Hamer 1986, National Cancer Institute Workshop 1993, Anstey et al 1996), που υποδεικνύουν ότι οι Μεταλλοθειονίνες συχνά συνδέονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ειδικά μέσω της προμήθειας στα αναπαραγόμενα κύτταρα ιόντων ψευδαργύρου.

Συμπερασματικά διαπιστώσαμε την παρουσία της Μεταλλοθειονίνης σε ανιχνεύσιμες ποσότητες στον φυσιολογικό επιπεφυκότα, στο στεάτιο και στο πτερύγιο. Δεν βρέθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ως προς το ποσοστό ανοσοθετικών κυττάρων ανάμεσα στους τρεις αυτούς τύπους ιστών. Παραθέσαμε τις υποθέσεις μας τόσο σχετικά με τους μηχανισμούς επαγωγής της μεταλλοθειονίνης όσο και τον πιθανό της ρόλο στην περιοχή. Περαιτέρω έρευνα και στοιχεία θα διαφωτίσουν και θα διασαφηνίσουν τον ρόλο και την σημασία αυτής της μικρής πρωτεΐνης, στο «σταυροδρόμι» των βιοχημικών οδών των ποικίλων μορίων του οφθαλμού.

Τέλος πρέπει να σημειώσουμε ότι η μη συσχέτιση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης HLA-DR και μεταλλοθειονίνης στο πτερύγιο αποτέλεσε μια μάλλον αναμενόμενη έκβαση της στατιστικής ανάλυσης. Η μεν Μεταλλοθειονίνη φαίνεται να αποτελεί βασικό κρίκο ενός αρχέγονου φωτοπροστατευτικού μηχανισμού, η δε έκφραση HLA-DR φαίνεται να αποτελεί σημείο σύγκλισης (σε δεύτερο επίπεδο) πολλών αιτιολογικών παραγόντων του πτερυγίου (Σχ. 6). Έτσι ενώ και οι δυο παράγοντες, των οποίων στην παρούσα μελέτη εξετάσαμε την ανοσοϊστοχημική έκφραση στο πτερύγιο, πιθανώς συνδέονται ο καθένας ξεχωριστά και ιδιαίτερα με την παθογένεια του πτερυγίου, δεν έχουν μεταξύ τους άμεση συσχέτιση και «ευδιάκριτο» σημείο επαφής!



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- 1) Η χρήση αυτομοσχεύματος επιπεφυκότα με κρημνό σταθερής βάσης στην χειρουργική του πτερυγίου φαίνεται να είναι ικανοποιητική μέθοδος για την αντιμετώπιση της νόσου, σε ότι αφορά την υποτροπή στην προοπτική του χρόνου αλλά και ως προς το αισθητικό αποτέλεσμα.
- 2) Το HLA-DR αντιγόνο εκφράζεται παράδοξα, σε υψηλά επίπεδα στο επιθήλιο του πτερυγίου, επιβεβαιώνοντας την ανοσολογική βάση της αιτιοπαθογένειας της βλάβης. Η διαπίστωση αυτή της εκδήλωσης «τοπικής αυτοανοσίας» δίνει νέες διαστάσεις στην οπτική της παθογενετικής διαδικασίας του πτερυγίου.
- 3) Η πρωτεΐνη Μεταλλοθειονίνη εκφράζεται σε αυξημένα επίπεδα στο επιθήλιο του επιπεφυκότα της ρινικής περιοχής του οφθαλμού και παρά το σκληροκερατοειδές όριο, τόσο υπό φυσιολογικές συνθήκες όσο και σε παθολογικές καταστάσεις, όπως το πτερύγιο και το στεάτιο. Η έκφραση αυτή υποδεικνύει έναν πάγιο φωτοπροστατευτικό ρόλο στην περιοχή.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το πτερύγιο, («πτερόν») περιγράφηκε ως κλινική εικόνα από αρχαιοτάτων ετών (Ιπποκράτης, Κέλσιος, Γαληνός και άλλοι). Ο πιο σαφής και έως σήμερα αποδεκτός ορισμός του 'δόθηκε από τον Duke-Elder ο οποίος το περιέγραψε ως «μια εκφυλιστική και υπερπλαστική εξεργασία, η οποία εμφανίζεται ρινικά και κροταφικά στο μεσοβλεφάριο διάστημα, και όπου ο βολβικός επιπεφυκότας εφίπνυει τον κερατοειδή». Το πτερύγιο αποτελείται από επιθήλιο του τύπου του επιπεφυκότα, το οποίο καλύπτει μια ιδιαίτερα αγγειοβριθή δομή από χαλαρό συνδετικό ιστό.

Το πτερύγιο αφορά εκατομμύρια ανθρώπων, που διαβιούν σε περιοχές εκατέρωθεν του Ισημερινού κυρίως. Προκαλεί δε πλήθος προβλημάτων από ερεθιστικά ενοχλήματα μέχρι και τύφλωση, σε παραμελημένες περιπτώσεις. Η Ελλάδα είναι χώρα που γεωγραφικά ανήκει στις παραπάνω περιοχές της Γης και όπου η επίπτωση του πτερυγίου είναι αυξημένη.

Παρά το γεγονός ότι το πτερύγιο αναγνωρίστηκε εδώ και 3000 χρόνια, η αιτιολογία, η παθογένεια και η θεραπεία του αποτελούν ακόμη θέματα συζήτησης και αντιπαράθεσης. Είναι προφανές ότι περισσότερη έρευνα επί του θέματος είναι απαραίτητη, προς λύση του προβλήματος αυτού.

Ειδικά σε ότι αφορά την παθογένεια του πτερυγίου, πολλοί ερευνητές πρότειναν ως σήμερα πλήθος διαφορετικών απόψεων. Κληρονομικοί, ανατομικοί, αλλεργικοί, ακόμη και κοινωνιολογικοί παράγοντες έχουν προταθεί. Η υπεριώδης ακτινοβολία (UV 290-400 nm) πάντα ήταν στο στόχαστρο. Η πιο μοντέρνα συλλογιστική θέλει την γενετική προδιάθεση, τους περιβαλλοντικούς παράγοντες και κάποιους ογκοϊούς να συμμετέχουν όλοι στον σχηματισμό του πτερυγίου σε μια πολυβηματική διαδικασία.

Κατά την γνώμη μας, περισσότερη έρευνα των παθογενετικών μηχανισμών σε λεπτομέρεια και βάθος, ακόμη και σε κυτταρικό επίπεδο, μπορεί να προσφέρει σημαντική πληροφορία για τον ακριβή τρόπο ανάπτυξης της βλάβης.

Με αυτά κατά νου, προχωρήσαμε στην παρούσα κλινική και ανοσοϊστοχημική μελέτη, αξιοποιώντας τις σύγχρονες δυνατότητες της ανοσοϊστοχημείας και του παθολογοανατομικού εργαστηρίου.

Έτσι χειρουργήθηκαν με χρήση αυτομοσχεύματος επιπεφυκότα, 100 πτερύγια. Οι ασθενείς μπήκαν σε τριετή περίπου παρακολούθηση της κλινικής τους πορείας, ενώ οι αφαιρεθέντες ιστοί μελετήθηκαν στο εργαστήριο. Παράλληλα χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες 20 στεάτια και 20 φυσιολογικοί επιπεφυκοί, που επίσης εξαιρέσαμε χειρουργικά.

Στην ανοσοϊστοχημική μελέτη χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος αβιδίνης –βιοτίνης (ABC), σε τομές παραφίνης. Μελετήσαμε την επιθηλιακή έκφραση του HLA-DR αντιγόνου, μιας υποομάδας του Συμπλέγματος Μεγίστης Ιστοσυμβατότητας, τάξεως II, το οποίο έχει ευρέως συσχετιστεί με αυτοάνοσες διεργασίες. Επίσης μελετήσαμε την επιθηλιακή έκφραση της Μεταλλοθειονίνης, μιας πρωτεΐνης που συνδέει βαρέα μέταλλα, επάγεται από την υπεριώδη ακτινοβολία και εμπλέκεται σε κάθε μορφή stress, έχοντας έναν αντιοξειδωτικό κυτταροπροστατευτικό ρόλο.

Με στόχο να φωτίσουμε περισσότερο τον μηχανισμό έκφρασης των HLA-DR και της Μεταλλοθειονίνης, ανιχνεύσαμε επίσης ανοσοϊστοχημικά και μελετήσαμε τις πιθανές συσχετίσεις, ενός πλήθους άλλων παραγόντων, που αναφέρουμε κάτωθι:

τους δείκτες πολλαπλασιασμού PCNA (proliferating nuclear antigen) και Ki67 (MIB1)



- την S100 πρωτεΐνη, ως δείκτη των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων Langerhans', που ενέχονται στην ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων και της υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου.
- τους CD4 και CD8 T λεμφοκυτταρικούς υποπληθυσμούς και τις διηθήσεις μακροφάγων (CD68) ως δείκτες φλεγμονής.

Η κλινική παρακολούθηση των ασθενών διήρκεσε περίπου τρία έτη και το τελικό αποτέλεσμα της χειρουργικής μεθόδου που εφαρμόστηκε ήταν επιτυχία σε ποσοστό 91% (υποτροπή 9%). Η έκβαση, που βρίσκεται ανάμεσα στις θετικότερες της διεθνούς βιβλιογραφίας, λαμβανομένου υπόψη και του μακράς διάρκειας follow up, φαίνεται να δικαιώνει την μέθοδό μας.

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη μας έδωσε πλήθος δεδομένων, τα οποία παρουσίασαν ενδιαφέρον, είτε αυτά καθαυτά, είτε μετά την στατιστική επεξεργασία που αποκάλυψε ενδιαφέρουσες συσχετίσεις.

Το HLA-DR αντιγόνο παρουσίασε αυξημένη έκφραση στα επιθηλιακά κύτταρα του πτερυγίου, ενώ σχεδόν καθόλου έκφραση δεν παρατηρήθηκε στο στεάτιο και στον φυσιολογικό επιπεφυκότα. Διαπιστώθηκε υψηλή έκφραση των δεικτών πολλαπλασιασμού PCNA και Ki67 στα ίδια περιστατικά και στις ίδιες περιοχές όπου εκφραζόταν HLA-DR αντιγόνο και μια στατιστικώς σημαντική θετική συσχέτιση προέκυψε ανάμεσά τους.

Αφθονία διηθήσεων φλεγμονωδών κυττάρων (CD4, CD8, CD68, Langerhans') ανιχνεύθηκε στο πτερύγιο, ενώ σαφώς λιγότερες βρέθηκαν στο στεάτιο και στον φυσιολογικό επιπεφυκότα.

Επιθηλιακή έκφραση της Μεταλλοθειονίνης ανιχνεύτηκε σε όλους τους ιστούς και στους περισσότερους από αυτούς υπήρχαν αμφότερες, πυρηνική και κυτταροπλασματική ανοσοαντίδραση. Στο πτερύγιο διαπιστώθηκε μια στατιστικώς σημαντική θετική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση Μεταλλοθειονίνης και στους λεμφοκυτταρικούς υποπληθυσμούς, τα μακροφάγα και τα κύτταρα Langerhans'. Αντίθετα δεν βρέθηκαν τέτοιου είδους συσχετίσεις στο στεάτιο και στον φυσιολογικό επιπεφυκότα. Και στα τρία είδη ιστών η έκφραση της Μεταλλοθειονίνης συσχετίστηκε θετικά με εκείνη των δεικτών πολλαπλασιασμού.

Τα δεδομένα μας υποδεικνύουν ότι ανοσοπαθολογικοί μηχανισμοί συνεισφέρουν στην παθογένεια του πτερυγίου σε συσχέτιση με τον δείκτη αύξησης της βλάβης. Η «ακατάλληλη», υψηλή έκφραση του HLA-DR αντιγόνου στο επιθήλιο του πτερυγίου βεβαιώνει την τοπική ενεργοποίηση αυτοάνοσων διεργασιών, ενώ η ποικιλία στην έκφραση αυτή υποδηλώνει ίσως ότι αποτελεί το τελικό σημείο σύγκλισης πολλών και διαφόρων κατά περίπτωση, ποιοτικά και ποσοτικά παραγόντων.

Τα δεδομένα μας υποδεικνύουν την υψηλή έκφραση της Μεταλλοθειονίνης στο επιθήλιο του φυσιολογικού επιπεφυκότα της ρινικής μεσοβλεφαρίου περιοχής πλησίον του σκληροκερατοειδούς ορίου, αλλά και σε παθολογικές καταστάσεις όπως το πτερύγιο και το στεάτιο. Η έντονη παρουσία της πρωτεΐνης αυτής, λαμβάνοντας υπόψη τις ιδιότητές της, φαίνεται να εκτελεί έργο κυτταρικής φωτοπροστασίας στην νευραλγική, από άποψη επίδρασης της ηλιακής ακτινοβολίας, αυτή περιοχή του οφθαλμού. Ειδικά στο πτερύγιο παρατηρήσαμε με ενδιαφέρον ότι η βιοχημική οδός της Μεταλλοθειονίνης φαίνεται να διασταυρώνεται με τις οδούς του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της φλεγμονής και της ανοσολογικής ενεργοποίησης.



SUMMARY

TITLE: "CONTRIBUTION TO THE THERAPY AND THE
ETIOPATHOGENESIS OF PTERYGIUM OF THE EYE
CLINICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY"

AUTHOR: SEVASTI TSIRONI

Pterygium ("a wing") is a clinical picture recognized from ancient times (Hippocrates, Galen, Celsus and others). It has been defined by Duke-Elder as a triangular shaped degenerative and hyperplastic process, occurring medially and laterally in the palpebral aperture, in which the bulbar conjunctiva encroaches the cornea. Pterygium consists of an epithelium of the conjunctival type that covers a highly vascularized structure of loose connective tissue.

Pterygium is a condition, which affects millions of people living in peri-equatorial regions, causing much discomfort and disablement and in neglected cases, even blindness. Greece belongs geographically to these regions and it is a country with high incidence of pterygium.

Despite the fact that pterygium has been recognized for at least 3000 years, its etiology, pathogenesis and treatment are still hotly debated. It is obvious that more research and investigation is needed for the elucidation of this problem.

Regarding the pathogenesis of pterygium many investigators have suggested till today plenty of different options. Anatomic, hereditary, neoplastic, allergic and even sociologic factors have been proposed. Broad band UV radiation (290 – 400 nm) has always been encriminated. The most modern aspect is that genetic predisposition, environmental factors and oncogenic viruses participate in the formation of pterygium in a multi-step process.

In our opinion further investigation of the cellular constitution, and of the pathogenetic mechanisms in more detail may offer important information for the exact way that pterygium develops.

Having all this in mind, we used in this study immunohistochemistry, in order to bring in light more information about pterygium.

One hundred (100) surgically excised pterygia, twenty (20) pingueculae and twenty (20) normal conjunctivae were immunohistochemically studied. We used the avidin-biotin (ABC) method, on formalin fixed, paraffin embedded tissue. We studied the epithelial expression of HLA-DR antigen (a subunit of Major Histocompatibility Complex, class II that is widely involved in autoimmune processes), and also the expression of Metallothionein (a heavy metal binding protein known to be photoinducted and also implicated to any form of stress, providing a cytoprotective mechanism). In order to further elucidate the mechanism of HLA-DR and Metallothionein expression, we detected immunohistochemically and also studied possible correlation of a number of other factors, which are mentioned below:

- a) PCNA (proliferating nuclear antigen) and Ki67 (MIB1), as indicators of cell proliferation.
- b) S100 protein, as an indicator of Langerhans' cells, which are antigen presenting cells involved in T-cell activation and delayed type hypersensitivity).



c) CD4 and CD8 subsets and also CD68 infiltrations (macrophages), as indicators of inflammation.

As for our clinical results, the follow up of our patients, for almost three years showed rather satisfactory outcome for our surgical method, with conjunctival autograft. The rate of recurrence was 9%.

The immunohistochemical research issue was of great interest. HLA-DR antigen was highly expressed in pterygium epithelial cells, whereas almost no expression was found in pinguecula and normal conjunctiva. High expression of Ki67 and PCNA coexisted in the same areas with HLA-DR antigen expression in pterygium and a statistically significant positive correlation resulted between them. Aberrant infiltration of inflammatory cells (CD4, CD8, CD68, S100) was detected in pterygium, while lower densities were found in pinguecula and normal conjunctiva.

Epithelial Metallothionein expression was detected in all tissues and in most of them, both nuclear and cytoplasmic immunoreactivity was present. A statistically significant positive correlation between Metallothionein expression and lymphocyte subsets, macrophages and Langerhans' cells was found in pterygium. On the contrary, we did not find any similar statistical correlation in pinguecula and normal conjunctiva. In all three types of tissues Metallothionein expression was also positively correlated with the proliferation indices (PCNA and Ki67).

The data suggest that immunopathological mechanisms contribute to the pathogenesis of pterygium, in correlation with the growth fraction of the lesion.

The data also suggest that there is immunohistochemically demonstrable Metallothionein expression in the epithelium of normal conjunctiva, but the same applies for lesions, such as pterygium and pinguecula. Maybe Metallothionein serves a photoprotective role in this region of the eye. In pterygium in particular the biochemical pathway of Metallothionein synthesis seems to interestingly cross the pathways of cell proliferation, inflammation and immune activation.



BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adamis A, Starck T, Kenyon K. The management of pterygium. *Corneal and external disease*. 1990;3:611-623.
- Ailinger G, Fill H, Wick G. In situ immune complexes, lymphocytes subpopulations and HLA-DR-positive epithelial cells in Hashimoto thyroiditis. *Lab Invest* 1985;52:132-140.
- Anstey A, Marks R, Colin L, Navabi H, Pearse A, Wynford-Thomas D, Jasani B. In vivo photoinduction of Metallothionein in human skin by Ultraviolet irradiation. *Journal of Pathology* 1996;184:144-147.
- Arlt R. Cited by REDSLOB, and MERIGOT DE TREIGNY & COIRRE. 1845.
- Ascher K, Anderson J. A pterygium map. *Acta XVII Conc Ophthal* 1954;3:1640-1641.
- Austin P, Jacopiec F, Iwamoto T. Elastodysplasia and Elastodystrophy as the pathologic basis of ocular pterygia and pinguecula. *Ophthalmology* 1983;90:96-109.
- Ballardini G, Mirakian R, Biachi FB, Pisi E, Doniach D, Bottazzo GF. Aberrant expression of HLA-DR antigens on bileduct epithelium in primary biliary cirrhosis: Revalence to pathogenesis. *Lancet* 1984;2:1009-1013.
- Beard HH, Dimitry TJ. Some observations upon the chemical nature of the pterygium. *Amer J Ophthalmol* 1945;28:303-305.
- Bond CJ. Note on the origin of pterygium and ulcers of the cornea. *Ophthal* 1889;8:161-162.
- Bottazzo GF, Pujol-Borrell R, Hanafusa T, Feldmann M. Role of aberrant HLA-DR expression and antigen presentation in induction of endocrine autoimmunity. *Lancet* 1983;ii:1115-1119.
- Bouzunar N, Walker K, Griffiths K, Ellis I, Elston C, Robertson J, Blamey R, Nicholson R. Ki67 immunostaining in primary breast cancer: pathological and clinical associations. *Br J Cancer* 1989;59:943-947.
- Breathnach SM, Katz SI. Keratinocytes synthesize Ia antigen in acute cutaneous graft-vs-host disease. *J Immunol* 1983;131:2741-2745.
- Butrus SI, Ashraf MF, Laby DM, Rabinowitz AI, Tabbara SO, Hidayat AA. Increased numbers of mast cells in pterygia. *Am J Ophthalmol* 1995;119:236-237.
- Cameron ME. *Pterygium throughout the World*. C.C. Thomas, Springfield, Illinois 1965.
- Chen P, Ariyasu R, Kaza V, La Bree L, McDonnel P. A randomized trial comparing Mitomycin C and Conjunctival autografting after excision of primary pterygium. *Am J Ophthalmol* 1995;120:151-160.
- Chubatsu LS, Meneghini R. Metallothionein protects DNA from oxidative stress. *Biochem J* 1993;291:193-198.
- Cilova-Atanasova B. On the pathogenesis of pterygium. *Folia Med* 1971;13:67-74.
- Cornard G. Pterygium clinical course and treatment. *Rev Int Trachome Pathol Ocul Trop Subtrop. Sante Publique* 1989;66:31-108.
- Coroneo MT. Pterygium as an early indicator of ultraviolet insolation. *Br J Ophthalmol* 1993;77:734-739.
- Coroneo MT, Di Girolamo N, Wakefield D. The pathogenesis of pterygia. *Curr Opin Ophthalmol* 1999;10:282-288.
- Corso Alvarez G, Urribari-Delgrado T. Eye damage and lighting among workers in the beer industry. *Invest Clin* 1997;38:113-126.



- Creuzot-Garcher C, Guerzider V, Assem M, Bron AM, Delannoy P, Bara J. Alteration of sialyl Lewis epitope expression in pterygium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:1631-1636.
- Danno K, Horio T, Takigama M. Role of oxygen intermediates in UV-induced epidermal cell injury. *J Invest Dermatol* 1984;83:166-168.
- De Kaizer RJW. Pterygium excision with free conjunctival autograft versus postoperative strontium 90 (90Sr) beta-irradiation. A prospective study. *Int Ophthalmol* 1998;21:335-341.
- Detels R, Dhir S. Pterygium – A geographic survey. *Arch Ophthalmol* 1967;78:485-491.
- Detorakis ET, Sourvinos G, Tsampanlakis J, Spandidos DA. Evaluation of loss of heterozygosity and microsatellite instability in human pterygium-clinical correlations. *Br J Ophthalmol* 1998;82:1324-1328.
- Detorakis ET, Drakonaki EE, Spandidos DA. Molecular genetic alterations and viral presence in ophthalmic pterygium. *Int J Mol Med* 2000;6:35-41.
- Di Girolamo N, Verma MJ, McCluskey PJ. Increased matrix metalloproteinases in the aqueous humor of patients and experimental animals with uveitis. *Curr Eye Res* 1996;15:1060-1068.
- Di Girolamo N, Lloyd A, McCluskey PJ. Increased expression of matrix metalloproteinases in vivo in scleritis tissue and in vivo in cultured human scleral fibroblasts. *Am J Pathol* 1997;105:653-666.
- Di Girolamo N, Tedla N, Lloyd A. Expression of matrix metalloproteinases by human plasma cells and B-lymphocytes. *Eur J Immunol* 1998;28:1773-1784.
- Di Girolamo N, McCluskey P, Lloyd A, Coroneo MT, Wakefield D. Expression of MMPs and TIMPs in human pterygia and cultured pterygium epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:671-679.
- Dimitry JT. The diet factor in the production of pterygium. *Amer J Ophthalmol* 1937;20:40-44.
- Diponegoro RMA, Mulock Houwer AW. Astatistical contribution to the study of the aetiology of pterygium. *Folia Ophthalm Orientalia* 1936;2:195-210.
- D'Obrain A. The surgical treatment of pterygium. *Brit J Ophthalmol* 1948;32:65-71.
- Douglas-Jones AG, Schmid KW, Bier B, Horgan K, Ivons K, Dallimore ND, Path I, Moneypenny J, Jasani B. Metallothionein expression in duct carcinoma in situ of the breast. *Human pathology* 1995;26:217-222.
- Dua HS, Azuara-Blanco A. Autologous limbal transplantation in patients with unilateral corneal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 2000;107:270-273.
- Duke Elder S. *Textbook of Ophthalmology*. St Louis: Mosby 1954;7:570-586.
- Duke-Elder Sir S. *System of Ophthalmology*. London: Kimpton 1965;8:573-576.
- Dushku N, Reid TW. Immunohistochemical evidence that human pterygia originate from an invasion of vimentin-expressing altered limbal epithelial basal cells. *Curr Eye Res* 1994;13:473-481.
- Dushku N, Reid TW. P53 expression in altered limbal basal cells of pingueculae, pterygia and limbal tumors. *Curr Eye Res* 1997;16:1179-1192.
- Dushku N, Hatcher SL, Albert DM, Reid TW. P53 expression and relation to human papillomavirus infection in pingueculae, pterygia, and limbal tumors. *Arch Ophthalmol* 1999;117:1593-1599.
- Elliot R. The aetiology and pathology of pterygium. *Trans Ophthalmol Soc N Z* 1966;25:71-74.
- Engelberg D, Klein C, Marinetto H, Struhl K, Karin M. The UV response involving the ras signalling pathway and AP-1 transcription factors is conserved between yeast and mammals. *Cell* 1994;77:381-390.

- Fais S, Delle Fratte F, Mancini F, Cioni V, Guadagno M, Vetrano G, Pallone F. Human cervical epithelial cells that express HLA-DR associated with viral infection and activated mononuclear cell infiltrates. *J Clin Pathol* 1991;44:290-292.
- Figueiredo R, Cohen E, Comes J, Rapuano C, Laibson P. Conjunctival autografting for pterygium surgery: How well does it prevent recurrence? *Ophthalmic Surgery and Lasers* 1997;28:99-104.
- Forbes J, Collin R, Dart J. Split thickness buccal mucous membrane grafts and beta irradiation in the treatment of recurrent pterygium. *Br J Ophthalmol* 1998;82:1420-1423.
- Fornace AJ. Mammalian genes induced by radiation. *Annu Rev Genet* 1992;26:507-526.
- Fresno M, Wu W, Rodriguez J, Nadji M. Localization of Metallothionein in breast carcinomas. An Immunohistochemical study. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1993;423:215-219.
- Friede R. Die pathogenese des echten pterygiums. *Acta Ophthal Kbh* 1949;27:507-517.
- Fritz MH. Blindness from Multiple Pterygia in an Alaskan Native. *Amer J Ophthal* 1955;39:572.
- Fuchs E. Uber das pterygium. *Arch Ophthal* 1892;38:1.
- Fuentealba IC, Mullins J.E. Immunohistochemical demonstration of Metallothionein in benign malignant canine mammary tumor. *Histol Histopathol* 1999;14:51-61.
- Fuller C, Elmes M, Jasani B. Age related changes in Metallothionein, copper, copper-associated protein and lipofuscin in human liver: A histochemical and immunohistochemical study. *Journal of Pathology* 1990;161:167-172.
- Garrido C, Carvalho RC, Thorn F, Cruz AAV. Pterygia and cataracts in forest dwelling and riverside indigenous people of the upper Amazon basin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:1044-1045.
- Gasitt Y, Erdos G, Cohen R. Ultrastructural localization and fluctuation in the level of the proliferating Cell Nuclear Antigen and myc Oncoproteins in synchronized neuroblastoma cells. *Cancer Research* 1993;53:1899-1905.
- Gerundo M. The etiology and pathology of pterygium. *Amer J Ophthal* 1951;34:851-856.
- Gris O, Guell JL, Del Campo Z. Limbal-conjunctival autograft transplantation for the treatment of recurrent pterygium. *Ophthalmology* 2000;107:270-273.
- Hainaut P, Milner J. Structural role of metal ions in the "wild type" conformation of the tumor suppressor protein P53. *Cancer Research* 1993;53:1739-1742.
- Hall PA, McKee PH, Menage H. High levels of P53 protein in UV-irradiated normal human skin. *Oncogene* 1993;8:203-207.
- Hamer DH. Metallothionein *Annu Rev Biochem* 1986;55:913-951.
- Hanada K, Gange RW, Siebert E, Hasan T. Protective effects of cadmium chloride against UVB injury in mouse skin and in cultured human cells: a possible role of cadmium-induced metallothionein. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1991;8:111-115.
- Hanada K, Baba T, Hashimoto I, Fukui R, Watanabe S. Possible role of cutaneous metallothionein in protection against photo-oxidative stress-epidermal localization and scavenging activity for superoxide and hydroxyl radicals. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1993;9:209-213.
- Hanafusa T, Pujol-Borrell R, Chiovato L, Russell RC, Doniach D, Bottazzo GF. Aberrant expression of HLA-DR antigen on thyrocytes in Grave's disease: Relevance for autoimmunity. *Lancet* 1983;2:1111-1118.



- Herman W, Doughman D, Lindstrom R. Conjunctival autograft transplantation for unilateral ocular surface diseases. *Ophthalmology* 1983;9:1121-1126.
- Hilgers JHC. Pterygium: its incidence, heredity and etiology. *Am J Ophthalmol* 1960;50:653-644.
- Hill JC, Maske R. Pathogenesis of pterygium. *Eye* 1989;3:218-226.
- Hogan M, Alvarado J. Pterygium and pinguecula: Electron microscopy study. *Arch Ophthalmol* 1967;78:174-186.
- Hsu SM, Raine I, Fanger H. Use of avidin-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981;29:577-580.
- Hubner W. Der Lidspaltenfleck. *Arch für Augenheilk.* 1898;36:70-91.
- Imbra RJ, Karin M. Metallothionein gene expression is regulated by serum factors and activators of protein kinase C. *Mol Cell Biol* 1987;8:1358-1363.
- Jacklin HN. Familial predisposition to pterygium formation. *Amer J Ophthalmol* 1964;57:481-482.
- Jaros P, Deluise V. Pingueculae and Pterygia. *Survey of Ophthalmology* 1988;33:41-49.
- Jasani B, Anstey A, Marks R. Wild type P53 and metallothionein are expressed simultaneously in UV irradiated skin: A possible link to photocarcinogenesis. *J Invest Dermatol* 1993;101-422.
- Jasani B, Cambell F, Navabi H, Schmid K, Williams G. Clonal overexpression of Metallothionein is induced by somatic mutation in morphologically normal colonic mucosa. *Journal of Pathology* 1998;184:144-147.
- Joachim E, Stavropoulos N, Kitsiou E, Stefanaki S, Agnantis N. HLA-DR antigen expression and lymphocyte subsets in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. An immunohistochemical study on frozen sections. *Journal of Pathology* 1994;174:183-189.
- Joachim-Velogianni E, Tsironi E, Agnantis N, Datseris G, Psilas K. HLA-DR antigen expression in pterygium epithelial cells and lymphocyte subpopulations: an immunohistochemistry study. *German J Ophthalmol* 1995;29:577-580.
- Johnson LL, Dyer R, Hupe DJ. Matrix metalloproteinases. *Curr Opin Chem Biol* 1998;2:466-471.
- Kamel S. The Pterygium, its etiology and treatment. *Amer J Ophthal* 1954;38:682-688.
- Kennedy M, Kim KH, Harten B, Brown J, Planck S, Meshul C, Edelhauser H, Rosenbaum JT, Armstrong CA, Ansel JC. UVA irradiation induces the production of multiple cytokines by human corneal cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:2483-2491.
- Kenyon KR, Wagoner MD, Hettinger ME. Conjunctival autograft transplantation for advanced and recurrent pterygium. *Ophthalmology* 1985;92:1461-1470.
- Kerkenezov N. A Pterygium survey of the Far North Coast of New South Wales. *Trans Ophthal Soc Aust* 1956;16:110-119.
- Kim YJ, Park ES, Song KY, Park SC, Kim JC. Glutathione transferase (class pi) and tissue transglutaminase (TgaseC) expression in pterygia. *Korean J Ophthalmol* 1998;12:6-13.
- Kria L, Ohira A, Amemiya T. Growth Factors in cultured pterygium fibroblasts: immunohistochemical and ELISA analysis. *Graefes Arch Exp Ophthalmol* 1988;263:702-708.
- Kria L, Ohira A, Amemiya T. Immunohistochemical localization of basic fibroblast growth factor, platelet derived growth factor, transforming growth factor-beta

- and tumor necrosis factor-alpha in the pterygium. *Acta Histochem* 1996;98:195-201.
- Kwork LS, Coroneo TM. A model for pterygium formation. *Cornea* 1994;13:219-224.
- Lane DP. P53, Guardian of the genome. *Nature* 1992;358:15-16.
- Laueryns B, Van den Oord JJ, Minessoten L. The transitional zone between limbus and peripheral cornea. An immunohistochemical study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:1991-1999.
- Lavker RM, Wei Z-G, Sun T-T. Phorbol ester preferentially stimulates mouse fornicial conjunctival and limbal epithelial cells to proliferate in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:601-607.
- Lewallen S. A randomised trial of conjunctival autografting for pterygium in the tropics. *Ophthalmology* 1989;96:1612-1614.
- Lieberman MW, Beach LR, Palmiter RD. Ultraviolet radiation-induced metallothionein-I gene activation is associated with extensive DNA demethylation. *Cell* 1983;35:207-214.
- Lim R, Mitchell P, Cuming RG. Cataract associations with pinguecula and pterygium - the Blue Mountains Eye Study *Am J Ophthalmol* 1998;126:717-719.
- Lin TL, Huang MG. On etiology of the pterygium and modified operation. *Chung Hua Yen Ko Tsa Chih* 1954;4:45-46.
- Lindahl G, Hedfords E, Klareskog E, Fossum U. Epithelial HLA-DR expression and T-lymphocyte subsets in salivary glands in Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol* 1985;61:475-482.
- Liu L. An immuno-pathological study of pterygium. *Chinese Journal of Ophthalmology* 1993;29:141-143.
- Liu L, Yang D. Immunological studies on the pathogenesis of pterygium. *Chinese Medical Sciences Journal* 1993;8:84-88.
- Liu YP, Schultz GS, Ren XO. MMP-2 and MMP-9 levels in pterygia and matched superior conjunctiva by gelatin zymography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:756.
- Londei M, Lamp JR, Botazzo GF, Feldman M. Epithelial cells expressing aberrant MHC class II determinants can present antigen to cloned human T cells. *Nature* 1984;312:639-641.
- Malmnas-Tjerlund U. Epidermal expression of HLA-DR antigens in mycosis fungoides. *Arch Dermatol Res* 1980;261:81-86.
- Μάνθος ΑΚ. Νεότερες αντιλήψεις για το πτερύγιο. *Οφθαλμολογία* 1999;11:241-247.
- Mamo JG. Multiple Bilateral Pterygia. *Amer J Ophthal* 1968;66:343-345.
- McCarty CA, Fu CL, Taylor HR. Epidemiology of pterygium in Victoria, Australia. *Br J Ophthalmol* 2000;84:289-292.
- McCormick Y, Hobbs C, Hall P. The relevance of antibody concentration to the immunohistological quantification of cell proliferation-associated antigens. *Histopathology* 1993;22:543-547.
- Mechtersheimer G, Staudter M, Majdic O, Dörken B, Moldenhauer G, Möller P. Expression of HLA-A,B,C,β2 microglobulin (β2m), HLA-DR,-DQ and of HLA-D-associated invariant chain (Ii) in soft tissues tumors. *Int J Cancer* 1990;46:813-823.
- Mérigot de Treigny & Coirre. Le Ptérygion, *Bull Soc Ophtal* 1933;45:722.
- Miyachi Y, Horio T, Inamura S. Sunburn cell formation is prevented by scavenging oxygen intermediates. *Clin Exp Dermatol* 1983;8:305-310.



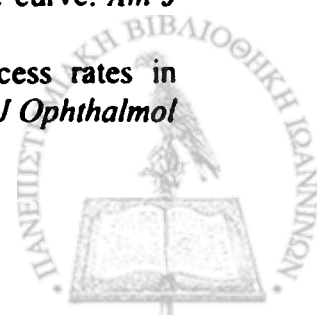
- Moran DJ, Hollows FG. Pterygium and ultraviolet radiation. *Br J Ophthalmol* 1984;68:343-346.
- Morhenn VA, Abel EA, Mahrle G. Expression of HLA-DR antigen in skin from patients with psoriasis. *J Invest Dermatol* 1982;78:165-168.
- Μουτσόπουλος ΧΜ, Εμμανουήλ ΔΣ. Βασικές αρχές παθολογίας. Εκδόσεις Λίτσας 1984.
- Moutsopoulos HM, Hooks JJ, Chan CC, Dalavanga YA, Skopouli FN, Detrick B. HLA-DR expression by labial minor salivary gland tissues in Sjögren's syndrome. *AM Rheum Dis* 1985;45:677-683.
- Multu FM, Sobaci G, Tatar Y, Vildirim E. A comparative study of recurrent pterygium surgery: Limbal conjunctival autograft transplantation versus mitomycin C with conjunctival flap. *Ophthalmology* 1999;106:817-821.
- Murken J, Dannheim R. Genetic problems of corneal pterygium. *Klin Mbl Augenheilk* 1965;147:574-579.
- Nakagami T, Murakami A, Okisava S. Pterygium and mast cells – expression of basic fibroblast growth factor increase in mast cells of the pterygium. *Nippon Ganca Gakkai Zashi* 1998;102:300-306.
- Nakagami T, Murakami A, Okisava S, Ebihara N. Mast cells in pterygium: number and phenotype. *Jpn J Ophthalmol* 1999;43:75-79.
- Νακοπούλου Λυδία. Ανοσοϊστοχημία. Ιατρικές εκδόσεις Πασχαλίδης 1999.
- National Cancer Institute Workshop on the possible Roles of Metallothionein in Carcinogenesis. Meeting Report. *Cancer Research* 1993;53:922-925.
- Newman HH. Five generations of congenital stationary night blindness in an American family. *J Genetics* 1915;3:25-38.
- Nishimura H, Nishimura N, Kobayashi S, Toyama C. Immunohistochemical localization of metallothionein in the eye of rats. *Histochemistry* 1991;95:535-539.
- Ofner-Hans Maier D, Riedman B, Bammer T, Rumer A, Winde G, Bocker W, Jasani B, Schmid K. Immunohistochemical metallothionein expression in colorectal adenocarcinoma: correlation with tumor stage and patient survival. *Virchows Archiv* 1994;425:491-497.
- Onur C, Orhan D, Orhan M, Sak SD, Tulunay O, Irkeç M. Expression of P53 protein in pterygium. *Eu J Ophthalmol* 1998;8:57-61.
- Orde Peckar C. The etiology and histo-pathogenesis of pterygium. A review of the literature and a hypothesis. *Doc Ophthalmol* 1972;31:141-157.
- Ozone depletion quickens (Editorial) *Lancet* 1991;337:1132-1133.
- Panchapakesan J, Hourihan F, Mitchell P. Prevalence of pterygium and pinguecula: the Blue Mountains study. *Aust N Z J Ophthalmol* 1998;26:2-5.
- Park TK, Jin KH. Telomerase activity in pterygial and normal conjunctival epithelium. *Korean J Ophthalmol* 2000;14:85-89.
- Parthasarthy NR, Gupta US. Prevalence of pterygium in rural India. *Oriental Arch Ophthal* 1967;5:139.
- Papadimitriou S, Ioachim E, Tsianos B, Moutsopoulos HM. Epithelial HLA-DR expression and lymphocyte subsets in gastric mucosa in type B chronic gastritis. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1988;413:197-204.
- Pinkerton OD, Hokama Y, Shigemura LA. Immunologic basis for the pathogenesis of pterygium. *Am J Ophthalmol* 1984;98:225-228.
- Poncet F. Du Pterygion. *Arch Ophtal* 1880;1:21-44.
- Πολλάλης Σπύρος. Εξωτερικοί Παθήσεις του Οφθαλμού. Εκδόσεις Καραβιά 1982.



- Powers MR, Qu Z, O'Brien B, Wilson DJ, Thomson JE, Rosenbaum JT. Immunolocalization of bFGF in pterygia. *Cornea* 1997;16:545-549.
- Qi XZ. Investigation on etiology of the pterygium. *Chung Hua Yen Ko Tsa Chih* 1966;13:179-182.
- Raizada IN, Bhatnagar NK. Pinguecula and Pterygium (a histopathological study). *Indian J Ophthalmol* 1976;24:16-18.
- Rao SK, Lekha T, Mukesh BN, Sitalakshmi G, Padmanabhan P. Conjunctival-limbal autografts for primary and recurrent pterygia: techniques and results. *Indian J Ophthalmol* 1998;46:203-209.
- Ratnakar KS, Goswamy V, Agarwal LP. Mast cells and pterygium. *Acta Ophthalmol* 1976;54:363-368.
- Roit – Bonstoff – Male. *Immunology*. 5th edition. London Philadelphia St Louis Sydney Tokyo: Mosby 1984.
- Rosenthal JW. Chronology of pterygium therapy. *Am J Ophthalmol* 1953;36:1601.
- Ross W. Dennis. The Human Genome: Information, Content and Structure. *Molecular Medicine for Clinicians* 1999: 19-65.
- Sasaki H, Asano K, Kojima M, Sakamoto Y, Kasuga T, Nagoda M, Takahashi N, Sasaki K, Ono M, Katoh N. Epidemiological survey of ocular diseases in K island, Amami islands: prevalence of cataract and pterygium. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1999;103:556-563.
- Saw SM, Tan D. Pterygium: prevalence, demography and risk factors. *Ophthalm Epidemiol* 1999;6:219-228.
- Saw SM, Banerjee K, Tan D. Risk factors for the development of pterygium in Singapore: a hospital case-control-study. *Acta Ophthalmol Scand* 2000;78:216-220.
- Schmid KW, Ellis IO, Gee J, Darke B, Lees W, Kay J, Cryer A, Stark JM, Hittmair A, Ofner D, Dunser M, Margreiter R, Daxenbichler G, Nicholson RI, Bier B, Jasani B. Presence and possible significance of immunohistochemically demonstrable metallothionein over-expression in primary invasive ductal carcinoma of the breast. *Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histopathology* 1993;422:153-159.
- Schreiter. Cited by Merigot de Treigny & Coirre 1872.
- Schröder S, Schwartz W, Rehpenning W, Löning T, Böcker W. Dendritic / Langerhans cells and prognosis in patients with papillary thyroid carcinomas. *Am J Clin Pathol* 1988;89:295-300.
- Sedan J. Sur le Ptérygion – Ptérygion et Trachome. *Marseille Med* 1932;69II:365-366.
- Seifert P, Secundo W. Capillaries in the epithelium of pterygium. *Br J Ophthalmol* 1998;82:77-81.
- Serrano F. Plastia conjunctival libre en la cirugía del pterygion *Arch Soc Amer Oftalm Optom* 1977;2:12-97.
- Sevel D, Sealy R. Pterygia and Carcinoma of the conjunctiva. *Trans Ophthalm Soc UK* 1968;88:567-578.
- Shimmura S, Ishioka M, Hanada K, Shimazaki J, Tsubota K. Telomerase activity and p53 expression in pterygia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1364-1369.
- Sinopoli. Pterygium in the Coal Miners of the Rio Turbio. *Arch Ophthalmol B. Aires* 1969;44:427-432.
- Sivakumar M, Liu YP, Tan DTH. Impression cytology in pterygium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:543.



- Sliney DH. Geometrical assessment of ocular exposure to environmental UV radiation – implications for ophthalmic epidemiology. *J Epidemiol* 1999;9:22-32.
- Solomon AS. Immunologic basis for the pathogenesis of pterygium. *Am J Ophthalmol* 1985;99:216-217.
- Sorsby A. *Modern Ophthalmology*. London: Butterworths 1972.
- Starck T, Kenyon K, Serrano F. Conjunctival autograft for primary and recurrent pterygia. *Cornea* 1991;10:196-202.
- Sugar HS. A surgical treatment for pterygium based on new concepts as to its nature. *Amer J Ophthal* 1949;32:912-916.
- Sunardhi-Widyaputra S, Vanden Oord JJ, Van Houdt K, Deley M, Van Damme B. Identification of Metallothionein and Parathyroid Hormone-related Peptide (PTHrP) – Positive Cells in Salivary Gland Tumors. *Path Res Pract* 1995;191:1092-1098.
- Takahashi S, Pearse AD, Marks R. The acute effects of ultraviolet-B radiation on c-myc and c-Ha ras expression in normal human epidermis. *J Dermatol Sci* 1993;6:165-171.
- Takeshi I, Takahisa Y, Keunsik P, Taesung I, Noriyuki T, Kiyoshi O. Evaluation of proliferating cells in acute leukemia with antibodies to proliferating cell nuclear antigen and Ki67 monoclonal antibodies. *Arch Pathol Lab Med* 1993;117:969-972.
- Talu H, Tasindi E, Ciftci F, Vildiz TF. Excimer laser phototherapeutic keratectomy for recurrent pterygium. *J Cataract Refract Surg* 1998;24:1326-1332.
- Tan D, Chee S, Dear K, Lim A. Effect of pterygium morphology on pterygium recurrence in a controlled trial comparing conjunctival autografting with bare sclera excision. *Arch Ophthalmol* 1997a;115:1235-1240.
- Tan DT, Lim AS, Goh HS, Smith DR. Abnormal expression of the p53 tumor suppressor gene in the conjunctiva of patients with pterygium. *Am J Ophthalmol* 1997b;123:404-405.
- Tan D. Conjunctival grafting for ocular surface disease. *Curr Opin Ophthalmol* 1999;10:277-281.
- Tan DT, Tang WY, Liu YP, Goh HS, Smith DR. Apoptosis and apoptosis related gene expression in normal conjunctiva and pterygium. *Br J Ophthalmol* 2000;84:212-216.
- Tang FC, Chen SC, Lee HS, Lin WF, Chou MC, Lee MC. Relationship between pterygium, pinguecula and sunlight exposure among postmen in central Taiwan. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih* 1999;62:496-502.
- Taylor H. Ocular effects of UV-B exposure. *Documenta Ophthalmologica* 1995;88:285-293.
- Tenkate TD. Occupational exposure to ultraviolet radiation: a health risk assessment. *Rev Environ Health* 1999;14:187-209.
- Theobald S. The pathogenesis of pterygium. *Ophthal* 1887;6:277.
- Thornalley PJ, Vasak M. Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. *Biochim Biophys Acta* 1985;827:36-44.
- Threffal TJ. Sun exposure and pterygium of the eye: a dose – response curve. *Am J Ophthalmol* 1999;128:280-287.
- Ti SE, Chee SP, Dear KB, Tan DT. Analysis of variation in success rates in conjunctival autografting for primary and recurrent pterygium. *Br J Ophthalmol* 2000;84:385-389.



- Todd I, Pujol-Borrel R, Hammond LJ, Bottazzo GF, Feldmann M. Interferon gamma induces HLA-DR expression in thyroid epithelium. *Clin Exp Immunol* 1985;61:265-273.
- Treacher – Collins E. Changes in the visual organs correlated with the adoption of arboreal life and with the assumption of the erect posture. *Trans Ophthal Soc UK* 1921;41:10-90.
- Vastine D, Steward W, Schwab I. Reconstruction of the periocular mucous membrane by autologous conjunctival transplantation. *Ophthalmology* 1982;89:1072-1081.
- Weidner N, Moore D, Vartanian R. Correlation of Ki67 antigen expression with mitotic figure index and tumor grade in breast carcinomas using the novel “paraffin”-reactive MIB1 antibody. *Human Pathology* 1994;25:337-342.
- Wilson S, Bourne W. Conjunctival Z-Plasty in the treatment of pterygium. *Am J Ophthalmol* 1988;106:355-357.
- Winther. Cited by Poncet (1856), cited by Merigot de Treigny & Coirre (1866).
- Wong WW. A hypothesis on the pathogenesis of pterygium. *Ann Ophthalmol* 1978;10:303.
- Woo E, Lazo J. Neocytoplasmic functionality of Metallothionein. *Cancer Research* 1997;57:4236-4241.
- Wood D, Klein E, Fair W, Chaganti RSK. Metallothionein Gene expression in Bladder cancer exposed to cisplatin. *Modern Pathology* 1993;6:33.
- Zelger B, Hittmair A, Schir M, Ofner C, Ofner D, Fritsch PO, Bocker W, Jasani B, Schmid W. Immunohistochemically demonstrated metallothionein expression in malignant melanoma. *Hisopathology* 1993;23:257-264.
- Zhang JD. An investigation of aetiology and heredity of pterygium. *Acta Ophthalmol* 1987;65:413-416.

