

ΑΠΟ ΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΟΣΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΕΘΝΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΚΑΡΚΙΝΟΥ (NCI)
ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΥΓΕΙΑΣ (N.I.H.) ΤΩΝ Η.Π.Α.
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Δρ. MICHAEL A. CHIRIGOS

ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ Μ. ΜΟΥΤΣΟΠΟΥΛΟΣ

ΧΟΡΙΟΝΙΚΗ ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΠΙΝΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΥΗΣΗ

ΥΠΟ
ΒΑΣΙΛΕΙΟΥ ΠΑΠΑΔΗΜΗΤΡΙΟΥ
ΙΑΤΡΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

BETHESDA MARYLAND U.S.A. 1980



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000345646



ΑΠΟ ΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΟΣΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΕΘΝΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΚΑΡΚΙΝΟΥ (NCI)

ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΥΓΕΙΑΣ (N.I.H.) ΤΩΝ Η.Π.Α.

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Δρ. MICHAEL A. CHIRIGOS

ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ Μ. ΜΟΥΤΣΟΠΟΥΛΟΣ

ΧΟΡΙΟΝΙΚΗ ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΠΙΝΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΥΗΣΗ

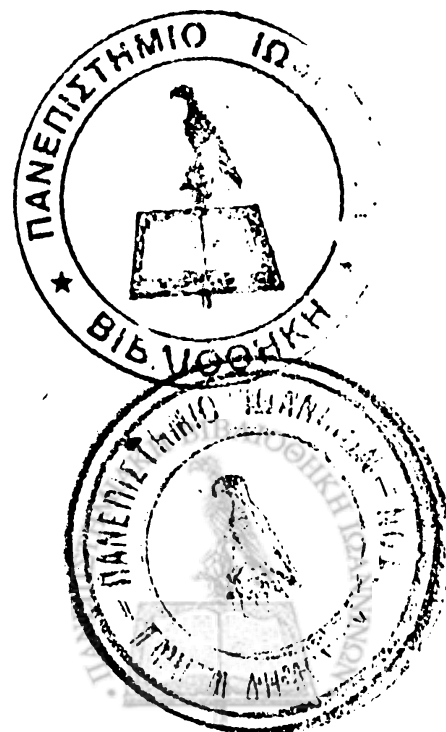
ΥΠΟ

ΒΑΣΙΛΕΙΟΥ ΠΑΠΑΔΗΜΗΤΡΙΟΥ

ΙΑΤΡΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

BETHESDA MARYLAND U.S.A. 1980



ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ

Η έγκρισις διδακτορικής διατριβής υπό της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου
 Ιωαννίνων δέν υποδηλοί άποδοχήν των γνώμων του συγγραφέως.

Βλάσης Γεωργιάδης



ΣΤΗ ΓΥΝΑΙΚΑ ΜΟΥ

**ΣΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ
ΚΑΙ Τ' ΑΔΕΛΦΙΑ ΜΟΥ**



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΤΕΛΕΣ

- Ορισμοί 15
- Αρχές 16

B. ΤΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

- Ποιότητα 17
- Μορφή 17
- Αντικείμενο 18
- Ποιότητα 18
- Αντικείμενο 19
- Φύση 19
- Χαρακτήρες 19
- Ποιότητα 19

C. ΤΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

- Ορισμοί 20
- Αρχές 20
- Μορφή 20
- Αντικείμενο 20
- Ποιότητα 20
- Αντικείμενο 20

ΣΤΟΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗ
ΧΑΡΑΛΑΜΠΟ ΜΟΥΤΣΟΠΟΥΛΟ

D. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΑΡΑΤΕΛΕΣ

- Ορισμοί 21
- Αρχές 21

E. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΑΡΑΤΕΛΕΣ

- Ορισμοί 22
- Αρχές 22
- Μορφή 22
- Αντικείμενο 22

II. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΑΡΑΤΕΛΕΣ

- Ορισμοί 23
- Αρχές 23
- Μορφή 23
- Αντικείμενο 23
- Αντικείμενο 23
- Αντικείμενο 23



Π Ε Ρ Ι Ε Χ Ο Μ Ε Ν Α

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	11
----------------	----

Γ Ε Ν Ι Κ Ο Μ Ε Ρ Ο Σ

	Σελίδα
A. ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΑΝΟΣΙΑΣ	15
'Ορισμός αντιγόνου	16
'Ανοσοσφαιρίνες	16
B. ΤΟ ΜΑΚΡΟΦΑΓΟ	
Προέλευση και διασπορά Μακροφάγων	17
Μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος	17
Μορφολογία Μακροφάγου	19
Μεταβολισμός και φυσιολογία	19
Λυσοσώματα	19
Φαγοκυττάρωση	20
Χημειοταξία	21
'Ενεργοποίηση Μακροφάγου	21
Γ. ΤΟ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΟ	
Προέλευση και ώριμανση Λεμφοκυττάρων	24
T - λεμφοκύτταρα	24
Βοηθητικά κύτταρα (Helper Cells)	25
Κυτταροκτόνα κύτταρα (Killer cells), κατασταλτικά κύτταρα (suppressor cells)	25
Λειτουργίες T-λεμφοκυττάρων	26
B-λεμφοκύτταρα	27
Δ. ΑΛΛΗΛΟΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	
Κατασταλτική επίδραση Μακροφάγου επί λεμφοκυτταρικών πληθυσμών	29
Ε. ΚΥΤΤΑΡΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ	
(Natural Killer Cells, NK)	32
Χαρακτηριστικά μεμβράνης	33
'Ενεργοποίηση NK κυττάρων	34
ΣΤ. ΑΝΟΣΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ	
Γενικά	35
'Αντιγονική άνωριμότητα του έμβριου	26
'Ανοσολογικά πλεονεκτική συμπεριφορά της μήτρας	37
'Ανοσολογικά πλεονεκτική συμπεριφορά της συγκυττιοτροφοβλάστης	37
'Ανοσολογική καταστολή της μητέρας κατά τη διάρκεια της κύησης	39



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Πειραματόζωα	47
Θρεπτικά υλικά	47
Καρκινικές σειρές	48
Βιολογικές ουσίες και φάρμακα που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματά μας.....	48

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ

Γενικά	50
Συλλογή περιτοναϊκών μακροφάγων - Δοκιμασία αναστολής πολλαπλασιασμού καρκινικών κυττάρων	50
Απομόνωση σπληνοκυττάρων - Δοκιμασία της δραστηριότητας των ΝΚ κυττάρων	51
Βλαστογένεση	52
Έλεγχος παραγωγής προσταγλανδινών (PG) in - vitro από τα περιτοναϊκά μακροφάγα	54
Αντίδραση υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου	55

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	56
--------------------	----

ΣΥΖΗΤΗΣΗ	80
----------------	----

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	89
--------------------	----

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ	90
----------------------------	----

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	91
--------------------	----



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ἡ διατήρηση τοῦ ἐμβρύου στὴ μήτρα καὶ ἡ πετυχημένη ἔκβαση μιᾶς φυσιολογικῆς κύησης ἀποτελεῖ παράδοξο φαινόμενο. Τὸ ἔμβρυο εἶναι φορέας ἀντιγόνων μεταμόσχευσης τὰ ὁποῖα κληρονομεῖ ἀπὸ τὸν πατέρα καὶ ἔτσι ἀποτελεῖ ἓνα ἀλλομόσχευμα γιὰ τὴν μητέρα. Ὁ μηχανισμὸς μὲ τὸν ὁποῖο τὸ ἔμβρυο κα-
τορθώνει νὰ προστατεύεται ἀπὸ τὸ ἀνοσολογικὸ σύστημα τῆς μητέρας, νὰ ἀποτρέπει ἀνοσολογικὴ ἀπόρριψη καὶ νὰ ἀναπτύσσεται μὲ ἐπιτυχία καθ' ὅλη τὴ διάρκεια τῆς κύησης, δὲν εἶναι γνωστός.

Θεωρίες, ὅπως ἡ ἀνοσολογικὴ ἀνωριμότητα τοῦ ἐμβρύου ἢ ἡ ἀνοσολογικὰ πλεονεκτικὴ συμπεριφορὰ τῆς μήτρας, δὲν φαίνεται νὰ εὐσταθοῦν. Εἶναι πιθανώτερον ὅτι ἡ ἀλήθεια βρίσκεται κάπου μεταξὺ ἀνοσολογικὰ πλεονεκτικῆς συμπεριφορᾶς τῆς τροφοβλάστης καὶ μερικῆς καταστολῆς τοῦ ἀνοσολογικοῦ συστήματος τῆς μητέρας.

Στὴν ἐργασία αὐτὴ διερευνήθηκε ὁ ρόλος τῆς κυτταρικῆς ἀνοσίας στὰ ποντίκια, τόσο μετὰ τὴ χορήγηση χοριονικῆς γοναδοτροπίνης, ὅσο καὶ κατὰ τὴ διάρκεια τῆς κύησης.

Τὸ μακροφάγο θεωρήθηκε σὰν κεντρικὸ κυτταρικὸ στοιχεῖο καὶ ἡ συμβολὴ του στὴν ἐπιβίωση τοῦ ἐμβρύου διερευνήθηκε.

Ἡ ἐργασία αὐτὴ ἐγινε στὸ Ἐθνικὸ Ἰνστιτοῦτο Καρκίνου τῶν Η.Π.Α., κάτω ἀπὸ τὴν ἐπίβλεψη τοῦ Δρ. Michael Chirigos, Section Chief, τοῦ ὁποίου τὴν συμπαράσταση καὶ βοήθεια ἐκτιμῶ βαθύτατα.

Τὸν ἀνοσοβιολόγο Δρ. William Stylos θερμὰ εὐχαριστῶ γιὰ τὴν ὑπόδειξη τῶν τεχνικῶν, τὴν συμπαράσταση καὶ ἐνθάρρυνσή του γι' αὐτὴ τὴν ἐργασία.

Τὸν φίλο Δρ. Νικόλαο Παυλίδη καὶ τὴν συνεργάτιδά Δρ. Anna Bartocci, γιὰ τὴν μὲ τόση προθυμία συζήτηση τῶν ἐπὶ μέρους θεμάτων σ' αὐτὴ τὴ δουλειά, θερμὰ εὐχαριστῶ.

Εὐχαριστῶ ἐπίσης τὴν Δρ. Linda Steel γιὰ τὸν προσδιορισμὸ τῶν προσταγλανδινῶν καὶ τὴν Κα. Μαρία Σαούτη γιὰ τὴν δακτυλογράφηση καὶ ἐπιμέλεια τοῦ κειμένου.

Τέλος, τίς θερμὲς εὐχαριστίες μου θὰ ἤθελα νὰ ἐκφράσω πρὸς τὸν καθηγητὴ κ. Χαράλαμπο Μ. Μουτσόπουλο γιὰ τὴ συμβολὴ καὶ τίς ὑποδείξεις του, γιὰ τὴν παρουσίαση αὐτῆς τῆς ἐργασίας.



ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Τόπος γεννήσεως: Περιστερώνα Κύπρου

Ήμερομηνία γεννήσεως: 20 Γενάρη 1949.

- 1955 - 1961 Φοίτηση στο Δημοτικό Σχολείο Περιστερώνας, Κύπρος.
- 1961 - 1967 Φοίτηση στο Λατίναιο Γυμνάσιο Λεμεσού, Κύπρος.
- 1967 - 1968 Στρατιωτική θητεία στην Κυπριακή Έθνοφρουρά.
- 1968 - 1974 Φοίτηση στην Ίατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Άθηνων.
- 1974 - 1975 Βοηθός στο χημειοθεραπευτικό τμήμα του Έλληνικού Αντι-καρκινικού Ίνστιτούτου «Ο ΑΓΙΟΣ ΣΑΒΒΑΣ».
- 1975 - 1978 Έσωτερικός βοηθός στην Α΄ Παθολογική κλινική του Γενικού Κρατικού Νοσοκομείου Άθηνων.
- 1979 - 1980 Fogarty Visiting Fellow, Laboratory of Chemical Pharmacology, Division of Cancer Treatment, National Cancer Institute, N.I.H. Bethesda Maryland U.S.A.

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. 33ο Συνέδριο της Παθολογικής και Χειρουργικής Έταιρείας Άθηνων, Άπρίλης 1977.
2. 34ο Συνέδριο της Παθολογικής και Χειρουργικής Έταιρείας Άθηνων, Άπρίλης 1978.
3. 71st Annual Meeting of the American Association for Cancer Research and 16th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. San Diego, California: May 28 - 31, 1980.
4. Fourth International Congress of Immunology of the International Union of Immunological Societies (IUIS) Paris - France: July 21 - 26, 1980.

ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ :

1. 1971 - 1972 Ύποτροφία από το Ίδρυμα Κρατικών Ύποτροφιών.
2. 1979 - 1980 Ύποτροφία από το Έθνικό Ίδρυμα Καρκίνου (NCI) των Η.Π.Α.



ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. Μιχαλόπουλος Α., 'Αθανασόπουλος Κ., Χατζηδάκης Γ., Παπαδημητρίου Β και Μαροῦτσος Κ. Πρόπτωση τῆς ὀπισθίας Γλωχίνος τῆς Μιτροειδοῦς σὲ περίπτωση 'Ακρομεγαλίας. 33ο Συνέδριο τῆς Παθολογικῆς καὶ Χειρουργικῆς 'Εταιρείας 'Αθηνῶν, 'Απρίλης 1977.
2. Μιχαλόπουλος Α., Λεκάκης Ι., Παπαδημητρίου Β. καὶ 'Αθανασόπουλος Κ. Παρατηρήσεις κατὰ τὸ Συνέδριο Περιπλανόμενου Βηματοδότου. 34ο Συνέδριο τῆς Παθολογικῆς καὶ Χειρουργικῆς 'Εταιρείας 'Αθηνῶν, 'Απρίλης 1978.
3. Stylos W. A., Chirigos M. A. and Papademetriou V. The Modulatory Effect of Exogenously Added Prostaglandins E or E on the Delayed - Type Hypersensitivity. *J. Immunopharmacol.* 1 (4) : 521 (1979).
4. Stylos W. A., Chirigos M. A., Papademetriou V. and Lauer L. D. : The Immunomodulatory Effect of BM : In-vivo and In-vitro Studies. *J. Immunopharmacol.* 2 (1):113 (1980).
5. Bartocci A., Papademetriou V. and Chirigos M. A. Enhanced Macrophage and Natural killer cell Antitumor Activity by Various Molecular Weight Maleic Anhydride Divinyl Ethers. *J. Immunopharmacol.* 2(1):149 (1980).
6. Papademetriou V., Bartocci A., Stylos W. A. and Chirigos M. A. Augmentation of cytotoxicity by Splenic Cells of Pregnant or Human Chorionic Gonadotropin - Treated Normal Mice. *J. Immunopharmacol.* 2(3): 309 (1980).
7. Papademetriou V. and Stylos W. A. Macrophage Tumoricidal Activation Resulting from Pregnancy or Human Chorionic Gonadotrophin Treatment. (Introduced by J. B. Moloney). 71st Annual Meeting of the American Association for Cancer Research. San Diego California. Proceedings 898 : 224 May 28 - 31 (1980).
8. Bartocci A., Papademetriou V., Stylos W. A. and Chirigos M. A. The Immunologic Reactivity of the Macrophages During Pregnancy. Fourth International Congress of Immunological Societies (IUIS). Paris, France: July 21 - 26 (1980).
9. Chirigos M. A., Papademetriou V., Bartocci A., and Read E. Immunological and tumor responses to Various immunotherapeutic agents. *International J. Immunopharmacol.* (In Press).



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Α. ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΑΝΟΣΙΑΣ

Ἡ ἔννοια τῆς ἀνοσίας περικλείει ἀντίσταση τοῦ ὀργανισμοῦ, ὃχι μόνο σὲ φλεγμονώδεις παράγοντες ἀλλὰ καὶ σὲ ξένα σώματα, τοξίνες, ζωντανὰ κύτταρα καὶ τὸν καρκίνο. Συχνὰ περιλαμβάνει μιὰ διαδικασία καταστροφῆς τοῦ εἰσβολέα, ἡ ἐπιτυχία τῆς ὁποίας στηρίζεται στὴν ἱκανότητα τοῦ ὀργανισμοῦ νὰ ἀναγνωρίζει μὲ διάφορα μέσα ὅτι τὰ ξένα μοριακὰ συμπλέγματα δὲν σχετίζονται μὲ τὴ δική του δομή. Ἡ ἀνοσία μπορεῖ νὰ εἶναι ἐπίκτητη, ἀποτέλεσμα προηγούμενης ἐμπειρίας τοῦ ὀργανισμοῦ μὲ τὴ χημικὴ σύσταση τῆς ξένης οὐσίας ἢ μὴ εἰδική, γενετικὰ καθορισμένα.

Συνηθίζεται ἡ ἀνοσία νὰ διακρίνεται σὲ κυτταρικὴ καὶ χημικὴ.

Ἡ κυτταρικὴ ἀνοσία εἶναι ἰδιαίτερα ἀποτελεσματικὴ ἐνάντια στοὺς μύκητες, παράσιτα, ἐνδοκυττάριας ἰογενεῖς λοιμώξεις, καρκινικὰ κύτταρα καὶ ξένους ἰστούς. Κύτταρα ποὺ παίζουν ρόλο στὴν κυτταρικὴ ἀνοσία εἶναι τὰ Τ-λεμφοκύτταρα, τὰ βασεόφιλα καὶ οὐδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, τὰ μονοκύτταρα στὸ περιφερικὸ αἷμα καὶ τὰ μακροφάγα στοὺς ἰστούς.

Ἡ χημικὴ ἀνοσία προστατεύει κυρίως κατὰ τὴν ἐξωκυττάρια φάση τῶν βακτηριακῶν ἢ ἰογενῶν λοιμώξεων. Στηρίζεται στὸ Β-λεμφοκύτταρο τὸ ὁποῖο μετὰ ἀπὸ ἀντιγονικὸ ἐρεθισμὸ διαφοροποιεῖται σὲ πλασματοκύτταρο καὶ παράγει καὶ ἐκκρίνει ἀντισώματα. Ἡ ἐπίκτητη ἀνοσία εἶναι μιὰ ἀντίδραση προσαρμογῆς σ' ἓνα ἀντιγονικὸ ἐρεθισμὸ, ποὺ ἔχει σὰν ἀποτέλεσμα τὴν ἀπόκτηση ἀνοσολογικῆς μνήμης, τὴν σύνθεση εἰδικὰ ἀντιδρόντων ἀντισωμάτων καὶ τὴ δημιουργία εἰδικὰ δραστικῶν λεμφοκυττάρων.

Ἡ προσαρμοστικὴ ἀνοσία (adaptive immunity) σχετίζεται μὲ τὴ φυλογενετικὴ καὶ ὀντογενετικὴ ἀνάπτυξη τοῦ λεμφικοῦ συστήματος καὶ στὴν τέλειά της ἔκφραση, εἶναι γνῶρισμα μόνο τῶν σπονδυλωτῶν ζώων.

Ἡ ἀνοσολογικὴ ἱκανότητα ἀναπτύσσεται κατὰ τὴν πρώτη νεανικὴ ἡλικία καὶ φθάνει τὴ μέγιστη ἀπόδοση κατὰ τὴν ἐφηβεία. Μὲ τὴ πάροδο τῆς ἡλικίας, ἡ ἀνοσολογικὴ ἐπάρκεια ἀρχίζει νὰ φθίνει μὲ ἀποτέλεσμα



τήν μεγαλύτερη ευαισθησία στις λοιμώξεις. Ἡ ἀνοσία ἢ στηριζόμενη σὲ θυμο-ἐξαρτώμενα λεμφοκύτταρα (T-lymphocytes) φθίνει γρηγορώτερα καὶ σὲ μεγαλύτερο βαθμὸ ἐκείνης ποὺ ἐξαρτᾶται ἀπὸ τὰ Β-λεμφοκύτταρα. Ἡ σύνθεση καὶ κυκλοφορία ἀντισωμάτων, σὰν ἀποτέλεσμα ἀντιγονικοῦ ἐρεθισμοῦ, εἶναι σχετικὰ ἐλλειμματικὴ κατὰ τὴ γεροντικὴ ἡλικία. Τὸ μεγαλύτερο ἐλλείμμα παρατηρεῖται στὴν παραγωγή IgG, ἐνῶ ἡ IgM παραμένει σχετικὰ ἀμετάβλητη.

Ὅρισμός ἀντιγόνου

Σὰν ἀντιγόνο μποροῦμε νὰ ὀρίσουμε κάθε οὐσία ποὺ ἔχει χημικὲς καθοριστικὲς ὁμάδες ἱκανὲς νὰ προκαλέσουν τὴ δημιουργία ἀντισωμάτων, τὰ ὁποῖα ἔχουν ἐξειδικευμένη ἱκανότητα νὰ συνδέονται μὲ τὶς δραστικὲς ὁμάδες τῶν ἀντιγονικῶν μορίων. Ἐνῶ οἱ χημικὰ δραστικὲς ὁμάδες εἶναι σχετικὰ μικρὲς πρέπει νὰ εἶναι μέρος μεγαλύτερου μορίου γιὰ νὰ εἶναι τὸ ἀντιγόνο δραστικό. Οὐσίες μὲ μοριακὸ βάρους (μ.β.) μικρότερο ἀπὸ 5.000 σπάνια προκαλοῦν τὴν παραγωγή ἀντισωμάτων, ἐκτὸς ἀπὸ τὶς ἁπτίνες. Οἱ ἁπτίνες εἶναι χημικὲς οὐσίες μικροῦ μ.β., οἱ ὁποῖες ἀπὸ μόνες τους, δὲν προκαλοῦν τὴν παραγωγή ἀντισωμάτων, ἐνῶ εἶναι ἀντιγονικὰ δραστικὲς ὅταν συνδέονται μὲ μεγαλύτερα μόρια. Οὐσίες μεγάλου μ.β., εἶναι ἀντιγονικὰ δραστικὰ μόρια. Οὐσίες μὲ μ.β. μεγαλύτερο τῶν 500.000, μὲ σύνθετη πρωτεϊνικὴ-ὕδρογονοανθρακικὴ δομὴ ἢ μὲ ἐπαναλαμβανόμενες δομικὲς μονάδες εἶναι δυνατόν νὰ διεγείρουν ἀμέσως τὰ Β-κύτταρα γιὰ τὴν παραγωγή ἀντισωμάτων. Καθαρὲς πρωτεῖνες καὶ καθαροὶ ὕδρογονάνθρακες ἔχουν κατὰ κανόνα φτωχὴ ἀντιγονικὴ δράση.

Σὲ κάθε ἀντιγονικὸ ἐρεθισμό ποικίλες ἀντιδράσεις τοῦ λεμφικοῦ ἱστοῦ μποροῦν νὰ παρατηρηθοῦν, ὅπως, ἀνοχή, ἀνοσολογικὴ μνήμη, ἀνάπτυξη ἐπιβραδυνομένης ὑπερευαίσθησις ἢ ἡ παραγωγή ἀντισωμάτων. Ἡ ὁδὸς χορήγησης παίζει σημαντικὸ ρόλο. Γενικὰ ἡ ἐνδοφλέβια ἢ ἐνδοπεριτοναϊκὴ χορήγηση ἀντιγόνου προκαλεῖ μεγαλύτερη παραγωγή ἀντισωμάτων.

Ἀνοσοσφαιρίνες (Immunoglobulins, Ig.).

Ὁ ὅρος ἀνοσοσφαιρίνη ἔχει υἱοθετηθεῖ γιὰ νὰ περιλάβει ὅλους τοὺς τύπους πρωτεϊνῶν μὲ ιδιότητες ἀντισώματος. Πέντε ξεχωριστὲς ὁμάδες ἀνοσοσφαιρινῶν συναντῶνται στὸν ἄνθρωπο μὲ διαφορετικὴ χημικὴ δομὴ καὶ ἀποτελοῦνται ἀπὸ δύο ἐλαφρὲς (Light, L) πολυπεπτιδικὲς ἀλύσεις, οἱ ὁποῖες μπορεῖ νὰ εἶναι τοῦ τύπου κ ἢ λ καὶ δύο βαρεῖες ἀλύσεις (Heavy, H), οἱ ὁποῖες εἶναι διαφορετικὲς γιὰ κάθε ὁμάδα ἀνοσοσφαιρινῶν. Γιὰ τὸν



σχηματισμό μιᾶς ανοσοσφαιρίνης οἱ δύο Η ἀλύσεις συνδέονται μεταξύ τους μὲ δισουλφιδικοὺς δεσμούς. Οἱ L ἀλύσεις συνδέονται σὲ κάθε μιὰ ἀπὸ τὶς δυὸ Η ἀλύσεις μὲ δισουλφιδικὸν δεσμὸν ἐπίσης. Σὲ κάθε μόριο Ig ὑπάρχουν μόνο κ ἢ λ ἀλύσεις. Ὑβρίδια ποὺ νὰ περιέχουν καὶ τὶς δύο δὲν ὑπάρχουν (1, 2, 3).

Οἱ κυριώτερες ιδιότητες τῶν ανοσοσφαιρινῶν φαίνονται στὸν πίνακα 1.

B. ΤΟ ΜΑΚΡΟΦΑΓΟ (Macrophage, ΜΦ).

Προέλευση καὶ διασπορὰ Μακροφάγων

Τὸ μονοπύρηνον φαγοκύτταρον εἶναι ἓνα ἀπὸ τὰ οὐσιώδη κυτταρικά στοιχεῖα σὲ ὅλα τὰ ζωικά εἶδη ἀπὸ τὸν ἄνθρωπον μέχρι τὴν ἀμοιβάδα, στὴν τελευταία δὲ ἀποτελεῖ τὸν ἴδιον τὸν ὄργανισμό. Τὸ μονοπύρηνον φαγοκύτταρον εἶναι πεπτικὸ κύτταρον σ' ὁλόκληρον τὸ ζωικὸ βασίλειον καὶ ἡ διαδικασία τῆς φαγοκυττάρωσης καὶ ἐνδοκυττάριας πέψης, σ' αὐτὰ τὰ κύτταρα, παρουσιάζει μεγάλες ὁμοιότητες σ' ὅλα τὰ ζωικά εἶδη.

Τὰ μακροφάγα προέρχονται ἀπὸ ἀδιαφοροποίητα μεσεγχυματικά κύτταρα κατὰ τὴν ἀρχὴν τῆς ἐμβρυϊκῆς ζωῆς, ἀργότερα ὅμως ἡ παραγωγή τους ἐντοπίζεται κυρίως στὸν μυελὸ τῶν ὀστέων. Στὸ περιφερικὸ αἷμα ἀπαντῶνται σὰν μονοκύτταρα, ὑπὸ μορφὴν δὲ μακροφάγων ἀπαντῶνται σὲ ὅλους σχεδὸν τοὺς ἰστούς, στὸ ἥπαρ (κύτταρα Küpffer) (18), στοὺς λεμφαδένες, στοὺς πνεύμονες (κυψελιδικὰ ΜΦ) (19), στὸν ἐγκέφαλον (μικρογλιακὰ κύτταρα), στὸν σπλῆνα καὶ τὸν μυελὸ τῶν ὀστέων (16), στὴν ὑπόφυση καὶ τὸν χαλαρὸ συνδετικὸν ἵστόν (21). Τὰ μονοπύρηννα φαγοκύτταρα ὅλων αὐτῶν τῶν ἰστών ἀποτελοῦν τὸ δικτυο-ἐνδοθηλιακὸ σύστημα (ΔΕΣ). Πρόσφατες δημοσιεύσεις κατατάσσουν καὶ τὰ κύτταρα Langerhans τῆς ἐπιδερμίδας στὸ ἴδιον σύστημα (14).

Στὸν μυελὸ τῶν ὀστέων ἡ μονοβλάστη καὶ μυελοβλάστη προέρχονται ἀπὸ τὸ ἴδιον ἀρχέγονον κύτταρον (Stem cell). Ἡ μονοβλάστη ὠριμάζει σταδιακὰ σὲ προμονοκύτταρον καὶ μονοκύτταρον, τὸ ὁποῖον βγαίνει πιά στὸ περιφερικὸ αἷμα (1, 4, 16).

Μονοκύτταρα τοῦ περιφερικοῦ αἵματος

Τὰ μονοκύτταρα, εἶναι μεγάλα μονοπύρηννα κύτταρα καὶ στὸν ἄνθρωπον ἀποτελοῦν 3 - 5 τοῖς ἐκατῶν λευκῶν αἰμοσφαιρίων στὴν περιφέρεια. Ἔχουν μέγεθος 10 - 18 μικρά, κεντρικὸ-βαθυχρωματικὸ-πύρηννα καὶ γκριζοκίανον κυτταρόπλασμα μετὰ ἀπὸ χρώση κατὰ Wright. Περιέχουν ποικίλο



ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Ίδιότητες άνοσοσφαιρινών.

	Συγκέντρωση πλάσματος Mg/ml	MB	Κατά προ- σέγγιση σταθερά καθίζησης	M.B. των Η άλύσεων	Ήλεκτρο- φορετική κινητικό- τητα	Χρόνος ήμισιας ζωής (μέρες)	Βιολογικές ιδιότητες
IgG	8 - 14	150.000	7S	55.000	γ	23	Ένεργοποιεί το συμπλήρωμα, αντιδρά με τόν ρευματοειδή παράγοντα, ευαισθητοποιεί το δέρμα ίνδικου χοιριδίου, μεταφέρεται ενεργη- τικά μέσα από τόν πλακούντα στο έμβρυο, παράγεται σάν τελική άπόκριση σέ αντιγονικό έρεθισμό.
IgM	0.6 - 2.0	900.000	19S	65.000	β ₂ M	10	Συνδέει το συμπλήρωμα. Δέν μεταφέρεται διά τοδ πλακοδντος. Παράγεται σάν πρώτη αντί- δραση σέ αντιγονικό έρεθισμό.
IgA	0.1 - 3.0	160.000	7S	57.000	β ₂ A	5.8	Δέν ενεργοποιεί το συμπλήρωμα παράγεται άπό έκκριτικά όργανα (σίελος, βλέννη, πρω- τόγαλα). Δέν μεταφέρεται διά τοδ πλακοδντος.
IgE	0.00004	190.000	8S	72.000	γ	2.3	Ευαισθητοποιεί το άνθρωπίνο δέρμα, λεμφο- κύτταρα, και άλλα κύτταρα. Δέν μεταφέρεται διά μέσου πλακοδντος. Δυνατόν νά έχει ση- μαντικό ρόλο στήν άμυνα τοδ άναπνευστικού συστήματος.
IgD	0.03	180.000	7S	63.000	γ	2.8	Άγνωστη βιολογική δράση.



ἀριθμὸ ἀζουρόφιλων κοκκίων καὶ στὸ ἠλεκτρονικὸ μικροσκόπιο ἡ συσκευὴ Golgi φαίνεται ἀρκετὰ ἀναπτυγμένη. Μιτοχόνδρια διακρίνονται σ' ὅλο τὸ κυτταρόπλασμα. Τὰ κύτταρα αὐτὰ ἔχουν ἀναπτυγμένη τὴ φαγοκυτταρική ἱκανότητα καὶ διαθέτουν μεμβρανικοὺς ὑποδοχεῖς γιὰ τὴ IgG καὶ τὸ συμπλήρωμα (C) (20). Τὰ μονοκύτταρα ἔχουν σχετικὰ βραχὺ χρόνον κυκλοφορίας στὸ αἷμα, ποὺ κυμαίνεται γύρω στὶς τρεῖς μέρες. Ὑπάρχει ἡ κυκλοφοροῦσα δεξαμενὴ καὶ ἡ προσκολλημένη στὰ τοιχώματα τῶν ἀγγείων δεξαμενὴ. Ἡ δευτέρη εἶναι τρεῖς περίπου φορές μεγαλύτερη ἀπὸ τὴ πρώτη (1). Μετὰ τὴ διαπήδηση ἀπὸ τὸ τοίχωμα τῶν ἀγγείων τὰ μονοκύτταρα μπαίνουν στοὺς διάφορους ἰστούς ὅπου ὠριμάζουν σὲ μακροφάγα καὶ ἐπιζοῦν ἀπὸ ἀρκετὲς μέρες (5) μέχρι ἀρκετὰ χρόνια (1).

Πρόσφατα ἔχει διατυπωθεῖ ἡ ἄποψη ὅτι ὑπάρχουν διαφοροὶ ὑποπληθυσμοὶ ΜΦ, μὲ διαφορετικὸ βαθμὸ διαφοροποίησης ὠρίμανσης καὶ λειτουργικῆς δραστηριότητος (17).

Μορφολογία Μακροφάγου

Τὰ ΜΦ τῶν ἰστῶν εἶναι μεγαλύτερα ἀπὸ τὰ μονοκύτταρα. Ἔχουν διάμετρο 20 - 80 μικρά καὶ στὸ κυτταρόπλασμά τους περιέχουν ἔγκλειστα σωματίδια ἢ μεγάλα κυτταροπλασματικὰ κοκκία. Στὸ καλὰ ἀναπτυγμένο ἐνδοπλασματικὸ δίκτυο συνθέτονται τὰ ἐνζυμα τοῦ ΜΦ καὶ στὴ συσκευὴ Golgi σχηματίζονται τὰ πρωτογενῆ λυσοσώματα.

Τὸ ἐνεργοποιημένο ΜΦ διαφέρει μορφολογικὰ ἀπὸ τὸ ἀδρανὲς ΜΦ. Μετὰ τὴν ἐπίδραση κάποιου ἐνεργοποιητικοῦ παράγοντα, ἐπιμηκύνεται, αὐξάνει σὲ μέγεθος, προβάλλει ψευδοπόδια καὶ στὸ κυτταρόπλασμά του ἐμφανίζονται πολλὰ καὶ μεγάλα κενोटόπια (6). Τὸ ἐνεργοποιημένο ΜΦ ἐμφανίζει ψηλότερο ἐπίπεδο ὕδρολυτικῶν ἐνζύμων, μεγαλύτερη ἱκανότητα γιὰ φαγοκυττάρωση καὶ καταστροφή βακτηριδίων καὶ κακοήθων κυττάρων.

Μεταβολισμὸς καὶ φυσιολογία

Ἡ γλυκόλυση εἶναι ἡ κύρια πηγὴ ἐνέργειας γιὰ τὰ μονοκύτταρα καὶ ΜΦ τῶν ἰστῶν, ἐκτὸς ἀπὸ τὰ κυψελιδικὰ ΜΦ ποὺ φαίνεται ὅτι χρησιμοποιοῦν ἀερόβιο μεταβολισμό (1).

Λυσοσώματα

Ὅπως ἀναφέρθηκε προηγουμένα, τὰ ἐνζυμα τῶν λυσοσωμάτων συνθέτονται στὸ ἐνδοπλασματικὸ δίκτυο καὶ παίρνουν μορφή πρωτογενῶν λυσοσωμάτων στὴ συσκευὴ Golgi. Αὐτὰ τὰ πρωτογενῆ λυσοσώματα συνε-



νώνονται για να σχηματίσουν τα δευτερογενή λυσοσώματα, που είναι ισόδυναμα με τα άζουρόφιλα κοκκία.

Μετά τη φαγοκυττάρωση ξένου σώματος τα δευτερογενή λυσοσώματα συνδέονται με τα φαγοσώματα για να σχηματίσουν φαγολυσοσώματα, στα όποια έπιτελείται ή ένδοκυτταρική πέψη. Τα κυψελιδικά ΜΦ έμφανίζονται να έχουν μεγαλύτερη ένζυματική δραστηριότητα από τα περιτοναϊκά ΜΦ, τα μονοκύτταρα ή τα κύτταρα Kúpflet.

Στόν υπερθυρεοειδισμό ή ένζυματική δραστηριότητα τών ΜΦ είναι αύξημένη. Τα κυριώτερα από τα ένζυμα τών λυσοσωμάτων φαίνονται στόν πίνακα 2.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Λυσοσωματικά ένζυμα μακροφάγου (12).

καθεψίνες	βήτα γλυκοσιδάση
πρωτεάσες	βήτα γαλακτουρονιδάση
περοξειδάσες	λυσοςύμη
άρυλ-σουλφατάση	ύαλουρονιδάση
δξίνη φωσφατάση	μυελοπεροξειδάση
έστεράσες	διάφορες λιπάσες

Φαγοκυττάρωση

Είναι ή διαδικασία εκείνη κατά την όποία τό φαγοκύτταρο προσλαμβάνει διάφορες ούσιες, που μπορεί να είναι συμπλέγματα αντιγόνου-αντισώματος, τμήματα κυττάρων, ίοι και ζωϊκά κύτταρα (1, 7). Για να πραγματοποιηθεί φαγοκυττάρωση, πρέπει τό ύλικό να αναγνωριστεί σάν ξένο πρós τόν όργανισμό, φθαρμένο ή κατασραμμένο. Μετά τήν αναγνώριση τό ξένο σωμα έγκυστώνεται από τή μεμβράνη τοϋ φαγοκυττάρου και μεταφέρεται στό κυτταρόπλάσμα του. Τό έγκυστομένο μόρφωμα καλείται πιά φαγόσωμα. Μετά τή φαγοκυττάρωση αρχίζει ή διαδικασία τής ένδοκυττάριας πέψης. Η μεμβράνη τοϋ φαγοσώματος συνενώνεται με τή μεμβράνη κυτταρικών λυσοσωμάτων με αποτέλεσμα τή μεταφορά τών ύδρολυτικών ένζύμων στό φαγόσωμα. Ο νέος σχηματισμός όνομάζεται φαγολυσόσωμα και σ' αυτό έπιτελείται ή αποδόμηση τοϋ σωματιδίου ή βακτηριδίου που φαγοκυτταρώθηκε. Παρ' όλα αυτά ή φαγοκυττάρωση ενός βακτηριδίου δέν συνεπάγεται πάντοτε και τήν θανάτωσή του. Πολλά από αυτά μπορούν να έπιβιώσουν στό κυτταρόπλάσμα τών φαγοκυττάρων για μακρές περιόδους, σάν ένδοκυττάρια παράσιτα. Σ' αυτή τήν ομάδα μικροοργανισμών περιλαμβάνονται πολλοί τύποι μυκήτων, κοκοβακτηρίδια, σαλ-



μονέλλες, βρουκέλλες και κιστέριες. Κάτω από ειδικές συνθήκες και άλλα βακτηρίδια, όπως ο σταφυλόκοκκος και ο πνευμονιόκοκκος μπορούν να επιβιώσουν σαν ενδοκυττάρια παράσιτα.

Ένας αριθμός από παράγοντες μπορεί να επηρεάσει την φαγοκυττάρωση, όπως η φυσική και χημική κατάσταση του περιβάλλοντος, η λειτουργική ακεραιότητα του φαγοκυττάρου, η παρουσία όψωνινών και η χημική σύνθεση της μεμβράνης του ξένου σώματος.

Χημειοταξία

Τα μονοκύτταρα και τα ΜΦ έχουν την ικανότητα να μετακινούνται μέσω των ιστών για να συμβάλουν στις άμυντικές διεργασίες του οργανισμού. Η κατευθυνόμενη μετακίνηση, ή εξαρτώμενη από κάποιο χημικό έρέθισμα καλείται χημειοταξία. Η χημειοταξία είναι ενεργητική λειτουργία και απαιτεί την κατανάλωση οξυγόνου. Στο εργαστήριο μελετάται συνήθως στους θαλάμους Boyden.

Την χημειοταξία του ΜΦ μπορούν να διεγείρουν πολλοί παράγοντες, όπως προϊόντα του 5ου παράγοντα του συμπληρώματος (C5a) φρέσκος όρρος και πλάσμα, χημειοτακτικός παράγοντας έκκρινόμενος από λεμφοκύτταρα (LPCF) και προϊόντα βακτηριδίων (3, 7). Έλλάττωση της χημειοταξίας στα μονοκύτταρα -ΜΦ, έχει περιγραφεί σε διάφορα νοσήματα με ανοσολογικό έλλειμμα, όπως το σύνδρομο Wiskott - Aldrich και η βλεννογονο-δερματική μονιλλίαση. Πολλοί άρρωστοι με καρκίνο διαφόρων οργάνων, όπως πνεύμονα, μαστού, παχέος εντέρου, προστάτη και νεφρού, εμφανίζουν ελάττωμένη χημειοταξία ΜΦ.

Ένεργοποίηση Μακροφάγου

Ο όρος ένεργοποιημένο (activated) ΜΦ χρησιμοποιήθηκε από τον Mackaness γύρω στο 1960 για να περιγράψει την αυξημένη βακτηριοκτόνο δράση του ΜΦ, από ζώα με επίκτητη ανοσοποίηση ενάντια σε λοιμώξεις με δυνητικά ενδοκυττάρια βακτηρίδια. Ο όρος ένεργοποιημένο δόθηκε για να περιγράψει κυρίως την εμφάνιση του ΜΦ. Τα ένεργοποιημένα ΜΦ παρουσιάζουν ανώμαλη παρυφή, μεγάλη ικανότητα προσκόλλησης και διάτασης, αυξημένη ικανότητα για φαγοκυττάρωση και μεγάλη αύξηση των ενδοπλασματικών κοκκίων (λυσοσσωμάτων). Ιδιαίτερη σημασία δόθηκε στην ικανότητα του ένεργοποιημένου ΜΦ να αναγνωρίζει και να καταστρέφει συγγενή νεοπλασματικά κύτταρα. Η κυτταροτοξική αυτή ικανότητα του ΜΦ χρησιμοποιήθηκε στο εργαστήριο σαν δείκτης του βαθμού ένεργοποίησης του ΜΦ (8).



Ὁ δρος ἐνεργοποιημένο ΜΦ κρίθηκε ἀνεπαρκές γιά τήν περιγραφή ὅλων τῶν μεταβολῶν ποῦ παρατηροῦνται στό ΜΦ κάτω ἀπό διάφορες συνθήκες. Παρατηρήθηκε π.χ. ὅτι ΜΦ ποῦ προέρχονταν ἀπό ποντίκια στά ὁποῖα εἶχε προηγούμενα ἐνεθεῖ θειογλυκόλη (Thioglycolate) εἶχαν ὅλα τὰ μορφολογικά χαρακτηριστικά ἐνεργοποιημένου ΜΦ, χωρίς ὅμως νά παρουσιάζουν σημαντική κυτταροτοξική ἱκανότητα. Ἐτσι ἐγινε λόγος γιά διεγερμένο (Stimulated) ΜΦ, ὀπλισμένο (armed) ΜΦ καί ἐνεργοποιημένο (activated) ΜΦ.

Σήμερα οἱ ὅροι αὐτοί τείνουν νά ἐγκαταλειφθοῦν καί ἡ διάκριση γίνεται μέ βάση τήν ἐνεργειακή κατάσταση τοῦ ΜΦ. α) Βασική δραστηριότητα τοῦ ἡρεμοῦ ΜΦ, β) ἐλαφρά αὐξημένη δραστηριότητα τοῦ ΜΦ μετά ἀπό ἐνεση θειογλυκόλης, καζεΐνης ἢ ὀρυκτελαίου, γ) ἐνεργοποίηση ΜΦ μέ ὅλα τὰ μορφολογικά καί λειτουργικά χαρακτηριστικά ποῦ περιγράψαμε πῶς πάνω (20).

Συμπερασματικά ἡ ἐνεργοποίηση τοῦ ΜΦ ἀκολουθεῖται ἐκτός ἀπό τίς μορφολογικές μεταβολές καί ἀπό λειτουργικές, ὅπως ἡ αὐξηση παραγωγῆς ὑδρολυτικῶν ἐνζύμων, ἡ αὐξηση τοῦ μεταβολισμοῦ καί τῆς μεταναστευτικῆς ἱκανότητας τοῦ κυττάρου (9), ἡ αὐξηση παραγωγῆς ATP καί H_2O_2 (10, 16). Ἡ παραγωγή καί ἐκκριση διαφόρων ἄλλων ρυθμιστικῶν παραγόντων εἶναι μιᾶ ἄλλη ἰδιότητα τοῦ ἐνεργοποιημένου ΜΦ. Οἱ κυριώτεροι ἀπό τοὺς παράγοντες αὐτοὺς ἀναφέρονται σέ συντομία παρακάτω.

Ἰντερφερόνη (Interferon, IF).

Ἀναστέλλει, μέ μὴ εἰδικό μηχανισμό, τὸν πολλαπλασιασμό ἰδῶν καί κυττάρων. Αὐξάνει τήν κυτταροτοξικότητα τῶν ΜΦ (6).

Ἐνεργοποιημένο συμπλήρωμα (C).

Ἐνεργοποιεῖ περισσότερο τὰ ΜΦ καί πιθανῶς τὰ λεμφοκύτταρα.

Ἐνδογενὴ πυρογόνα.

Οὐσίες ποῦ δρῶν στό θερμορρυθμιστικὸ κέντρο τοῦ ὑποθαλάμου καί προκαλοῦν ἄνοδο τῆς θερμοκρασίας.

Διεγερτικὸς παράγοντας κοκκιοκυτταρικῆς σειρας (Colony Stimulating Factor, CSF).

Εἶναι γλυκοπρωτεΐνη μέ μ.β. 45.000 καί ἐλέγχει τήν παραγωγή κοκκιοκυττάρων ἀπὸ τὸν μυελὸ τῶν ὀστέων.

Θρομβοπλαστίνη τῶν ἱστέων.

Παίξει ρόλο στὴν ἐνδαγγειακὴ πήξη καί σέ τοπικὲς θρομβώσεις.



Διεγερτικός παράγοντας πλασμινογόνου (Plasminogen Activator).

Όδηγεί στον σχηματισμό πλασμίνης, που αποδομεί το ίνωσηδες και ανταγωνίζεται τη δράση της θρομβοπλαστίνης (15).

Προσταγλανδίνες (Prostaglandins, PG).

Παράγονται από το άραχιδονικό όξύ, αυξάνουν το κυκλικό AMP, προκαλούν αγγειοδιαστολή σε φλεγμαίνουσες περιοχές και αποτελούν πιθανότατα κατασταλτικό μηχανισμό για τα λεμφοκύτταρα (11).

Παράγοντας ενεργοποίησης λεμφοκυττάρων (Lymphocyte Activating Factor, LAF), αυξάνει τη δράση των Τ-Λεμφοκυττάρων.

Παράγοντας ενεργοποίησης Β-λεμφοκυττάρων (B-lymphocyte Activating Factor, BAF), αυξάνει την παραγωγή αντισωμάτων από τα Β-λεμφοκύτταρα (12, 13).

Είναι γενικά παραδεκτό σήμερα ότι τα φυσιολογικά, αδρανή περιτοναϊκά ΜΦ είναι τελείως ανίκανα να αναστείλουν τον πολλαπλασιασμό καρκινικών κυττάρων ή να εκδηλώσουν οποιαδήποτε κυτταροτοξική δράση.

Το ενεργοποιημένο ΜΦ έχει την ικανότητα να διαχωρίζει τόσο *in-vivo* όσο και *in-vitro* το καρκινικό κύτταρο από το φυσιολογικό και να το καταστρέφει με μη ειδικό ανοσολογικό μηχανισμό.

Οι κυριώτεροι από τους μέχρι σήμερα γνωστούς παράγοντες που ενεργοποιούν τα ΜΦ αναφέρονται στον πίνακα 3 (22 - 28).

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Παράγοντες ικανοί να ενεργοποιήσουν περιτοναϊκά μακροφάγα.

Toxoplasma Condii	Ένδοτοξίνες διαφόρων μικροβίων
Bacillus Calmet Guerin (BCG)	
Corynebacterium Parvum	(Σαλμονέλλας, E. Coli, ψευδομονάδες)
Trichinella spiralis	Αιθερικό εκχύλισμα της Brucella Abortus
Pasteurella	Γλυκάνη (Saccharomyces cerevisiae).
Συμπολυμερή του διβινύλ-αιθέρα	Ίντεφερόνη
και μαλεϊκού ανυδρίτη (πυράνες)	Λεμφοκίνες (MAF, SMAF)
Πολυνουκλεοτίδια (Poly I : C)	Κλάσμα του συμπληρώματος C ₃ b.
Θεϊκή δεξτράνη	



Γ. ΤΟ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΟ

Προέλευση και ώριμανση Λεμφοκυττάρων

Ἡ προέλευση τῶν λεμφοκυττάρων μπορεῖ νὰ ἀναζητηθεῖ στοῦ πολυδύναμο ἀρχέγονο κύτταρο (stem cell), πρῶτα στὸν ἐμβρυϊκὸ σάκκο, ἀργότερα στοῦ ἐμβρυϊκοῦ ἥπαρ καὶ τελικὰ στοῦ μυελὸ τῶν ὀστέων (29).

Παρ' ὅτι τὰ λεμφοκύτταρα προέρχονται ἀπὸ κοινὸ ἀρχέγονο κύτταρο, ὑπάρχουν σαφεῖς ἐνδείξεις ὅτι ὠριμάζουν σὲ δύο διαφορετικὰ λεμφικὰ συστήματα κάτω ἀπὸ τὴν ἐπίδραση σημάτων ἀπὸ τὸ μικροπεριβάλλον τους στὴν ἀρχὴ τῆς ἐξέλιξης. Τὰ πρῶτα συμπεράσματα, γιὰ τὴν ὠρίμανση καὶ διαφοροποίηση τῶν λεμφοκυττάρων, βγῆκαν ἀπὸ μελέτες ποὺ ἔγιναν σὲ κοτόπουλα καὶ ἐπιβεβαιώθηκε ἡ συμμετοχὴ τοῦ θύμου ἀδένα καὶ τοῦ θηλάκου τοῦ Fabricius (Bursa of Fabricius) στὴν διαφοροποίηση τοῦ λεμφικοῦ συστήματος. Οἱ μελέτες αὐτὲς ἔδειξαν τὴν ὑπαρξὴ δύο ξεχωριστῶν λεμφικῶν σειρῶν, ἀπὸ τίς ὁποῖες ἡ πρώτη ὠριμάζει κάτω ἀπὸ τὴν ἐπίδραση τοῦ θύμου ἀδένα καὶ καλεῖται T - λεμφοκυτταρικὴ σειρά, ἐνῶ ἡ δευτέρη ἐξαρτᾶται ἀπὸ τὸν θήλακο τοῦ Fabricius καὶ χαρακτηρίζεται ὡς B-λεμφοκυτταρικὴ σειρά.

Ὁ θήλακος τοῦ Fabricius δὲν συναντᾶται στὸν ἄνθρωπο. Πιστεῖται ὅτι τὴν λειτουργία του ὑποκαθιστᾷ τὸ ἥπαρ καὶ πιθανώτατα ὁ μυελὸς τῶν ὀστέων. Στους ἐνήλικες ὑπάρχει συνεχὴς μεταφορὰ λεμφοκυττάρων ἀπὸ τὴν αἱματικὴ κυκλοφορία στοὺς ἰστούς καὶ στοὺς λεμφικοὺς σχηματισμοὺς καὶ πάλι πίσω στὴν κυκλοφορία. Ἡ ἐπανακυκλοφορία τῶν B-λεμφοκυττάρων εἶναι βραδύτερη ἀπὸ ἐκείνη τῶν T-λεμφοκυττάρων (1).

T - λεμφοκύτταρα

Τὰ T-λεμφοκύτταρα, στοὺς ἐνήλικες, προέρχονται ἀπὸ τὸν μυελὸ τῶν ὀστέων. Σὰν προγονικὸ κύτταρο ἔχουν τὸ κοινὸ ἀρχέγονο κύτταρο (Stem cell) ἀπὸ τὸ ὁποῖο προέρχονται ὅλες οἱ κυτταρικὲς σειρὲς τοῦ αἱμοποιητικοῦ. Τὰ T-λεμφοκύτταρα ὠριμάζουν, ὅπως λέχθηκε πρὶν πάνω, στὸν θύμο ἀδένα. Ὁρμονικοὶ παράγοντες, ὅπως ἡ θυμοσίνη καὶ ἡ θυμοποιητίνη φαίνεται ὅτι παίζουν σημαντικὸ ρόλο σ' αὐτὴ τὴν διεργασία (3).

Ἀμέσως μετὰ τὴν εἴσοδο στὸν θύμο ἀδένα, ἀπὸ τὴν κυκλοφορία, τὰ πρό-T-κύτταρα παίρνουν πληροφορίες γιὰ τὴ δημιουργία μεμβρανικῶν μορίων, ποὺ εἶναι χαρακτηριστικὰ γιὰ τὰ T-λεμφοκύτταρα. Τὰ μόρια αὐτὰ ἀποτελοῦν ἀντιγόνα μεμβράνης καὶ μερικὰ ἀπὸ αὐτὰ χρησιμοποιήθηκαν γιὰ τὸν χαρακτηρισμὸ τῶν ὑποπληθυσμῶν τῶν T-λεμφοκυττάρων (2, 29).

Στὰ ποντίκια, ὅπου οἱ μελέτες εἶναι πρὶν πάνω, τὰ ἀντιγόνα αὐτὰ



έχουν χαρακτηριστεί με ειδικούς αντιορρούς. Το TL αντιγόνο ανευρίσκεται στα θυμοκύτταρα, εξαφανίζεται όμως στα περιφερικά T-λεμφοκύτταρα. Λευχαιμικά T-κύτταρα στην περιφέρεια μπορεί να είναι TL⁺ (29).

Το Thy-1 ή Θ αντιγόνο είναι γλυκοπρωτεΐνη, ανευρίσκεται στα θυμοκύτταρα, στα περιφερικά T-λεμφοκύτταρα και στα έγγεφαλικά κύτταρα (1).

Τα Ly αντιγόνα ανευρίσκονται μόνο στα T-λεμφοκύτταρα. Τα κύτταρα με φαινότυπο Thy-1+Ly2, 3- αποτελούν τον υποπληθυσμό των βοηθητικών T-κυττάρων (T-Helper cells), ενώ με φαινότυπο Thy-1+Ly1-Ly2, 3+ αποτελούν τους υποπληθυσμούς των κατασταλτικών T-κυττάρων (T-suppressor cells) και των κυτταροκτόνων κυττάρων (killer cells). Μια τρίτη κατηγορία κυττάρων με αντιγόνα μεμβράνης Ly1+ 2+ 3+ πιθανότατα αποτελεί την υποομάδα των άωρων κυττάρων, ή όποια δίνει γένεση στις δύο προηγούμενες ομάδες. Δεν έχει παρατηρηθεί μετατροπή βοηθητικών σε κατασταλτικά κύτταρα ή αντίθετα (30, 31).

Βοηθητικά κύτταρα (Helper Cells)

Είναι T-λεμφοκύτταρα, που έχουν την ικανότητα να βοηθούν τη δράση των B ή άλλων T-κυττάρων, μέσα από αντιγονικά ειδικές αντιδράσεις και να αποκρίνονται στα θυμοεξαρτώμενα αντιγόνα.

Τα βοηθητικά T-κύτταρα απελευθερώνουν, μετά από έπαφή με ειδικό αντιγόνο, κάποιο παράγοντα, ο οποίος μαζί με το αντιγόνο, προκαλεί την παραγωγή αντισωμάτων από τα B-λεμφοκύτταρα. Η ικανότητα των βοηθητικών T-λεμφοκυττάρων να διεγείρουν άλλα T-κύτταρα έχει τεκμηριωθεί στην περίπτωση της ανοσολογικής αντίδρασης κατά του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) (39).

Κυτταροκτόνα κύτταρα (Killer cells), κατασταλτικά κύτταρα (suppressor cells).

Τα κυτταροκτόνα κύτταρα φυσιολογικά χρειάζονται την μεσολάβηση των βοηθητικών κυττάρων. Για την καταστροφή των κυττάρων στόχων είναι απαραίτητη ή άμεση έπαφή κυττάρου με κύτταρο. Ένα κυτταροκτόνο κύτταρο μπορεί να σκοτώσει πολλά κύτταρα στόχους (31).

Τα κατασταλτικά T-κύτταρα δρουν μέσα από αντιγονικά-ειδικούς παράγοντες, που φαίνεται ότι άδρανοποιούν τα ανάλογα βοηθητικά κύτταρα. Δεν υπάρχουν στοιχεία που να αποδεικνύουν άμεση κατασταλτική δράση επί των B-κυττάρων (35).



Λειτουργίες T - λεμφοκυττάρων

Τα θυμοεξαρτώμενα λεμφοκύτταρα είναι υπεύθυνα για ένα μεγάλο μέρος από τις λειτουργίες της κυτταρικής ανοσίας (cell mediated immunity). Στις λειτουργίες αυτές περιλαμβάνονται αλλεργικές αντιδράσεις έπιβραδυνομένου τύπου, απόρριψη μοσχεύματος, αντίδραση μοσχεύματος κατά ξενιστού, υπερευαισθησία έξ επαφής, ανοσολογική αναγνώριση, αυτοανοσία και άμυνα κατά του καρκίνου. Μεγάλη είναι ή συνεισφορά των T-λεμφοκυττάρων, επίσης στην πετυχημένη προφύλαξη του οργανισμού από διάφορους παθογενετικούς παράγοντες, όπως ένδοκυττάρια βακτηρίδια, ιούς και μύκητες (33).

Το ισχυρότερο έρέθισμα για την ένεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων φαίνεται ότι είναι ο συνδυασμός κάποιου αντιγόνου με γονιδιακά προϊόντα από το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (Major Histocompatibility complex. MHC). Τα προϊόντα αυτά βρίσκονται στη μεμβράνη των σωματικών κυττάρων και παρουσιάζονται στον κατάλληλο υποπληθυσμό T-λεμφοκυττάρων από ειδικά, για τον σκοπό αυτό, έξοπλισμένα μακροφάγα. Μετά την ένεργοποίηση, τα T-λεμφοκύτταρα κατευθύνουν τη δράση τους όχι μόνο κατά του αντιγόνου, αλλά και κατά μερικών γονιδιακών προϊόντων ιστοσυμβατότητας (H-2 restriction). Τα περισσότερα ανοσολογικά φαινόμενα που συνοδεύουν τη δράση των T-κυττάρων βρίσκονται κάτω από τον H-2 περιορισμό (H-2 restriction).

Αυτό έχει τεκμηριωθεί για T-κύτταρα που συμμετέχουν σε αντιδράσεις κυτταροτοξικότητας, υπερευαισθησίας έπιβραδυνομένου τύπου (DTH), βοηθητική (Helper) ή κατασταλτική (suppressor) λειτουργία. Έ δράση των B-κυττάρων και των NK κυττάρων δέν φαίνεται να έξαρτάται από τον H-2 περιορισμό (34). H-2 ονομάζεται το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας στο ποντίκι, ένω στον άνθρωπο καλείται HLA (34, 36).

Έ σύνδεση αντιγόνου με είδικό υποδοχέα στη μεμβράνη του T-κυττάρου έχει σαν αποτέλεσμα τη διέγερση του λεμφοκυττάρου και μεταξύ άλλων βιολογικών διεργασιών την άπελευθέρωση ούσιών που είναι γνωστές με το όνομα λεμφοκίνες (Lymphokines). Οί περισσότερες απ' αυτές σε συντομία περιγράφονται παρακάτω.

1. Άνασταλτικός παράγοντας μετανάστευσης μακροφάγου (MIF), είναι γλυκοπρωτεΐνη με μ.β. 50.000, είναι πιθανώτατα ταυτόσημος με τον παράγοντα ένεργοποίησης μακροφάγου (MAF).
2. Είδικος παράγοντας όπλίσεως μακροφάγου (SMAF)
Παράγεται από τα T-λεμφοκύτταρα μετά έπαφή με είδικά καρκινικά



άντιγόνα. Ένεργοποιεί τὰ μακροφάγα κατὰ τῶν καρκινικῶν κυττάρων.

3. Χημειοτακτικοὶ παράγοντες (C. F.). Φαίνεται ὅτι ὑπάρχουν ξεχωριστοὶ χημειοτακτικοὶ παράγοντες γιὰ τὰ μακροφάγα, βασεόφιλα, ἡωσινόφιλα καὶ οὐδετερόφιλα κοκκιοκύτταρα.

4. Λεμφοκίνες ποὺ ἐπηρεάζουν τὴ διαβατότητα ἀγγείων σὲ διάφορα ὄργανα.

Παράγοντας διαβατότητας λεμφαδένων (LNPF), παράγοντας διαβατότητας τοῦ θύμου (TPF), παράγοντας ποὺ ἀντιδρᾷ μὲ τὸ δέρμα (SRF) καὶ παράγοντας ἀγγειακῆς διαβατότητας (VPF).

5. Παράγοντας συγκόλλησης αἰμοπεταλίων (PAF). Λεμφοκίνη ποὺ παρεμβαίνει στὸν μηχανισμό πήξης τοῦ αἵματος.

6. Λεμφοκίνες ποὺ ἐπηρεάζουν κύτταρα μεσεγχυματικῆς προέλευσης.

Ὁ παράγοντας ἐνεργοποίησης ὀστεοκλαστῶν (OAF) παράγεται ἀπὸ T-λεμφοκύτταρα μετὰ ἀπὸ ἐνεργοποίηση μὲ ἀντιγόνα ἢ μιτογόνα. Διεγείρει τοὺς ὀστεοκλάστες γιὰ τὴν ἀπορρόφηση καταστραμμένου ὀστοῦ. Πιθανώτατα ὁ OAF παίζει σημαντικὸ ρόλο στὴ παθογένεση τῆς περιοδοντικῆς νόσου, τῆς ὀστεομυελίτιδας καὶ τῆς ρευματοειδοῦς ἀρθρίτιδας.

Μιὰ ἄλλη λεμφοκίνη εἶναι ὁ χημειοτακτικὸς παράγοντας γιὰ τὴν ἰνοβλάστη (LDCF - F).

7. Ἰντερφερόνη (IF).

Παράγεται ἀπὸ τὰ T-κύτταρα, καθὼς καὶ ἀπὸ ἄλλες κυτταρικές σειρές. Ὑπάρχουν περισσότεροι ἀπὸ ἓνας τύποι IF. Ἔχει ἀντιϊογενῆ δράση, διεγείρει τὰ NK κύτταρα καὶ τὰ ΜΦ κατὰ τῶν καρκινικῶν κυττάρων (1, 38).

B - λεμφοκύτταρα

Στὰ θηλαστικά, ἡ ὥριμανση τῶν B-κυττάρων, ἀπὸ τὰ ἀρχέγονα κύτταρα τῆς αἰμοποιητικῆς σειρᾶς, γίνεται στὸ ἥπαρ καὶ πιθανῶς τὸν σπλῆνα κατὰ τὴν ἐμβρυϊκὴ ζωὴ καὶ στὸν μυελὸ τῶν ὀστέων στοὺς ἐνήλικες. Πολὺ λίγα εἶναι γνωστὰ γιὰ τὴν ἑναρξὴ τῆς ὥριμανσης τῶν B-κυττάρων, ἐκτὸς τοῦ ὅτι ἐμφανίζουν στὴ μεμβράνη εἰδικὰ μόρια ποὺ ἔχουν χαρακτηριστεῖ σὰν ὀρρολογικοὶ σημαντῆρες (Markers). Ἐνα ἀπὸ αὐτὰ τὰ μόρια εἶναι ἡ ἀνοσοσφαιρίνη IgM. Ὑποομάδες B-κυττάρων ἐμφανίζουν στὴ μεμβράνη τους ἓνα ἀπὸ τοὺς δυὸ ἢ καὶ τοὺς δυὸ ὑποδοχεῖς: α) γιὰ τὸ FC τμῆμα τῆς



άνοσοσφαιρίνης IgG και β) για τον παράγοντα του συμπληρώματος C3b. Η λειτουργική της σημασία είναι ακόμη άγνωστη, αλλά χρησιμεύουν σαν σημαντήρες για την ταυτοποίηση των Β-κυττάρων στον άνθρωπο.

Μετά τη γένεσή τους στο μυελό των όστων τα παρθένα Β-κύτταρα μεταναστεύουν σε περιφερικούς σχηματισμούς. Εκεί μετά από αντιγονικό έρεθισμό διαφοροποιούνται σε ώριμα κυκλοφορούντα Β-κύτταρα, που αποκρίνονται σε νέο αντιγονικό έρεθισμό με πολλαπλασιασμό και τελικά διαφοροποιούνται σε άναμνηστικά (memory) Β-κύτταρα και πλασματοκύτταρα (plasma cells). Τα πλασματοκύτταρα αυτά έχουν την ικανότητα να παράγουν και να εκκρίνουν αντισώματα (40 - 42). Η θεωρία που επικρατεί σήμερα για την απόκριση σε αντιγονικό έρεθισμα είναι η θεωρία της επιλογής κλώνων (clonal selection), κατά την οποία, ο πολλαπλασιασμός γενετικά προκαθορισμένων κυττάρων άποτελεί τη βάση για την κυτταρική και χυμική άνοσία.

Αυτή η θεωρία προϋποθέτει ότι η άρχική αναγνώριση ενός αντιγόνου συμβαίνει μετά από έπαφή με ύποδοχείς αντισωμάτων, οι οποίοι έχουν δημιουργηθεί αυτόματα, άπουσία αντιγόνου και υπάρχουν σε λίγα μόνο λεμφοκύτταρα σ' όλόκληρο τον πληθυσμό. Έτσι ο ρόλος του αντιγόνου είναι να διεγείρει ένα ειδικό κλώνο λεμφοκυττάρων να πολλαπλασιαστεί και να παράγει άνοσοσφαιρίνες που αντιδρούν μ' αυτό το αντιγόνο. Η θεωρία της επιλογής κλώνων για την σύνθεση αντισωμάτων ενισχύεται και από την παρατήρηση ότι μεμονωμένα λεμφοκύτταρα παράγουν μόνο ένα αντίσωμα μετά από διέγερση (1, 2).

Ένδιαφέρον είναι να αναφερθεί ότι τα Τ-λεμφοκύτταρα ανταποκρίνονται στα μιτογόνα φυτοαιμοσυγκολλητίνη (PHA) και κονκαναβαλίνη-Α (con-A), ενώ τα Β-κύτταρα ανταποκρίνονται στους λιποπολυσακχαρίτες (LPS). Στο μιτογόνο Pokweed ανταποκρίνονται τόσο τα Τ όσο και τα Β-λεμφοκύτταρα (32).

Δ. ΑΛΛΗΛΟΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Η άποψη της περασμένης δεκαετίας ότι τα Τ και Β λεμφοκύτταρα είναι υπεύθυνα για έντελως διαφορετικές λειτουργίες, είναι άνεδαφική. Αντίθετα σήμερα είναι παραδεκτό ότι υπάρχει συνεργασία τόσο μεταξύ των διαφόρων λεμφοκυτταρικών πληθυσμών όσο και με άλλα κυτταρικά στοιχεία του άνοσοποιητικού συστήματος. Έτσι τα ΜΦ συνεργάζονται με τα Τ και Β κύτταρα, τα Τ με τα Β κύτταρα, τα Τ με άλλα Τ κύτταρα, καθώς και όλα τα τρία κύτταρα μεταξύ τους.



Σ' αυτό το κεφάλαιο θα ασχοληθούμε μόνο με την αλληλο-επίδραση ΜΦ και Τ-κυττάρων.

Τό ΜΦ θεωρείται στοιχείο απαραίτητο για την επιτέλεση των περισσότερων λειτουργιών του Τ-λεμφοκυττάρου, τόσο in-vivo όσο και in-vitro. 'Η άνοσία επιβραδυνόμενου τύπου (DTH), ή κυτταροτοξικότητα, ή παραγωγή λεμφοκινών και αυτή ακόμη ή επιβίωση των Τ-λεμφοκυττάρων, αποτελούν μερικές από τις περιπτώσεις, στις οποίες ή παρουσία του ΜΦ θεωρείται απαραίτητη (13).

'Η ενεργοποίηση των Τ-κυττάρων από αντιγόνα, μιτογόνα ή άλλογενή κύτταρα απαιτεί επίσης την παρουσία ΜΦ.

'Ο μηχανισμός με τον οποίο τα ΜΦ εκφράζουν την συνεργαστική τους δράση δεν είναι απόλυτα κατανοητός, φαίνεται όμως ότι διαφέρει ανάλογα με τη φύση του διεγερτικού παράγοντα και τον τύπο του λεμφοκυττάρου.

Μια από τις σημαντικότερες λειτουργίες του ΜΦ είναι ή πρόσληψη αντιγόνου και ή παρουσίαν του με τρόπο άνοσογενετικό (46).

Για πολλά αντιγόνα, ή λειτουργία αυτή απαιτεί ίστοσυμβατότητα μεταξύ ΜΦ και λεμφοκυττάρων. Ένας υποπληθυσμός ΜΦ που φέρει Ια μεμβρανικά αντιγόνα φαίνεται ότι είναι απαραίτητος για την εκδήλωση αυτής της συνεργασίας (47).

Τα ΜΦ παίζουν σημαντικό επίσης ρόλο στην μη ειδική ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων από μιτογόνα. Και σ' αυτή την περίπτωση το ΜΦ συνδέεται με το μιτογόνο και το παρουσιάζει σε μορφή διεγέρτου. 'Η λειτουργία αυτή δεν απαιτεί ίστοσυμβατότητα μεταξύ των δύο κυτταρικών πληθυσμών. Έχειδειχθεί ότι καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων που περιείχαν ποσοστό μονοκυττάρων μικρότερο του 5% είχαν μειωμένη ανταπόκριση στο μιτογόνο PHA. 'Η προσθήκη μονοκυττάρων στις καλλιέργειες αυτές είχε σαν αποτέλεσμα την αυξημένη σύνθεση DNA (44).

Μια άλλη λειτουργία του ΜΦ είναι ή παραγωγή διαλυτών παραγόντων (soluble factors), που ενισχύουν τη διαδικασία ενεργοποίησης των λεμφοκυττάρων (45). 'Ο κυριώτερος από τους παράγοντες αυτούς ονομάστηκε παράγοντας ενεργοποίησης λεμφοκυττάρων (Lymphocyte Activating Factor, LAF) και έχει μ.β. 10 - 20.000.

Κατασταλτική επίδραση Μακροφάγου επί λεμφοκυτταρικών πληθυσμών

Φυσιολογικά ΜΦ σε ψηλές συγκεντρώσεις έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την απόκριση των λεμφοκυττάρων στα αντιγόνα και μιτογόνα. 'Η καταστολή αυτή άφορᾷ τόσο τα Τ όσο και τα Β λεμφοκύτταρα και συμβαίνει σε αναλογίες ΜΦ/λεμφοκύτταρα πολύ μεγαλύτερες από εκείνες που απαιτούνται για μεγίστη απόκριση των λεμφοκυττάρων. Για



παράδειγμα, σέ πολλά συστήματα βλαστογένεσης εάν τὰ ΜΦ αποτελούν ποσοστό 5% περίπου του λεμφοκυτταρικού πληθυσμού παρατηρείται αύξηση στην πρόσληψη ραδιενεργού θυμιδίνης (3HTdR), αν όμως τὸ ποσοστό φτάσει τὸ 50% παρατηρείται σημαντική καταστολή.

Τὰ ἐνεργοποιημένα ΜΦ ἔχουν πολὺ μεγαλύτερη ἱκανότητα καταστολῆς τῶν Τ καὶ Β λεμφοκυττάρων ἀπ' ὅτι τὰ φυσιολογικά, ἥρεμα ΜΦ. Ἡ καταστολή αὐτή, ἀν τὰ ΜΦ εἶναι σέ ψηλές ἀναλογίες, εἶναι δυνατόν νὰ φτάσει μέχρι 99%, χωρίς νὰ ἐπιρεάζεται ἡ βιωσιμότητα τῶν λεμφοκυττάρων. Ἐνεργοποιημένα ΜΦ μὲ ἱκανότητα καταστολῆς τῶν λεμφοκυττάρων ἔχουν ἀπομονωθεί ἀπὸ ποντίκια ποὺ εἶχαν μολυνθεῖ μὲ τοξόπλασμα *Gondii* ἢ εἶχαν ἐνεθεῖ μὲ νεκρά *C. Parvum* ἢ πολυμερῆ τῆς πυράνης (3, 13).

Ὁ βαθμὸς καταστολῆς εἶναι συνάρτηση τῆς ἀναλογίας ΜΦ/λεμφοκύτταρα. Τὰ περισσότερα ἀπὸ τὰ σχετικὰ πειράματα ἔχουν γίνει *in vitro*. Ἐπειδὴ όμως οἱ ἴδιοι παράγοντες ἐπηρεάζουν τὴν ἀνοσολογικὴ ἀπόκριση καὶ *in-vivo*, πιστεύεται ὅτι τὸ ΜΦ παίζει ἀνοσορρυθμιστικὸ ρόλο καὶ στὸν ἀκέραιο ζωϊκὸ ὄργανισμό (48).

Ἀρκετὰ προϊόντα ποὺ παράγονται ἀπὸ τὰ ἐνεργοποιημένα ΜΦ ἔχουν ἐνοχοποιηθεῖ γιὰ τὴν καταστολὴ τῆς ἀπόκρισης τῶν λεμφοκυττάρων.

1. Θυμιδίνη.

Ὁ ρόλος τῆς θυμιδίνης διαπιστώθηκε γιὰ πρώτη φορὰ ἀπὸ τὸν Oritz καὶ τοὺς συνεργάτες του τὸ 1975. Θεωρήθηκε ἀρχικὰ ὅτι πρόκειται γιὰ διαλυτὸ παράγοντα «ἀναστολῆς ἐνσωμάτωσης θυμιδίνης» (49), ἀργότερα όμως ἀποδείχθηκε ὅτι πρόκειται γιὰ αὐτοῦσια θυμιδίνη ποὺ παράγεται ἀπὸ τὰ ΜΦ. Ἡ κατασταλτικὴ δράση τῆς θυμιδίνης στὴν πρόσληψη 3HTdR γιὰ τὴν σύνθεση DNA δὲν μπορεῖ νὰ ἀποδοθεῖ στὴν ἀραίωση τῆς 3HTdR στὶς καλλιέργειες (50).

2. Ἀργινάση.

Ὁ Kung καὶ οἱ συνεργάτες του δημοσίευσαν τὸ 1977, ὅτι ἡ ἀργινίνη ἀπουσίαζε ἀπὸ μεικτὲς καλλιέργειες λευκοκυττάρων, ποὺ εἶχαν κατασταλεῖ μὲ τὴν προσθήκη ψηλοῦ ποσοστοῦ ΜΦ. Ἡ ἐξαφάνιση τῆς ἀργινίνης συνοδεύεταν ἀπὸ μεγάλη αὐξηση τῆς παραγωγῆς τοῦ ἐνζύμου ἀργινάση ἀπὸ τὰ ἐνεργοποιημένα ΜΦ. Μερικὴ ἀναστροφή τῆς κατασταλτικῆς δράσης τῶν ΜΦ, ὅσον ἀφορᾷ τὴν παραγωγή κυτταροτοξικότητας, ἐπιτεύχθηκε μετὰ ἀπὸ ἡμερήσια προσθήκη ἀργινίνης στὶς καλλιέργειες (51).

3. Πολυαμῖνο - Ὁξειδάση.

Πολυαμῖνες ἀνευρίσκονται σέ ψηλές συγκεντρώσεις σέ ἐμβρυϊκοὺς



καί νεοπλαστικούς ιστούς καθώς και στο σπερματικό υγρό. Πολυαμίνες, όπως ή σπερμίνη και ή σπερμιδίνη διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό καρκινικών κυττάρων και λεμφοκυττάρων. Παρουσία του ένζυμου πολυάμινο-όξειδάση ή σπερμίνη και σπερμιδίνη μετατρέπονται σε παράγωγα (άμινοαλδεύδες και πιθανώς ακρολείνη), που καταστέλλουν τον πολλαπλασιασμό διαφόρων τύπων κυττάρων (159).

Η πολυάμινο-όξειδάση ανευρίσκεται στον όρρο διαφόρων θηλαστικών. Βρέθηκε επίσης, σε καλλιέργειες ΜΦ μετά από διέγερση με LPS. Τα υπερκείμενα (supernatant) αυτών των καλλιεργειών παρουσία σπερμίνης καταστέλλουν τον πολλαπλασιασμό θυμοκυττάρων (52).

Υπερκείμενα μη ενεργοποιημένων ΜΦ δεν έχουν αυτή την ικανότητα. Πολυάμινο-όξειδάση βρέθηκε επίσης στους σπλήνες ποντικών στα όποια είχε ένεθεί C. Parvum. Οι παραπάνω παρατηρήσεις είναι ένδεικτικές για την παραγωγή και απέκκριση πολυάμινο-όξειδάσης από περιτοναϊκά και σπληνικά ΜΦ. Παρουσία σπερμίνης (συντίθεται κατά τον πολλαπλασιασμό λεμφοκυττάρων) ή όξειδάση δημιουργεί παράγωγα που έλέγχουν τον περαιτέρω πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων (48, 52).

4. Προϊόντα αποικοδόμησης του συμπληρώματος.

Τά ΜΦ έχουν την ικανότητα να συνθέτουν αρκετούς παράγοντες του συμπληρώματος όπως C3, C4, C2 και τον παράγοντα Β. ΜΦ που έχουν ενεργοποιηθεί in-vitro με LPS, θεική δεξτράνη ή C3b έχουν την ικανότητα να παράγουν μεταξύ άλλων και τον παράγοντα C3a, που αποτελεί προϊόν αποδόμησης του συμπληρώματος. Ο παράγοντας C3a συμβάλλει στις κυτταρολυτικές ιδιότητες του ΜΦ και φαίνεται ότι αποτελεί ένα μηχανισμό με τον όποιο το ΜΦ μπορεί έκλεκτικά να εξαλείφει κλώνους λεμφοκυττάρων που αποκρίνονται σε ειδικό αντιγόνο (53), συμβάλλοντας έτσι στη διατήρηση της ισορροπίας του ανοσοποιητικού (48).

5. Προσταγλανδίνες (PG).

Προσταγλανδίνες παράγονται από τά ΜΦ, ειδικά μετά από ενεργοποίηση και μπορούν να αναστείλουν τη δράση διαφόρων τύπων λεμφοκυττάρων. Συντίθενται με κυκλο-όξυγόνωση των ακόρεστων λιπαρών όξέων και ειδικότερα του άραχιδονικού όξέος. Άδρανοποιούνται ταχύτατα και ή δράση τους διαρκεί για βραχύ χρονικό διάστημα, γι' αυτό μπορούν να θεωρηθούν σαν τοπικά δρώντες παράγοντες. In-vitro έχει δειχθεί ότι οι PG καταστέλλουν την απόκριση λεμφοκυττάρων σε διάφορα μιτογόνα και αντιγόνα, ενώ in-vivo καταστέλλουν πολλές κυτταρικές λειτουργίες, όπως την απόβολή μοσχεύματος και φλεγμονώδεις αντιδράσεις



(48). Πρόσφατες μελέτες από τους Oppenheim και συν., μαρτυρούν συνέργεια μεταξύ PG και H_2O_2 για την καταστολή πολλαπλασιασμού λεμφοκυττάρων *in-vitro* από ΜΦ διεγερμένα *ibn-vivo* με C. Parvum ή θειγλυκόλη (55).

6. Κυκλικό AMP (cAMP).

Είναι πιθανό η κατασταλτική δράση των προσταγλανδινών στα λεμφοκύτταρα, να οφείλεται στην αύξηση της συγκέντρωσης του ένδογενούς cAMP. Η αύξηση του cAMP ή η χορήγηση διβουτυρικού AMP μπορεί να καταστείλει την απόκριση λεμφοκυττάρων στα μιτογόνα. Τα ΜΦ από μόνα τους συνθέτουν και απελευθερώνουν μεγάλα ποσά cAMP (48).

7. Ίντερφερόνη (IF).

Η κλασσική αντιϊογενής δράση της Ίντερφερόνης είναι γνωστή από αρκετά χρόνια. Οι μη -αντιϊογενείς ιδιότητες της IF έχουν γίνει αντικείμενο μελέτης τα τελευταία μόνο χρόνια. Οι σπουδαιότερες από τις ιδιότητες αυτές είναι ίσως η αναστολή σύνθεσης DNA από λεμφοκύτταρα διεγερμένα με μιτογόνα ή αντιγόνα, ή αναστολή σύνθεσης αντισωμάτων *in-vitro* ή *in-vivo*, ή αύξηση κυτταροτοξικότητας ΜΦ (6) και μεικτών λεμφοκυτταρικών πληθυσμών (54). Η κατασταλτική επίδραση της IF στην απόκριση των λεμφοκυττάρων εξαλείφεται σε μεγάλο βαθμό με την προσθήκη αντί-IF ορού (56). Τα ΜΦ, μεταξύ άλλων κυτταρικών πληθυσμών, έχουν την ικανότητα, μετά από διέγερση, να παράγουν μεγάλα ποσά IF, που φαίνεται ότι ελέγχει τον βαθμό της ανοσολογικής απόκρισης (48).

Ε. ΚΥΤΤΑΡΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ (Natural Killer Cells, NK)

Προέλευση - Γενικά χαρακτηριστικά

Κατά τη διάρκεια των λίγων τελευταίων χρόνων πολλοί έρευνητές περιέγραψαν την ύπαρξη δραστικών κυττάρων, στο λεμφικό σύστημα, με ικανότητα ταχείας καταστροφής κυττάρων στόχων. Τα κύτταρα αυτά βρέθηκαν σε πολλά ζωικά είδη, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες και ονομάστηκαν κύτταρα φυσιολογικής κυτταροτοξικότητας (Natural Killer cells, NK).

Τα NK κύτταρα είναι δραστικά κυρίως έναντίον διαφόρων τύπων καρκινικών κυττάρων. Η δράση τους είναι ανεξάρτητη από την παρουσία



άντισωμάτων ή συμπληρώματος και δέν μπορεί νά άποδοθεΐ σέ φαγοκυτταρική δραστηριότητα.

Τά NK κύτταρα μοιάζουν μορφολογικά μέ μικρά λεμφοκύτταρα και συναντώνται κυρίως στούς σπλήνες νεαρών ζώων, στο περιφερικό αίμα και σέ μικρότερο βαθμό στούς λεμφαδένες (63) και τήν περιτοναϊκή κοιλότητα (68).

Γιά τήν ταυτότητα και προέλευση τών NK κυττάρων έχουν διατυπωθεΐ διάφορες άπόψεις, πολλές φορές συγκρουόμενες. Τούς έρευνητές πού ασχολοῦνται μέ τó θέμα, άπασχόλησε κυρίως ή συγγένεια τών NK κυττάρων μέ τά Τ-κύτταρα και τά μονοκύτταρα-μακροφάγα.

Μερικές άπό τίς άπόψεις αὐτές παραθέτουμε παρακάτω.

Χαρακτηριστικά μεμβράνης

Οί πρώτες μελέτες για τά NK κύτταρα, έγιναν σχεδόν ταυτόχρονα σέ ποντίκια, άρουραίους και στον άνθρωπο. Ένώ τά πρώτα άποτελέσματα έδειξαν σημαντικές διαφορές στη συμπεριφορά τών NK κυττάρων στα διάφορα ζωϊκά είδη, νεώτερες μελέτες άποδίδουν τίς διαφορές αὐτές σέ θέματα τεχνικής.

Μέ τή χρήση αντί-Η-2 όρρου διαπιστώθηκε ή ύπαρξη Η-2 Κ και D μεμβρανικών μορίων, ένώ δέν ύπάρχουν ένδείξεις για τήν ύπαρξη Ια αντιγόνων στη μεμβράνη τών NK κυττάρων (64). Πιθανή είναι ή ύπαρξη Ly5 αντιγόνου ένώ δέν βρέθηκαν Ly 1, 2 ή 3 αντιγόνα.

Μερικοί έρευνητές περιέγραψαν ύποδοχείς για τó συμπλήρωμα σέ NK κύτταρα ανθρώπων, ένώ άλλοι έρευνητές διαπίστωσαν τήν ύπαρξη ύποδοχέων για τó Fc τμήμα της άνοσοσφαιρίνης IgG αλλά όχι για τó συμπλήρωμα (57 - 62). Άλλοι έρευνητές άμφισβήτησαν τήν ύπαρξη Fc ύποδοχέα. Ό Eremín και οί συνεργάτες του διαπίστωσαν τήν ύπαρξη ύποπληθυσμών NK κυττάρων πού στεροῦνται Fc ύποδοχέα (63). Άλλες μελέτες έδειξαν ότι τó πέραςμα σπληνοκυττάρων άπό ποντίκια μέσα άπό IgG-άντί-IgG στηλές όχι μόνο δέν έξάλειψε τά NK κύτταρα αλλά είχε σαν άποτέλεσμα τόν έμπλουτισμό τους ανά μονάδα κυττάρων (65).

Τά άποτελέσματα αὐτά μαρτυροῦν έκτός άπό τήν έλλειψη IgG μεμβρανών μορίων, στα NK κύτταρα ποντικίων και τήν έλλειψη Fc ύποδοχέων, καθ' ότι Fc⁺ κύτταρα διαχωρίζονται μ' αὐτή τήν τεχνική.

Ένώ οί ένδείξεις άπό τίς περισσότερες μελέτες είναι ότι τά NK κύτταρα στον άνθρωπο δέν άνήκουν στην Τ-κυτταρική σειρά, μερικοί έρευνητές διαπίστωσαν εύαισθησία τών NK κυττάρων σέ αντι-Τ όρρους παρουσία συμπληρώματος (58) και μικρού βαθμού ίκανότητά τους νά σηματοποιούν ροζέττες μέ έρυθρά προβάτου κάτω άπό ιδανικές συνθήκες (59).



Ο Herberman και οι συνεργάτες του υποστήριξαν, σε πρόσφατες μελέτες, ότι η χορήγηση υψηλής συγκέντρωσης ή επανειλημμένες χορηγήσεις αντι-Thy1 όρρου μαζί με συμπλήρωμα από κουνέλι, είχε σαν αποτέλεσμα την σημαντική ελάττωση της NK δραστηριότητας ποντικών (60).

Τούτο μαρτυρεί την ύπαρξη χαμηλής πυκνότητας Thy-1 αντιγόνου στη μεμβράνη των NK κυττάρων. Τέτοια χαμηλής πυκνότητας Thy-1⁺ κύτταρα έχουν περιγραφεί σε άθυμικά ποντίκια και φαίνεται ότι αποτελούν πρόδρομα T κύτταρα (Pre-T cells).

Σε αντίθεση με τα παραπάνω ο Kiessling και οι συνεργάτες του χρησιμοποιώντας καθιερωμένες τεχνικές με αντι-Thy-1 όρρο και συμπλήρωμα από Ίνδικά χοιρίδια διαπίστωσαν ότι τα T λεμφοκύτταρα καταστρέφονται σε ικανοποιητικό βαθμό ενώ τα NK κύτταρα μένουν ανέπαφα (66).

Τα T κύτταρα σε αντίθεση με τα NK κύτταρα φέρουν χαρακτηριστικές γλυκοπρωτεΐνες μεμβράνης (Ly 2 και 3 και T 145 πρωτεΐνες). Τούτο αποτελεί πρόσθετο επιχείρημα κατά της άποψης ότι τα NK κύτταρα αποτελούν προθυμοκύτταρα στερούμενα αντιγονικών υποδοχέων αλλά εφοδιασμένα με κυτταρολυτικό μηχανισμό (67).

Την άποψη ότι τα NK κύτταρα δεν ανήκουν στην T κυτταρική σειρά ενισχύει και η παρατήρηση ότι άθυμικά ποντίκια εκδηλώνουν ιδιαίτερα υψηλή NK δραστηριότητα (61).

Πολλά χαρακτηριστικά μεμβράνης των NK κυττάρων δεν συνηγορούν υπέρ της μονοκυτταρικής τους προέλευσης. Η έλλειψη ικανότητας προσκόλλησης, ή μη ύπαρξη, τουλάχιστο σε μεγάλο βαθμό, Fc υποδοχέων και ή ανθεκτικότητά τους σε αντι-μακροφαγικά αντισώματα παρουσία συμπληρώματος (68) είναι ιδιότητες που δεν αναμένονται σε μονοκύτταρα ή μακροφάγα. Ακόμη, ή μη ανίχνευση δράσης δξινης φωσφατάσης ή έστεράσης στα NK κύτταρα (69) μαζί με το γεγονός ότι μορφολογικά μοιάζουν με μικρά λεμφοκύτταρα αποστερεί επιχειρημάτων την άποψη ότι ανήκουν στη μακροφαγική σειρά.

Ένεργοποίηση NK κυττάρων

Σε όλα τα είδη ποντικών που έχουν ερευνηθεί διαπιστώθηκε ανιχνεύσιμη NK δραστηριότητα. Η μεγάλη διακύμανση που βρέθηκε μεταξύ των διαφόρων ειδών αποδίδεται σε γενετικές διαφορές ελεγχόμενες κυρίως από την H-2 γονιδιακή περιοχή.

NK δραστηριότητα δεν ανευρίσκεται στα ποντίκια πριν από τη δεύτερη εβδομάδα ζωής, φθάνει το μέγιστο δράσης μεταξύ 6ης και 8ης εβδομάδας και αργότερα φθίνει με την ηλικία (72).

Άρκετοι τρόποι έχουν περιγραφεί για την μεταβολή της NK δραστη-



ριότητας στα ποντίκια. Ίογενείς λοιμώξεις, ή χορήγηση BCG ή C. Parvum, ό έμβολιασμός με NK εύαισθήτους όγκους και ή χορήγηση διαφόρων χημικών παραγόντων, όπως Poly I:U, Poly I:C και Poly IC:LC, έχουν βρεθεί ότι αύξάνουν δραστικά την NK δραστηριότητα (70). Ένας κοινός παρονομαστής όλων αυτών των παραγόντων φαίνεται ότι είναι ή ικανότητά τους να παράγουν Ίντερφερόνη.

Η Ίντερφερόνη από μόνη της έχει δειχθεί τόσο στα ποντίκια (70) όσο και στον άνθρωπο (71) ότι είναι ικανή να αύξάνει την NK δραστηριότητα.

Η χορήγηση αντι-IF αντισωμάτων την ίδια χρονική περίοδο με ένα από τους πιο πάνω παράγοντες είναι δυνατόν στις περισσότερες περιπτώσεις να μπλοκάρει την αναμενόμενη αύξηση της NK δραστηριότητας. Είναι αρκετά σαφές ότι ή IF είναι ένας από τους κύριους ρυθμιστικούς παράγοντες των NK κυττάρων τόσο *in-vivo* όσο και *in-vitro*.

Αντιμακροφαγικοί παράγοντες, όπως σωματίδια Silica και carrageenan δέν είναι άμεσα τοξικοί για τα NK κύτταρα *in-vitro*, εκτός εάν χορηγηθούν σε πολύ ψηλές πυκνότητες. Έν τούτοις ή χορήγηση αυτών των παραγόντων σε ποντίκια ακολουθείται από έλάττωση της NK δραστηριότητας πιθανότατα καταστρέφοντας τα μακροφάγα, που φαίνεται ότι παίζουν βοηθητικό ρόλο για τα NK κύτταρα (72).

ΣΤ. ΑΝΟΣΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ

Γενικά

Από ανοσολογικής σκοπιμής ή ανάπτυξη και διεκπεραίωση μιμς όμαλμς κύησης είναι σχεδόν αδύνατη. Το έμβρυο μπορεί να θεωρηθεί, σ' όλα τα στάδια της κύησης σαν ένδομητρικό άλλομοσχευμα, αντί όμως της αναμενόμενης αποβολής δημιουργείται μιμ στενή, παραβιωτική σχέση μοσχεύματος-ξενιστή.

Η ανοσολογική αυτή σχέση μητέρας και έμβρυοπλακουντιακής μονάδας είναι παρόμοια εκείνης μητέρας και νεφρικού άλλομοσχεύματος από το παιδί της. Και στις δύο περιπτώσεις ό ξενιστής (μητέρα) έρχεται σε έπαφή με μόσχευμα που φέρει ιστικά αντιγόνα κληρονομούμενα από τον πατέρα. Χωρίς τη βοήθεια ανοσοκατασταλτικής θεραπείας το νεφρικό άλλομοσχευμα αποβάλλεται σε μιμ ως δύο βδομάδες, ένω στη περίπτωση του έμβρυοπλακουντικού μοσχεύματος, ή φύση έχει αναπτύξει έπαρκείς μηχανισμούς για την επιβίωση του.

Η αναμενόμενη αντίδραση του ξενιστή σε άλλομόσχευμα είναι δυνατόν να περιλαμβάνει ενεργοποίηση τόσο της κυτταρικής όσο και της



χημικής ανοσίας. Στην πρώτη περίπτωση T-λεμφοκύτταρα διεγερμένα από αντιγόνα μεταμόσχευσης μαζεύονται στην περιοχή του μοσχεύματος και αρχίζουν την καταστροφή των ξένων κυττάρων. Επίσης, εκκρίνουν λεμφοκίνες, μερικές από τις οποίες έχουν άμεση κυτταροτοξική δράση, ενώ άλλες προσελκύουν στην περιοχή φαγοκύτταρα (κυρίως μακροφάγα) για την πέψη του καταστραμμένου ιστού. Η κυτταρική ανοσία είναι σχεδόν αποκλειστικά υπεύθυνη για την αποβολή συμπαγών αλλομοσχευμάτων. Το δεύτερο στοιχείο της ανοσολογικής αντίδρασης, η χυμική ανοσία, κατευθύνεται κυρίως κατά κυτταρικών αλλομοσχευμάτων του λεμφικού και αίμοποιητικού ιστού (138).

Τόσο το σπέρμα όσο και το γονιμοποιημένο ωάριο από τα πρώτα στάδια της διαίρεσής του, έχουν στη μεμβράνη τους αντιγόνα μεταμόσχευσης. Ένεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα θα έπρεπε, θεωρητικά να αποτελούν δυνητική απειλή για το έμβρυο σε όλα τα στάδια της κύησης. Η μη ύλοποίηση αυτής της απειλής και η πετυχημένη ανάπτυξη του εμβρύου, αποτελεί παράδοξο φαινόμενο. Για την έρμηνεία του έχουν προταθεί κατά καιρούς διάφορες θεωρίες, τις κυριώτερες από τις οποίες αναφέρουμε παρακάτω.

α) Αντιγονική ανωριμότητα του εμβρύου

Υποστηρίχθηκε, στις αρχές του αιώνα, ότι το έμβρυο όφειλει την επιβίωσή του στη μήτρα, στην έλλειψη αντιγόνων μεταμόσχευσης κατά το μεγαλύτερο μέρος της κύησης. Τοῦτο συνδέθηκε με το γεγονός ότι το έμβρυο κληρονομεί τα μισά από τα χρωματοσώματά του, μαζί με τα συνιοδά γονίδια μεταμόσχευσης, από την μητέρα (138). Η άποψη αυτή αποδείχθηκε αργότερα λανθασμένη, γιατί αντιγόνα μεταμόσχευσης βρέθηκαν σε εμβρυϊκούς ιστούς από τα αρχικά στάδια της κύησης. Οι Goldstein και Baxter (73) έδειξαν ότι δερματικά μοσχεύματα ανθρώπων εμβρύων ηλικίας 17 - 33 εβδομάδων, απορρίπτονταν σε μέσο χρονικό διάστημα 12,6 μέρες. Αντιγόνα των ομάδων αίματος βρέθηκαν, επίσης σε εμβρυϊκά έρυθρά αίμοσφαίρια (74) παρ' ότι με μειωμένη ικανότητα για προσρόφηση αντί-A και αντί-B αντισωμάτων. Αντιγόνα Rhesus βρέθηκαν σε έρυθρά εμβρύου 10 mm που αναλογεί σε κύηση 38 μόλις ημερών (75). Πρόσθετα στοιχεία μαρτυρούν την ύπαρξη αντιγόνων μεταμόσχευσης σε όλους σχεδόν τους εμβρυϊκούς ιστούς από τα αρχικά στάδια της κύησης. Κύτταρα της έρυθρομυελικής σειράς, από λεμφαδένες, σπλήνες ή μυελό των οστών εμβρύων 10 ως 26 εβδομάδων είχαν HLA αντιγόνα (76). Κύτταρα από τον θύμο αδένα, το ήπαρ, τον σπλήνα, ή περιφερικά λεμφοκύτταρα εμβρύων μεγαλύτερων των 11 εβδομάδων είναι ικανά να διεγείρουν αλλογενή λεμφο-



κύτταρα ενήλικα σε μεικτή λεμφοκυτταρική αντίδραση (Mixed Lymphocyte Reaction, MLR) (77). Τα πιο πάνω αποτελούν ισχυρές ενδείξεις για την ύπαρξη αντιγόνων σε αναλογικά δραστικές συγκεντρώσεις στους περισσότερους ιστούς του ανθρώπινου εμβρύου από τα πολύ αρχικά στάδια της κύησης.

β) Άνοσολογικά πλεονεκτική συμπεριφορά της μήτρας

Υποστηρίχθηκε ότι η μήτρα αποτελεί άνοσολογικά πλεονεκτική περιοχή για την ανάπτυξη του εμβρύου. Υπάρχουν μερικές τέτοιες περιοχές όπως ο εγκέφαλος και ο πρόσθιος θάλαμος του ματιού, όπου αλλομοσχεύματα διατηρούνται για, παράδοξα, μεγάλο χρονικό διάστημα (138). Οι περιοχές αυτές στερούνται λεμφικών αγγείων και έτσι αντιγόνα από τους μεταμοσχευμένους ιστούς δεν είναι δυνατόν να μεταφερθούν στους λεμφαδένες για την ευαισθητοποίηση των Τ-λεμφοκυττάρων. Η μήτρα, όμως, διαθέτει και λεμφαγγεία και λεμφαδένες οι οποίοι υπερτρέφονται, σε καθαρά άνοσογενετική βάση, μετά από κύηση (78). Από πρώτη ματιά, λοιπόν, η μήτρα δεν εκδηλώνει τις προϋποθέσεις άνοσολογικά πλεονεκτικής περιοχής.

Σχετικά πειράματα έδειξαν ότι ιστορικά αλλομοσχεύματα ή κυτταρικά ένωιαρώματα αποβάλλονται σε μικρό χρονικό διάστημα μετά την εμφύτευσή τους στη μήτρα (78). Δερματικά αλλομοσχεύματα εμφυτευμένα στη μήτρα είχαν την ίδια περίπου επιβίωση με παροόμια μοσχεύματα εμφυτευμένα στο σώμα του πειραματοζώου (138).

γ) Άνοσολογικά πλεονεκτική συμπεριφορά της συγκυττιοτροφοβλάστης

Αποτελεί την ισχυρότερη από τις θεωρίες για την έρμηνεία της μη αποβολής του αλλογενοῦς εμβρύου. Ανεξάρτητα του κατά πόσον η τροβοβλάστη είναι αντιγονική ή όχι, στη συγκυττιακή της μορφή είναι άνθεκτική τόσο στην κυτταρική όσο και στην χημική άνοσία (79). Την άποψη αυτή ενισχύουν οι ακόλουθες παρατηρήσεις: 1) Έκτοπες κυήσεις σε διάφορα μέρη του σώματος, είναι πετυχημένες για αρκετό χρονικό διάστημα και τελικά ο θάνατός τους, όταν συμβεί, δεν οφείλεται σε άνοσολογική αντίδραση. 2) Το χοριοκαρκίνωμα, κακόηθες παράγωγο της τροφοβλάστης, είναι έντελως άνθεκτικό στις άνοσολογικές διεργασίες που κατευθύνονται κατά πατρικών αντιγόνων. 3) Η τροφοβλάστη αναπτύσσεται πολύ νωρίς πριν από την εμφύτευση του εμβρύου. 4) Μικρά μοσχεύματα τροφοβλαστικού ιστού, που πάρθηκαν από έκτοπλακουντιακούς κώνους, εμφανίζονται άτρωτα στους άνοσολογικούς μηχανισμούς (79).



Κατά πόσο τὰ τροφοβλαστικά κύτταρα εμφανίζουν αντιγόνα μεταμόσχευσης είναι ακόμη αμφίβολο (80). Πλασματικές μεμβράνες, παρασκευασμένες από ανθρώπινους πλακούντες, εμφανίζουν πολύ χαμηλά επίπεδα HLA-A και HLA-B αντιγόνων ή β2-μικροσφαιρίνης -περίπου 5% απ' ότι τὰ σπληνικά λεμφοκύτταρα (81). Σε μελέτες ανοσοφθορισμού, επίσης δεν βρέθηκαν σημαντικά επίπεδα HLA αντιγόνων, σε τροφοβλαστικά κύτταρα από πλακούντες, ηλικίας κύησης 8 ως 13 βδομάδων (82).

Σε αντίθεση με τὰ πιο πάνω οί Loke και συν. βρήκαν ότι κύτταρα από τροφοβλαστικές λάχνες καταστρέφονταν σε καλλιέργειες που είχαν αντί-HLA όρρο και συμπλήρωμα (83).

Αντισώματα που κατευθύνονται έναντίον τροφοβλαστικών κυττάρων έχουν βρεθεί στην αιματική κυκλοφορία γυναικών τόσο στη διάρκεια της κύησης (85), όσο και λίγες μέρες μετά τον τοκετό (84). Με τη χρησιμοποίηση της τεχνικής της αναστολής μετανάστευσης μακροφάγων, βρέθηκε ότι τὰ μητρικά λεμφοκύτταρα αντιδρούν κατά πλακουντιακών αντιγόνων (86). Ακόμη, στη βασική μεμβράνη της τροφοβλάστης, βρέθηκε μητρική ανοσοσφαιρίνη (IgG), χωρίς όμως να είναι σαφές κατά ποίων πλακουντιακών αντιγόνων κατευθύπλακουντιακών αντιγόνων κατευθυνόταν (87).

Οί πιο πάνω μελέτες αποτελούν ισχυρές ενδείξεις για την ύπαρξη ανοσολογικής αντίδρασης κατά πλακουντιακών αντιγόνων, από μέρους της μητέρας. Ο τρόπος με τον οποίο ή τροφοβλάστη αποφεύγει την ανοσολογική επίθεση δεν είναι ξεκάθαρος. Προστατευτικός ρόλος, αποδόθηκε σε μερικούς παράγοντες που έχουν εντοπιστεί στην περιοχή της τροφοβλάστης. Οί βλεννοπολυσακχαρίδες που βρέθηκαν γύρω από τὰ τροφοβλαστικά κύτταρα, θεωρήθηκε από μερικούς έρευνητές, ότι εμποδίζουν την αναγνώριση των μεμβρανικών αντιγόνων (88). Τουτό, όμως, δεν επιβεβαιώθηκε από άλλους έρευνητές (89). Η πλακουντιακή όρμόνη χοριονική γοναδοτροπίνη (HCG) βρέθηκε ότι είναι στενά προσκολλημένη στην μεμβράνη των τροφοβλαστικών κυττάρων και θεωρήθηκε ότι άσκει, με κάποιο μηχανισμό, ανοσοπροστατευτική δράση (90, 91). Στη συστηματική δράση της HCG θά αναφερθούμε αργότερα σ' αυτό τὸ κεφάλαιο.

Στὸ σημείο αὐτὸ εἶναι ἐνδιαφέρον νὰ ἀναφέρουμε στοιχεῖα ἀπὸ τὴν δουλειὰ τῶν Wood καὶ συν. γιὰ τὴν ἀνοσοβιολογία τοῦ ἀνθρώπινου πλακούντα (92, 93). Οί πιο πάνω έρευνητές, με διάφορες τεχνικές, κατόρθωσαν νὰ ἀποδείξουν τὴν ὑπαρξὴ IgFGc θετικῶν κυττάρων στὴ συγκυττιοτροφοβλάστη καὶ προχώρησαν στὴν ἀπομόνωση καὶ ταυτοποίησή τους. Σε κυτταρικά ἐναιωρήματα ἀπὸ 11 ξεχωριστοὺς πλακούντες βρήκαν ὅτι 35-75% τῶν κυττάρων εἶχαν Fc ὑποδοχεῖς. Ἀπὸ τὰ Fc+ κύτταρα λιγότερα ἀπὸ 5% μποροῦσαν νὰ χαρακτηριστοῦν σάν λεμφοκύτταρα ἢ πολυμορφοπύρρημα.



Τὰ υπόλοιπα (>90%) εἶχαν χαρακτηριστικὰ μακροφάγου, τόσο μορφολογικὰ ὅσο καὶ λειτουργικὰ. Ἔτσι ἐκτὸς ἀπὸ τοὺς Fc ὑποδοχεῖς, ἦταν θετικὰ στὴ χρώση μὲ μὴ εἰδικὴ ἐστεράση καὶ ἐμφάνιζαν φαγοκυτταρικές ιδιότητες.

Τὸ μακροφάγο, λοιπόν, ἀποτελεῖ κυρίαρχο στοιχεῖο στὸν κυτταρικὸ πληθυσμὸ τῆς συγκυττιοτροφοβλάστης καὶ πιθανώτατα παίζει πρωτεύοντα ρόλο στὴν ὁμαλὴ ἐξέλιξη τῆς κύησης. Ἡ πληθωρική αὐτὴ παρουσία μακροφάγων πιθανολογεῖται ὅτι ἐξυπηρετεῖ τρεῖς λειτουργίες:

1. Ἀποτελοῦν πρόσθετη γραμμὴ ἄμυνας κατὰ τῆς εἰσβολῆς λοιμογόνων παραγόντων στὸ ἔμβρυο.
2. Ἐνοχοποιοῦνται γιὰ τὴν ἀπομάκρυνση καὶ καταστροφὴ ἀντισωμάτων κατὰ τοῦ ἐμβρύου.
3. Συμμετέχουν σὲ διεργασίες καταστολῆς τῆς ἀνοσολογικῆς ἀπόκρισης, προστατεύοντας ἔτσι τὸ ἔμβρυο ἀπὸ ἐνδεχόμενη ἀπόρριψη.

δ) Ἀνοσολογικὴ καταστολὴ τῆς μητέρας κατὰ τὴ διάρκεια τῆς κύησης

Γιὰ τὴν ἐρμηνεία τῆς ἐπιβίωσης τοῦ ἀλλογενοῦς ἐμβρύου ἐνοχοποιήθηκε καταστολὴ τόσο τῆς χυμικῆς ὅσο καὶ τῆς κυτταρικῆς ἀνοσίας τῆς μητέρας. Ἐπειδὴ ἡ χυμικὴ ἀνοσία εἰθύνεται σὲ μικρὸ μόνο βαθμὸ γιὰ τὴν ἀποβολὴ συμπαγῶν μοσχευμάτων, ὅπως τὸ ἔμβρυο, οἱ ἔρευνες ποὺ ἀσχολήθηκαν μὲ τὸ ρόλο τῆς χυμικῆς ἀνοσίας κατὰ τὴν κύηση εἶναι περιορισμένες. Πρόσφατα οἱ Pacsa καὶ Rejtsik (94) ἔλεγξαν τὸν ὄρρο ἀπὸ 297 ἔγκυες γυναῖκες γιὰ τὴν ἀνέυρεση ἀντισωμάτων κατὰ τῆς ἰλαρᾶς, ἀπλοῦ ἔρπητα καὶ τοξοπλάσματος. Βρῆκαν τίτλους ἀντισωμάτων ψηλοὺς κατὰ τὴν 12ῃ ὥς 20ῃ ἐβδομάδα καὶ πολὺ χαμηλοὺς κατὰ τὴν περίοδο τοῦ τοκετοῦ. Ὁ τίτλος ἀντισωμάτων ἐπανερχόταν στὰ ἐπίπεδα τῆς ἀρχικῆς κύησης 30 ὥς 45 μέρες μετὰ τὸν τοκετό. Τὰ εὐρήματα αὐτά, οἱ πρὶν πάνω ἐρευνητές, ἐρμήνευσαν σὰν ἀποτέλεσμα καταστολῆς τῆς χυμικῆς ἀνοσίας κατὰ τὴν κύηση. Ἀλλὰ ὁμως στοιχεῖα, ὅπως ἡ παραγωγή ἀντί-Rh ἀντισωμάτων ἀπὸ Rh-ἀρνητικὲς μητέρες καὶ ἡ συχνὴ ἀνέυρεση ἀντί-HLA ἀντισωμάτων μετὰ ἀπὸ κύηση, ἀποτελοῦν ἐνδείξεις ὅτι ἡ χυμικὴ ἀνοσία παραμένει ἀνεπηρέαστη στίς ἔγκυες γυναῖκες.

Ὁ ρόλος τῆς κυτταρικῆς ἀνοσίας καὶ εἰδικώτερα τῶν Τ-λεμφοκυττάρων, κατὰ τὴν κύηση, ἐρευνήθηκε ἐπισταμένα τὰ τελευταῖα χρόνια. Διὰφορες *in vitro* τεχνικὲς χρησιμοποιήθηκαν γιὰ τὸν σκοπὸ αὐτό.

Ἡ ἀπελευθέρωση ἀμασταλτικοῦ παράγοντα μετανάστευσης μακροφάγων (MIF) χρησιμοποιήθηκε ἀπὸ τοὺς Rocklin καὶ συν. γιὰ τὴν ἀνίχνευση εὐαισθητοποιημένων λεμφοκυττάρων ἀπὸ ἐμβρυϊκὰ ἀντιγόνα. Μει-



γμα μητρικών και νεογνικών λεμφοκυττάρων είχε την ικανότητα να παράγει MIF. Όλες οι μητέρες οι θετικές στην παραγωγή MIF είχαν τρία ή περισσότερα παιδιά (95).

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης μαρτυρούν την ύπαρξη ευαισθητοποιημένων κυττάρων κατά έμβρυϊκών αντιγόνων, σε μερικές μητέρες κατά τη διάρκεια της κύησης. Η επιβίωση, λοιπόν του αλλογενοϋς έμβριου δεν μπορεί να αποδοθεί σε ανοσολογική παράλυση. Αργότερα, διαπιστώθηκε σε άλλες μελέτες, ότι η παραγωγή MIF μπορεί να ανασταλεί από όμοιο λογο μητρικό όρρο (96).

Η μεικτή λεμφοκυτταρική αντίδραση (Mixed Lymphocyte Reaction, MLR) αποτελεί καλή *in-vitro* μέθοδο για την εκτίμηση της ικανότητας λεμφοκυττάρων από δύο γενετικά διάφορα άτομα να αλληλοδιεγείρονται. Στην MLR προς μία κατεύθυνση ελέγχεται η ικανότητα των μητρικών κυττάρων να διεγείρονται από ακτινοβολημένα (άδραν) έμβρυϊκά κύτταρα. Έχειδειχθεί ότι η MLR κατά την κύηση είναι σταθερά χαμηλή. Τα μητρικά λεμφοκύτταρα αποκρίνονται στα έμβρυϊκά λεμφοκύτταρα, αλλά σε μικρότερο βαθμό απ' ό,τι τα λεμφοκύτταρα από μη έγκυες γυναίκες (97, 98). Για την καταστολή της MLR έχουν ενοχοποιηθεί διαλυτοί παράγοντες που βρίσκονται στον μητρικό όρρο. Ο όρρος πολύτεκνης ύγιους μητέρας βρέθηκε ότι είχε κατασταλτική επίδραση στην MLR δικών της λεμφοκυττάρων με κύτταρα από τον άντρα της ή τα παιδιά της (99). Οι Jonker και συν. μελέτησαν τους όρρους από 42 έγκυες γυναίκες, για την ανεύρεση κατασταλτικών αντισωμάτων για την MLR. Οι καλλιέργειες περιείχαν κύτταρα από την γυναίκα δότη του όρρου και τον άντρα της. Οι μισοί από τους 42 όρρους βρέθηκε ότι είχαν την ικανότητα να καταστέλλουν την MLR περισσότερο από 60% (100). Σε αντίθεση με τα παραπάνω, μακρόχρονες μελέτες που δημοσιεύθηκαν πρόσφατα, εμφανίζουν την μητρική MLR κατά κυττάρων του πατέρα, του παιδιού, ή τυχαίων δοτών, αύξημένη κατά τη διάρκεια της κύησης, ελαττωμένη κατά τον τελευταίο μήνα της κύησης και τον τοκετό και πάλι αύξημένη μετά τον τοκετό. Η απόκριση της μητέρας στο παιδί ήταν το μισό περίπου, απ' ό,τι η απόκριση στον πατέρα (105).

Μια άλλη τεχνική που χρησιμοποιήθηκε στο εργαστήριο για τον έλεγχο της κυτταρικής ανοσίας είναι η βλαστογενετική απόκριση των λεμφοκυττάρων σε διάφορα μιτογόνα ή αντιγόνα. Η φυτική λεκτίνη φυτοαιμοσυγκολλητίνη (PHA) επηρεάζει κυρίως τα T-λεμφοκύτταρα και έχει χρησιμοποιηθεί σαν *in-vitro* μέτρο της ανοσολογικής επάρκειας των T-κυττάρων.

Ένας μεγάλος αριθμός αντικρουομένων εργασιών έχει εμφανιστεί στη βιβλιογραφία σχετικά με την απόκριση των μητρικών λεμφοκυττάρων



στις φυτικές λεκτίνες. Οί Poskitt και συν. μελέτησαν την επίδραση της PHA στα λεμφοκύτταρα 17 υγείων γυναικών κατά τα διάφορα στάδια της κύησης και 6 εβδομάδες μετά τον τοκετό. Δεν διαπιστώθηκε διαφορά βλαστογενετικής απόκρισης σε σχέση με τα λεμφοκύτταρα μη έγκύων γυναικών (101). Άλλοι έρευνητές διαπίστωσαν την ύπαρξη προοδευτικά αυξανόμενης απόκρισης στην PHA σε όλα τα στάδια της κύησης και σε μεγαλύτερο βαθμό αυτόματης σύνθεσης DNA σε σύγκριση με λεμφοκύτταρα από μη έγκυες γυναίκες (102, 104). Οί Birkeland και Kristoffersen, ενώ δεν βρήκαν διαφορά στην απόκριση των μητρικών λεμφοκυττάρων στην PHA, βρήκαν σημαντικά μειωμένη απόκριση σε άλλα μιτογόνα κατά το μέσο και το τέλος της κύησης. Τα εύρηματά τους απόδωσαν στην ύπαρξη αυξημένου αριθμού T-κατασταλτικών κυττάρων και στην καταστολή των B-κυττάρων κατά τη διάρκεια της κύησης (106).

Οί περισσότεροι έρευνητές σήμερα δέχονται ότι υπάρχει μικροδ βαθμού καταστολή της κυτταρικής άνοσίας της μητέρας κατά τη κύηση (103, 104). Η καταστολή όμως αυτή δεν είναι σε βαθμό τέτοιο που να δικαιολογεί την μη απόρριψη άλλομοσχεύματος. Διάφοροι παράγοντες που βρίσκονται στον μητρικό όρρο έχουν ένοχοποιηθεί για κατασταλτική δράση. Μερικοί από τους παράγοντες αυτούς περιγράφονται παρακάτω.

1. Διαλυτοί παράγοντες που ελευθερώνονται από κατασταλτικά κύτταρα.

Οί Magaz και Petri (107) βρήκαν ότι υπερκείμενα καλλιιεργειών από λευκά αίμοσφαίρια έγκύων γυναικών διεγερμένα με PHA είχαν κατασταλτική δράση σε καλλιέργειες φυσιολογικών λεμφοκυττάρων διεργεμένων και πάλι με PHA. Αντίθετα, υπερκείμενα καλλιιεργειών από λευκά αίμοσφαίρια μη έγκύων γυναικών δεν είχαν κατασταλτικές ιδιότητες. Οί παρατηρήσεις αυτές συνηγορούν για αυξημένη παρουσία T-κατασταλτικών κυττάρων στο μητρικό αίμα.

Παρόμοια κατασταλτική δράση είχαν και μονοκύτταρα που πάρθηκαν από το αίμα όμφάλιου λώρου. Υπερκείμενα από αυτές τις καλλιέργειες είχαν κατασταλτική δράση στην απόκριση λεμφοκυττάρων από ένήλικα στην PHA και στην MLR. Αντίθετα υπερκείμενα από καλλιέργειες φυσιολογικών μονοκυττάρων δεν είχαν κατασταλτική δράση (108).

2. α-έμβρυοπρωτεΐνη (α-fetoprotein, AFP).

Είναι μία από τις κύριες πρωτεΐνες στο πλάσμα του έμβριου και φθάνει τη μέγιστη συγκέντρωση (2.000 - 3.000 μg/ml) κατά την 14η εβδομάδα της κύησης. Παράγεται φυσιολογικά κυρίως από το ήπαρ του έμβριου,



άλλα σε μικρό βαθμό παράγεται και από τόν έμβρυικό σάκκο, τó νεφρό και τόν πλακούντα. Μέρος της έμβρυικής αύτης πρωτεΐνης μπαίνει στην κυκλοφορία της μητέρας και φθάνει σε μέγιστη συγκέντρωση κατά τó τρίτο τρίμηνο της κύησης (103 - 550 ng/ml) (190). Αύξημένη AFP στόν όρρο έχει βρεθεί σε διάφορες συγγενείς έμβρυικές άνωμαλίες και σε άρρώστους με ήπάτωμα ή άταξία -Τηλεαγγειεκτασία. Ή AFP βρέθηκε ότι καταστέλλει τήν άπόκριση τών Τ-κυττάρων στην ΡΗΑ (110).

3. α - Μ α κ ρ ο σ φ α ι ρ ί ν η.

Αύξάνεται κατά τó πρώτο τρίμηνο της κύησης αλλά φτάνει τίς ψηλότερες τιμές (100 mg/ml) κατά τó τρίτο τρίμηνο. Μετά τόν τοκετό παρατηρείται γρήγορη πτώση τών τιμών στο αίμα. Αύξηση της α-μακροσφαιρίνης παρατηρείται επίσης σε καρκινοπαθείς. Ό τόπος παραγωγής της δέν είναι γνωστός. Πιθανολογείται ότι παράγεται στόν πλακούντα ή από περιφερικά λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα (111) καταστέλλει τήν δράση τών Τ-κυττάρων, όχι όμως τών Β-κυττάρων (112).

4. β₁ - γ λ υ κ ο π ρ ω τ ε ί ν η.

Παράγεται από τήν συγκυττιοτροφοβλάστη, αύξάνεται με τήν πρόοδο της κύησης και έξαφανίζεται από τó μητρικό αίμα 30 ως 40 ώρες μετά τόν τοκετό. Άναστέλλει τήν άπόκριση τών Τ-λεμφοκυττάρων στην ΡΗΑ (113).

5. Π ρ ω τ ε ί ν ι κ ή σ τ ο ι β ά δ α τ η ς κύ η σ η ς (Pregnancy Zone protein, PZ).

Είναι α - σφαιρίνη και αύξάνεται μετά τó τέλος του πρώτου τριμήνου της κύησης. Κατά τó τέλος της κύησης τó επίπεδό της στο αίμα είναι 1mg/ml περίπου. Έξαφανίζεται από τόν όρρο 6 έβδομάδες μετά τόν τοκετό. Βρέθηκε, εκτός από τόν όρρο τών έγκύων γυναικών και στόν όρρο γυναικών που έπαιρναν οίστρογόνα για άντισύλληψη και άντρών που έπαιρναν οίστρογόνα για καρκίνο προστάτου. Βρέθηκε ότι ή ΡΖ καταστέλλει τήν άπόκριση τών λεμφοκυττάρων στην ΡΗΑ (141).

6. Π ρ ώ ι μ ο ς π α ρ ά γ ο ν τ α ς τ η ς κύ η σ η ς (Early Pregnancy Factor, EPF).

Βρέθηκε στόν όρρο έγκυων ποντικών (114), γυναικών και προβάτων (115). Έμφανίζεται 6 ως 24 ώρες μετά τή σύλληψη και διατηρείται τά δύο πρώτα τρίμηνα περίπου της κύησης. Έχει σχετικά ψηλό μοριακό βάρος (200.000 - 240.000). Χρησιμοποιώντας τήν τεχνική άναστολής σχηματι-



σμοῦ ροζεττῶν, βρέθηκε ὅτι καταστέλλει τὴ δράση τῶν T-λεμφοκυττάρων.

7. Στεροϊδικές ὁρμόνες.

Τὰ ἐπίπεδα κορτικοστεροειδῶν στὸ αἷμα αὐξάνονται βαθμιαία κατὰ τὴ διάρκεια τῆς κύησης καὶ θεωρήθηκαν ὑπεύθυνα γιὰ τὴν μὴ εἰδικὴ καταστολὴ τῆς MLR. Ἡ ἔλλειψη ὅμως συσχέτισης μεταξὺ τῶν ἐπιπέδων τῶν κορτικοειδῶν καὶ τοῦ βαθμοῦ καταστολῆς τῆς MLR δὲν φαίνεται νὰ ἐνισχύει αὐτὴ τὴν ὑπόθεση (116).

Ἄλλες ὁρμόνες ὅπως τὰ οἰστρογόνα καὶ ἡ προγεστερόνη ἔχουν ἐνοχοποιηθεῖ γιὰ ἀνοσοκατασταλτικὲς ιδιότητες, τόσο κατὰ τὴν κύηση, ὅσο καὶ σὲ γυναῖκες ποὺ εἶναι κάτω ἀπὸ ἀντισυλληπτικὴ ἀγωγή (118, 139).

- Ἄλλοι ἐρευνητὲς δὲν βρῆκαν καταστολὴ τῶν λεμφοκυττάρων ἀπ' αὐτὲς τὶς ὁρμόνες ἀκόμη καὶ σὲ ἐπίπεδα μεγαλύτερα ἀπὸ ἐκεῖνα ποὺ βρίσκονται στὸ πλάσμα κατὰ τὴν κύηση (119). Σὲ πρόσφατες μελέτες οἱ Clements καὶ συν. ἀποδίδουν κατασταλτικὲς ιδιότητες στὴν προγεστερόνη καὶ ὑποθέτουν ὅτι ὁ πολλαπλασιασμὸς τῶν λεμφοκυττάρων στὸ ἐπίπεδο τῆς τροφοβλάστης βρίσκεται κάτω ἀπὸ τὸν ἔλεγχο τῆς αὐτῆς ὁρμόνης, ἐνῶ τὰ χαμηλὰ ἐπίπεδά της στὸ αἷμα δὲν ἐπαρκοῦν γιὰ συστηματικὴ ἀνοσοκαταστολὴ (117).

8. Χοριονικὴ Γοναδοτροπίνη (Human Chorionic Gonadotropin, HCG).

Ἡ HCG εἶναι ἡ πρώτη ἀπὸ τὶς ὁρμόνες πρωτεϊνικῆς φύσεως τοῦ πλακούντα ποὺ ἔχουν περιγραφεῖ. Ἐχει μ.β. 36.000 - 40.000, εἶναι γλυκοπρωτεϊνικῆς φύσης καὶ ἔχει πολλὰς βιολογικὲς καὶ ἀνοσολογικὲς ὁμοιότητες μὲ τὴν ὑποφυσιακὴ ὁρμόνη LH. Παράγεται ἀπὸ τὴν συγκυττιοτροφοβλαστικὴ στιβάδα τοῦ πλακούντα.

Ὅπως ὅλες οἱ γλυκοπρωτεϊνικὲς ὁρμόνες (LH, FSH, TSH), ἡ HCG ἀποτελεῖται ἀπὸ δύο ὑπομονάδες (subunits), τὴν ἄλφα (α) καὶ τὴν βῆτα (β). Μὲ πολὺ μικρὲς διαφορὲς ἡ α ὑπομονάδα εἶναι ὅμοια σὲ ὅλες τὶς γλυκοπρωτεϊνικὲς ὁρμόνες, ἐνῶ ἡ β ὑπομονάδα δίνει μοναδικὴ ἐξειδίκευση στὴν ὁρμόνη. Καμιὰ ἀπὸ τὶς ὑπομονάδες δὲν ἔχει δράση ἀπὸ μόνη της καὶ μόνο τὸ ἀκέραιο μόριο ἐκδηλώνει ὁρμονικὴ δράση.

Οἱ μονάδες ἔχουν ἀπομονωθεῖ, ὑπάρχουν σὲ καθαρὴ μορφή καὶ ἡ μοριακὴ τους δομὴ ἔχει διευκρινιστεῖ (120).

Ἡ α ὑπομονάδα ὅλων τῶν γλυκοπρωτεϊνικῶν ὁρμονῶν στὸν ἄνθρωπο ἀποτελεῖται ἀπὸ 89 - 92 ἀμινοξέα, ἐνῶ ἡ β ὑπομονάδα τῆς HCG ἀποτελεῖται ἀπὸ 145 ἀμινοξέα.

Ἡ τροφοβλάστη παράγει HCG ἀπὸ τὰ πολὺ ἀρχικὰ στάδια τῆς κύησης.



Είναι ανιχνεύσιμη όκτώ μέρες μετά τήν ώορρηξία και μόνο μιά μέρα μετά τήν εμφύτευση (121), φθάνει δέ τίσ ψηλότερες τιμές μεταξύ τής 60ής και 90ής ημέρας τής κύησης (122).

Ό χρόνος ήμιζώης τής HCG στο αίμα είναι 32 ώς 37 ώρες, άρκετά ψηλότερος από τίσ άλλες πλακουντιακές όρμόνες.

Ένώ υπάρχουν άρκετές πληροφορίες για τή χημική φύση και τήν κινητική τής HCG, λίγα είναι γνωστά για τόν λειτουργικό της ρόλο στην κύηση.

Είναι γνωστό ότι παίζει σημαντικό ρόλο κατά τó πρώτο τρίμηνο τής κύησης, βοηθώντας στη διατήρηση του ώχρου σωματίου και έπιτρέποντας έτσι τή συνεχή παραγωγή προγεστερόνης, όρμόνης άπαραίτητης για τήν ανάπτυξη του φθαρτου. Πιθανότατα παίζει ρυθμιστικό ρόλο στην έκκριση στεροΐδικών όρμονων από τó έμβρυο (123) και έπιδρά διεγερτικά στον θυρεοειδή αδένα τής μητέρας (124).

Οί άνοσολογικές ιδιότητες τής HCG δέν έχουν άκόμη πλήρως διεκρινιστεί. Οί πληροφορίες που υπάρχουν και άνεπαρκείς είναι και συχνά άντικρουόμενες.

Οί Pearse και Kaiman παρατήρησαν ότι ή ήμερήσια χορήγηση HCG σε πειραματόζωα είχε σαν άποτέλεσμα τήν αύξηση του χρόνου έπιβίωσης δερματικού άλλομοσχεύματος (125). Άλλες παρατηρήσεις για τήν *in vivo* άνοσοκατασταλτική δράση τής HCG περιλαμβάνουν τήν καταστολή τής δευτερογενούς παραγωγής άντισωμάτων από ποντίκια εύαισθητοποιημένα με έρυθρά προβάτου (126) και έλάττωση τής συχνότητας τής νόσου μοσχεύματος —κατά ξενιστου— όταν BALB/C ποντίκια έμβολιάζονταν με σπληνοκύτταρα από C57B/6 ποντίκια (127).

Ό ένδοπεριτοναϊκή χορήγηση 4.000 IU/HCG έπί 7 ήμέρες σε Όνδικά χοιρίδια είχε κατασταλτική έπίδραση στην υπερευαισθησία έπιβραδυνομένου τύπου (DTH). Ό έπίδραση αυτή διαρκούσε για 3 τουλάχιστο έβδομάδες (128). Ό χορήγηση άντι-HCG άντισώματος σε έγκυους άρουραίους για 5 μέρες, είχε σαν άποτέλεσμα τή νέκρωση και άποβολή των έμβρύων, ύποδηλώνοντας, τήν άναγκαιότητα τής HCG για τήν πετυχημένη έκβαση τής κύησης (129).

Ό έπίδραση τής HCG στην άπόκριση άνθρώπινων λεμφοκυττάρων σε διάφορα μιτογόνα και άντιγόνα έχει έπίσης έρευνηθεί. Κατασταλτική έπίδραση τής HCG στην άπόκριση λεμφοκυττάρων στην PHA έχει βρεθεί άκόμη και σε δόσεις άνάλογες με εκείνες που βρίσκονται στον όρρο έγκύων γυναικών. Συγκεντρώσεις HCG μεγαλύτερες των 200 IU/ml είχαν σαν άποτέλεσμα τήν πλήρη καταστολή άπόκρισης στα μιτογόνα. Οί συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν δέν ήταν κυτταροτοξικές για τά λεμφοκύτταρα (128, 130).



Οί Beling και Weksler, χρησιμοποιώντας HCG με πολύ ψηλό βαθμό καθαρότητας (S. A. 13.700 IU/mg πρωτεΐνης) έδειξαν καταστολή υψής απόκρισης λεμφοκυττάρων σε άλλογενή κύτταρα στην MLR (131).

Οί Beck και συν. χρησιμοποιώντας HCG απαλλαγμένη από ανοσοσφαιρίνες και φαινόλη, βρήκαν ότι χαμηλές συγκεντρώσεις έχουν διεγερτική δράση στα λεμφοκύτταρα ενώ ψηλές δόσεις καταστέλλουν την απόκρισή τους στα διάφορα μιτογόνα (132).

Οί ανοσοκατασταλτικές ιδιότητες της HCG άμφισβητήθηκαν τελευταία, όταν μελέτες με καθαρή HCG έδωσαν άρνητικά αποτελέσματα.

Από τις αρχικές μελέτες, οί Beling και Weksler (131) χρησιμοποίησαν για τα πειράματά τους καθαρή HCG (S. A. 13.500 IU/mg) πρωτεΐνης, P. HCG), ενώ για τις περισσότερες μελέτες χρησιμοποιήθηκαν παρασκευάσματα που κυκλοφορούν στο εμπόριο, με χαμηλή ειδική δραστικότητα (S. A. 3.000 IU/mg, c.HCG).

Οί Caldwell και συν. βρήκαν ότι παρασκευάσματα από c.HCG είχαν κατασταλτική δράση στην απόκριση λεμφοκυττάρων στην PHA, ενώ ή P. HCG δεν είχε τέτοια δράση (133). Παρόμοια αποτελέσματα πήραν και οί Morse και συν., οί όποιοι βρήκαν ότι ή c.HCG είχε πολλαπλάσια κατασταλτική δράση από την P. HCG στην απόκριση λεμφοκυττάρων στα διάφορα μιτογόνα.

Εάν περνούσαν την c.HCG από στήλες Sephadex G - 100, έχανε μεγάλο μέρος από τις κατασταλτικές της ικανότητες (134).

Οί Maes και Claverie βρήκαν ότι τόσο ή c.HCG όσο και ή P. HCG σε χαμηλές συγκεντρώσεις είχαν διεγερτική δράση σε σπληνοκύτταρα από nu/nu ή BALB/c ποντίκια, ενώ κατασταλτική επίδραση είχε σε ψηλές δόσεις μόνο ή c.HCG (135).

Από όσα αναφέρθηκαν πιο πάνω και από άλλα στοιχεία που υπάρχουν στη βιβλιογραφία σχετικά με την νοσολογική δράση της HCG, γίνεται φανερό ότι ή μέχρι σήμερα έρευνα πάνω στο θέμα, είχε σαν κύριο στόχο την κατάδειξη άμεσης κατασταλτικής δράσης της HCG στα T-κύτταρα. Ο υποπληθυσμός αυτός λεμφοκυττάρων θεωρείται σαν άμεσα υπεύθυνος για την απόρριψη μοσχευμάτων και ή πόδειξη καταστολής του υπό την HCG θα βοηθούσε στην διαλεύκανση του μηχανισμού επιβίωσης, του έμβρύου.

Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν ή διερεύνηση της δράσης της HCG σε διάφορα στοιχεία της κυτταρικής άνοσίας. Το μακροφάγο θεωρήθηκε σαν κεντρικό κυτταρικό στοιχείο και έξετάσθηκε ή ικανότητά του να διεγείρεται από την HCG και στη συνέχεια να άσκει κατασταλτική δράση στα T-κύτταρα. Έξετάστηκε ακόμη ό ρόλος της HCG στα NK κύτταρα και στη DTH.



Ἐπίσης ἔγιναν πειράματα μὲ ἔγκυα ποντίκια καὶ διερευνήθηκε ἡ ἀνοσολογικὴ τους ἐπάρκεια.

Τὰ εὐρήματα ποὺ παραθέτονται ἀναλυτικὰ παρακάτω πιστεύω ὅτι ἀποτελοῦν μικρὴ συμβολή στὴ διευκρίνιση τοῦ προβλήματος :

Ἐπιβίωση τοῦ ἀλλογενοῦς ἐμβρύου στὴ μήτρα.



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

α) Πειραματόζωα

- Για τὰ πειράματά μας χρησιμοποιήσαμε τρία είδη ποντικιών:
1. Τὰ ποντίκια τύπου CD F χρησιμοποιήθηκαν για πειράματα υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου.
 2. Τὰ ποντίκια τύπου BALB/c χρησιμοποιήθηκαν για πειράματα με την HCG.
 3. Έγκυα BALB/c ποντίκια διασταυρωμένα με DBA ποντίκια χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο της κυτταρικής άνοσίας κατά τη κύηση. Το κύημα σαν υβρίδιο μεταξύ των δύο γενών ποντικιών (CD F) ήταν ήμιαλλογενές για τη μητέρα.

Την κύηση στα ποντίκια διακρίναμε σε τρεις κατηγορίες :

Άρχικη κύηση	(Preg. 1) :	ήλικία κύησης	8 - 9	ήμέρες
Μέση κύηση	(Preg. 2) :	»	»	12 - 13 »
Προχωρημένη κύηση	(Preg. 3) :	»	»	16 - 17 »

Η μέση διάρκεια της κύησης στα ποντίκια είναι 19 μέρες. Οί ειδικοί του σταθμού πειραματοζώων δεν μπορούν να διαπιστώσουν κύηση μικρότερη των 8 ημερών.

Τὰ ποντίκια ήταν ηλικίας 6 - 8 εβδομάδων και ζύγιζαν περίπου 25 gr. κατά την αρχή των πειραμάτων. Φυλάσσονταν σε πλαστικά κλουβιά ανά 5 και τρέφονταν με Purina και νερό βρύσης. Προμηθευτής των ποντικιών ήταν το Mammalian Genetics and Animal Production Section of NIH, Bethesda MD.

β) Θρεπτικά υλικά

Σάν βασικό θρεπτικό υγρό χρησιμοποιήσαμε το RPMI - 1640 (Roswell Park Memorial Institute), εμπλουτισμένο με έμβρυϊκό ορό από μοσχάρι (Fetal Calf Serum, FCS) και γενταμυσίνη 100 µg/ml (25, 26). Για τὰ πειρά-



ματα με ΜΦ χρησιμοποιήσαμε RPMI - FCS 20%, ενώ για τα υπόλοιπα πειράματα καθώς και για τη διατήρηση των καρκινικών σειρών χρησιμοποιήσαμε RPMI - FCS 10%.

Για τον έλεγχο της NK δραστηριότητας προσθέταμε στο θρεπτικό υλικό και ρυθμιστικό διάλυμα HEPES 10 mM.

γ) Καρκινικές σειρές *in - vitro*

Για τον έλεγχο της κυτταροτοξικότητας των ΜΦ και NK κυττάρων των πειραματοζώων χρησιμοποιήσαμε τρεις καρκινικές σειρές.

1. MBL - 2 κυτταρική σειρά. Είναι λεμφοβλαστική λευχαιμία ποντικών και αρχικά αναπτύχθηκε σε C57BL/6 ποντίκια μετά από έμβολιασμό με Moloney Murine Leukemia Virus (160). Διατηρείται σε καλλιέργειες σάν κυτταρικό έναιώρημα.
2. M109 κυτταρική σειρά. Προέρχεται από αδιαφοροποίητο καρκίνωμα πνεύμονα που αναπτύχθηκε αυτόματα σε BALB/c ποντίκια (161). Τα καρκινικά αυτά κύτταρα όταν τοποθετηθούν σε κυτταροκαλλιέργειες προσκολλώνται στον πυθμένα του δοχείου και αναπτύσσονται σάν μονοστιβάδα.
3. YAC - 1 κυτταρική σειρά. Λέμφωμα που αναπτύχθηκε σε γένο Α ποντικών μετά από χορήγηση Moloney virus (162). Διατηρείται και αναπτύσσεται σάν κυτταρικό έναιώρημα. Έπειδή τα κύτταρα αυτά καταστρέφονται εύκολα από τα NK κύτταρα, χρησιμοποιούνται σάν δείκτης για την εκτίμηση της NK δραστηριότητας.

δ) Βιολογικές ουσίες και φάρμακα που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματά μας

1. Άνθρωπινη Χοριονική Γιοναδοτροπίνη (HCG). Προέρχεται από ούρα έγκυων γυναικών. Χρησιμοποιήσαμε δύο τύπους HCG. Τον πρώτο τύπο αγοράσαμε από την Sigma Chemical Company (CG - B). Ήταν σε μορφή σκόνης σε φιαλίδια των 15.000 IU και 75.000 IU με ειδική δραστηριότητα περίπου 3000 IU/mg πρωτεΐνης. Δεν περιείχε μαννιτόλη ή φωσφορικό νάτριο και δεν ήταν άμεσα κυτταροτοξική. Ο τύπος αυτός HCG χρησιμοποιήθηκε για τα περισσότερα πειράματα και αναφέρεται σάν c.HCG (Crude HCG). Το δεύτερο τύπο HCG προμηθευτήκαμε από τον Δρ. R. E. Canfield (Center for population Research of the National Institute of child Health and Human Development of the National Institutes of Health)



τόν όποίο και από τή θέση αὐτή θερμά εὐχαριστοῦμε. Ὁ τύπος αὐτός HCG ἦταν ἀπαλλαγμένος ἀπό προσμίξεις και εἶχε εἰδική δραστικότητα 13.450 IU/mg πρωτεΐνης. Ἀναφέρεται σάν P.HCG (Purified HCG).

2. Ἰντερφερόνη (IF): Τήν προμηθευτήκαμε ἀπό τόν Δρ. Paucker (Medical College of Pennsylvania, Ph.). Ἀπομονώθηκε ἀπό λευκοκύτταρα ποντικίων και εἶχε εἰδική δραστικότητα 2.4×10^7 IU/mg πρωτεΐνης (25).

Πολυμερῆ τῆς πυράνης (Pyran, NSC 460 156).

Ἀγοράστηκαν ἀπό τό Hercules Incorporation Research Center, Wilmington, Delaware. Χρησιμοποιήθηκαν στά πειράματά μας σάν μάρτυρες λόγω τῆς γνωστῆς δράσης τους στήν κυτταρική ἀνοσία (ΜΦ, ΝΚ, DTH).

3. Φυτοαιμοσυγκολλητίνη (PHA).

Εἶναι φυτική λεκτίνη και χρησιμοποιήθηκε σάν διεγέρτης τῶν Τ-λεμφοκυττάρων. Ἀγοράστηκε ἀπό τήν ἐταιρεία Difco (Ditroit, Michigan).

Γιά τήν διεξαγωγή τῶν πειραμάτων βλαστογένεσης ἀραιώσαμε τήν PHA σέ RPMI - FCS (4mg/ml, 1ml/σωληνάριο) και τήν φυλάξαμε σέ ψυγεῖο -20o C (stock solution). Τήν PHA χρησιμοποιοῦσαμε σέ συγκέντρωση 5μg/ml.

Ραδιενεργός Θυμιδίνη (^3H Thymidine, $^3\text{HTdR}$). Ἀγοράστηκε ἀπό τήν New England Nuclear, Boston Mass. Εἶχε εἰδική δραστικότητα 52.2 ci/mM. Ἀραιώσαμε τήν $^3\text{HTdR}$ ἐπίσης σέ RPMI - FCS (10 μci/ml) και τήν φυλάξαμε σέ ψυγεῖο -20o C (Stock solution). Χρησιμοποιήθηκε στά πειράματα βλαστογένεσης.

Ραδιενεργό Χρώμιο (^{51}Cr).

Ἀγοράστηκε ἀπό τήν New England Nuclear (S. A. 250 - 800 mci/mg). Χρησιμοποιήθηκε γιά τήν ραδιενεργό σήμανση τῶν κυττάρων στόχων (YAC - 1, M109), στά πειράματα γιά τόν ἔλεγχο τῆς δραστηριότητας τῶν ΝΚ κυττάρων σέ συγκέντρωση 100 μci/ 1.0×10^7 κύτταρα περιεχόμενα σέ 1ml RPMI - FCS.

4. Ἐρυθρά προβάτου (Sheep Red Blood Cells, SRBC). Ἀγοράζονταν ἀπό τά ἐργαστήρια Flow (McLean, Virginia) και χρησιμοποιήθηκαν γιά τά πειράματα ὑπερευαισθησίας ἐπιβραδυνομένου τύπου (DTH).



ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ

Γενικά

Όλα τα πειράματα *in-vitro* έγιναν με άσηπτες συνθήκες. Οι καλλιέργειες επωάζονταν σε ρυθιζόμενο κλίβανο θερμοκρασίας 37°C, περιεκτικότητας σε διοξείδιο του άνθρακος 5% και ατμοσφαιρικό αέρα 95% κορεσμένο με ύδρατμούς.

Η επιβίωση των κυττάρων στις καλλιέργειες διαπιστώνονταν με τη μέθοδο αποκλεισμού του κυανού του τρυπανίου. Μετά την προσθήκη στο έναίωρημα διαλύματος κυανού του τρυπανίου (0.04%) τα νεκρά κύτταρα προσλάβαιναν τη χρωστική και έπαιρναν μπλέ χρώμα ενώ τα ζωντανά κύτταρα δεν προσλάβαιναν τη χρωστική.

1. Συλλογή περιτοναϊκών μακροφάγων - Δοκιμασία αναστολής πολλαπλασιασμού καρκινικών κυττάρων.

Μετά από ένδοπεριτοναϊκή ένεση 8 ml RPMI - 1640 σε κάθε ποντίκι, θυσιάζαμε τα ζώα με αϋχενική υπερξάρθρωση, διανοίγαμε το δέρμα της κοιλιάς και αναρροφούσαμε το περιεχόμενο με πλαστική σύριγγα. Το κυτταρικό έναίωρημα από 25 ποντίκια άθροίζαμε σε πλαστικά σωληνάρια των 50 ml που διατηρούσαμε σε πάγο για να αποφύγουμε την προσκόλληση των ΜΦ στα τοιχώματα. Φυγοκεντρούσαμε τα σωληνάρια σε 250 X g για δέκα λεπτά σε ψυχόμενη φυγόκεντρο (4°C). Μετά τη φυγοκέντρηση το υπερκείμενο υγρό καλλιέργειας πεταγόταν και βάζαμε τα κύτταρα σε 10 ml RPMI - FCS (20%). Μετρούσαμε τον αριθμό των ζωντανών ΜΦ και προσαρμόζαμε την τελική συγκέντρωση του κυτταρικού έναιωρήματος σε 8.0×10^5 ΜΦ/ml. Ένα ml από το τελικό έναίωρημα τοποθετούσαμε σε κάθε τρυβλίο καλλιέργειας των 16 mm (Tissue culture cluster plates, Costar, Cambridge, MA). Για μεγαλύτερη ακρίβεια κάθε πειραματική ομάδα την καλλιεργούσαμε σε τρία ξεχωριστά τρυβλία. Τις καλλιέργειες επωάζαμε για δύο ώρες και μετά ξεπλέναμε τις μονοστιβάδες των ΜΦ, που είχαν προσκολληθεί στον πυθμένα των τρυβλίων με RPMI - 1640, για να απαλλαγούμε από τα άλλα μη προσκολλημένα κυτταρικά στοιχεία. Με τον τρόπο αυτό οι μονοστιβάδες αποτελούνταν κατά 95% περίπου από ΜΦ (160). Στις μονοστιβάδες αυτές προσθέταμε τις επιθυμητές συγκεντρώσεις HCG καθώς και ένα ml RPMI - FCS που περιείχε 8.0×10^4 MBL - 2 κύτταρα. Στην αρχή κάθε πειράματος ή αναλογία ΜΦ προς MBL - 2 ήταν 10 : 1.

Για την *in-vivo* ένεργοποίηση των ΜΦ την όρμόνη χορηγούσαμε ένδοπεριτοναϊκά στα ποντίκια, σε δόση 500 IU/ποντίκι. Σε πέντε ομάδες



(5 ποντίκια/ομάδα) χορηγήθηκε καθημερινά HCG από 2 ως 10 μέρες. Σε άλλες πέντε ομάδες ποντικίων χορηγήθηκε τις αντίστοιχες μέρες διάλυμα χλωριούχου νατρίου (Phosphatze Buffer Saline, PBS) και χρησίμευαν σαν μάρτυρες (control). Τα μακροφάγα απομονώσαμε με τον ίδιο όπως πιο πάνω τρόπο.

Μετά την προσθήκη των MBL - 2 κυττάρων τις καλλιέργειες τοποθετούσαμε στον κλίβανο για 48 ώρες. Μετά το τέλος του χρόνου επώασης μεταφέραμε το κυτταρικό εναιώρημα σε ξεχωριστά σωληνάρια των 10 ml, φυγοκεντρούσαμε, πετάγαμε το υπερκείμενο υγρό καλλιέργειας, προσθέταμε 2 ml κυανοϋ του τρυπανίου (0,04%) και μετρούσαμε τα ζωντανά MBL - 2 κύτταρα σε πλάκα Neubauer.

Το επί τοις εκατό ποσοστό αναστολής πολλαπλασιασμού των MBL - 2 κυττάρων υπολογίζαμε από τον πιο κάτω τύπο :

$$\% \text{ αναστολή} = \left[1 - \frac{\text{Μέσος όρος MBL - 2 από καλλ. ΜΦ + HCG}}{\text{Μέσος όρος MBL - 2 από φυσιολ. καλλ. ΜΦ}} \right] \times 100$$

2. Απομόνωση σπληνοκυττάρων - Δοκιμασία της δραστηριότητας των NK κυττάρων

Για τα πειράματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω ομάδες ποντικίων: α) Φυσιολογικά BALB/C ποντίκια, β) ποντίκια μετά θεραπεία με HCG και γ) έγκυα BALB/C ποντίκια. Από κάθε ομάδα χρησιμοποιούσαμε 5 ποντίκια και τους σπλήνες βάζαμε σε τρυβλία Petri. Με τη βοήθεια πλαστικής σύριγγας και λαβίδας κάναμε ένεση πολλές φορές RPMI - 1640 σε κάθε σπλήνα μέχρις ότου ξεπλέναμε όλα τα σπληνοκύτταρα. Μεταφέραμε το εναιώρημα κάθε ομάδας σε πλαστικά σωληνάρια των 50 ml φυγοκεντρούσαμε και αντικαθιστούσαμε το υγρό καλλιέργειας με RPMI - FCS (10%). Μετρούσαμε τον αριθμό των λευκοκυττάρων, αφού πρώτα αίμολύαμε τα έρυθρά αίμοσφαίρια με χλωριούχο άμμωνιο και προσαρμόζαμε την τελική συγκέντρωση των λευκοκυττάρων σε 4.0×10^7 κύτταρα / ml.

Σε κάθε ομάδα κάναμε 4 αραιώσεις χρησιμοποιώντας την αναλογία κυτταρικό εναιώρημα προς RPMI - FCS 1:1. Από κάθε ομάδα τοποθετούσαμε 0.1 ml σε τριπλές καλλιέργειες σε σύστημα τρυβλίων μικροκαλλιέργειας με κοίλο πυθμένα (Round bottom microtiter plates, Costar, Cambridge, MA).

Η προετοιμασία των κυττάρων στόχων (YAC - 1 ή M109) γινόταν ως εξής: 1.0×10^7 κύτταρα περιεχόμενα σε 1 ml RPMI - FCS (10%) σε πλαστικό σωληνάριο των 50 ml επώαζονταν με 100 μCi ^{51}Cr για 45 λεπτά σε θερμοκρασία 37°C. Μετά πλέναμε και φυγοκεντρούσαμε τα κύτταρα



τρεις φορές με RPMI - 1640 για να απομακρύνουμε το περίσσειμα του ραδιενεργού χρωμίου. Προσαρμόζαμε τελικά την συγκέντρωση του έναιω-
ρήματος σε 2.0×10 κύτταρα/ml και προσθέταμε 0.1 ml σε κάθε μικρο-
καλλιέργεια σπληνοκυττάρων (δραστικά κύτταρα).

Η αναλογία δραστικών κυττάρων προς κύτταρα στόχους ήταν 200:1, 100:1, 50:1 και 25:1.

Για να φέρουμε σε άμεση επαφή τα δραστικά κύτταρα με τα κύτταρα στόχους, φυγοκεντρώσαμε τα συστήματα μικροκαλλιέργειας για 4 λεπτά σε $50 \times g$. Μετά από επώαση 4 ωρών ξαναφυγοκεντρώσαμε τις καλλιέρ-
γειες με μεγάλη ταχύτητα ($800 \times g$) για 10 λεπτά και μεταφέραμε 0.1 ml από το υπερκείμενο υγρό σε γυάλινα σωληνάρια των 3 ml και την περιεκ-
τικότητα σε ^{51}Cr μετρούσαμε με μετρητή γ ακτινοβολίας (Beckman Bio-
gamma Spectrometer, Fullerton, CA).

Την αυτόματη απελευθέρωση ^{51}Cr (Spontaneous Release, SR) υπολο-
γίζαμε από καλλιέργειες που περιείχαν μόνο σημειωμένα κύτταρα στόχους.

Τη Μεγίστη απελευθέρωση ^{51}Cr (Maximum Release, MR) υπολογί-
ζαμε ως εξής: 0.1 ml κύτταρα στόχοι και 0.1 ml RPMI - 1640 σε γυάλινα
σωληνάρια έμβαπτιζονταν διαδοχικά για 4 φορές σε ψυχρό λουτρό πρώτα
(ξηρός πάγος + άκετόνη) και μετά σε θερμό λουτρό (100°C). Φυγοκεν-
τρώσαμε τα σωληνάρια ($800 \times g$ για 10 λεπτά) και μεταφέραμε 0.1 ml
από το υπερκείμενο σε άλλα σωληνάρια και μετρούσαμε την περιεκτικό-
τητα ^{51}Cr σε μετρητή γ - ακτινοβολίας.

Το ποσοστό καταστροφής (λύσης) των κυττάρων στόχων υπολογί-
ζαμε από τον τύπο :

$$\% \text{ Λύσης} = \frac{\text{Exp cpm} - \text{SR}}{\text{MR} - \text{SR}} \times 100.$$

3. Βλαστογένεση

Παίρναμε συνήθως 8 - 10 σπλήνες από φυσιολογικά ποντίκια και ά-
πομονώσαμε τα σπληνοκύτταρα, όπως περιγράψαμε προηγούμενα, σε με-
γάλο τρυβλίο Petri (15×150 mm, Falcon Oxnard, CA). Το κυτταρικό έ-
ναιώρημα που παίρναμε περιείχε έρυθρά, πολυμορφοπύρηνα, μακροφάγα
και λεμφοκύτταρα. Για την βλαστογένεση χρειαζόμαστε κατά το δυνατόν
καθαρό λεμφοκυτταρικό πληθυσμό. Για την απομάκρυνση των άλλων κυτ-
ταρικών στοιχείων ακολουθούσαμε την παρακάτω διαδικασία. Έπωάζαμε
τον μεικτό κυτταρικό πληθυσμό για 2 ώρες (37°C , 5% CO_2) έτσι ώστε τα
μακροφάγα προσκολώνταν στον πυθμένα του τρυγλίου. Μετά διηθούσαμε
το έναιώρημα μέσα από αποστειρωμένη γάζα για να απαλλαγούμε από



ίστικά ύπολείμματα και στη συνέχεια αιμολύαμε τὰ έρυθρά με διάλυμα χλωριούχου άμμωνίου. Από τον κυτταρικό πληθυσμό που είχε διαμορφωθεί προσθέταμε 2 ml σε κωνικά πλαστικά σωληνάρια που περιείχαν 4 ml Ficoll - Hyaque (Ficoll-14%-12 μέρη και Hyaque -32, 8% - 5 μέρη) και φυγοκεντρούσαμε για 30 λεπτά ($300 \times g$). Σχηματιζόταν έτσι μιá στιβάδα μεταξύ θρεπτικού υλικού και Ficoll - Hyaque που περιείχε 95% περίπου λεμφοκύτταρα. Τήν στιβάδα αυτή αναρροφούσαμε με πιπέττα τοποθετούσαμε τὸ έναίώρημα σε σωληνάρια τών 50 ml και πλέναμε και φυγοκεντρούσαμε τὰ κύτταρα 3 φορές για νά απαλλαγούμε από τή πρόσμειξη Ficoll - Hyaque.

Τὸν καθαρό λεμφοκυτταρικό πληθυσμό άραιώναμε με RPMI - FCS σε τελική συγκέντρωση 5.0×10^6 κύτταρα/ml. 0.1 ml από τὸ έναίώρημα αυτό (5.0×10^5 κύτταρα) τοποθετούσαμε σε μικρά τρυβλία στο σύστημα μικροκαλλιιεργειών. Μετά προσθέταμε 0,05 ml PHA σε συγκέντρωση τέτοια που νά μās δίνει τελική συγκέντρωση στο σύστημα 5 μg/ml. Τὸ φάρμακο που θέλαμε νά ελέγξουμε (HCG) τοποθετούσαμε επίσης στην επιθυμητή συγκέντρωση (10 ως 5000 IU/ml) σε 0,05 ml.

Ὁ τελικός όγκος σε κάθε μικροκαλλιέργεια ήταν 0,2 ml. Στις καλλιέργειες που χρησίμευαν για μάρτυρες αντί του φαρμάκου βάζαμε ίση ποσότητα RPMI - FCS.

Όλες οί ομάδες καλλιεργούνταν σε έξαπλές καλλιέργειες.

Για τὸν έλεγχο τής κατασταλτικής δράσης διεγερμένων μακροφάγων με HCG, στα T λεμφοκύτταρα, ακολουθούσαμε τήν παρακάτω τεχνική (149). Σε μικροτρυβλία με επίπεδο πυθμένα (Flat bottom microtiter Plates) τοποθετούσαμε φυσιολογικά μακροφάγα ή in-vivo διεγερμένα με HCG, σε διάφορες συγκεντρώσεις (2.0×10^5 , 1.0×10^5 , 0.5×10^5 κύτταρα) και ακολουθούσαμε τήν διαδικασία άπομόνωσης που περιγράψαμε προηγούμενα. Στην περίπτωση που χρησιμοποιούσαμε φυσιολογικά ΜΦ προσθέταμε στις μονοστιβάδες τις κατάλληλες συγκεντρώσεις HCG. Στις μονοστιβάδες αυτές μακροφάγων προσθέταμε 5.0×10^5 λεμφοκύτταρά άπομονωμένα με τὸν τρόπο που περιγράψαμε πιο πάνω και τὸ μιτογόνο PHA.

Η τελική αναλογία ΜΦ πρὸς λεμφοκύτταρα ήταν 40%, 20% και 10%.

Μετά τή παραπάνω διαδικασία βάζαμε τις καλλιέργειες στον κλίβανο για 72 ώρες. Έξη ώρες πριν από τὸ τέλος τής έπώασης σε κάθε μικροτρυβλίο προσθέταμε 0,05 ml RPMI - FCS που είχε 0.5 μCi $^3\text{HTdR}$.

Μετά τὸ τέλος του χρόνου έπώασης τὸ περιεχόμενο τών καλλιιεργειών αναρροφούσαμε με ειδική συσκευή (MASH II, Microbiological Associates, Los Angeles Cal.) και όλα τὰ κύτταρα κατακρατοῦνταν σε φίλτρα από



υαλοβάμβακα (Glass Fiber Filters, Whatman Inc.) σχηματίζοντας μικρούς δίσκους.

Τους δίσκους αυτούς μεταφέραμε σέ μικρά γυάλινα φυαλίδια, προσθέταμε 10 ml υγρό σπινθηρισμού (Scintillation fluid, Aquasol, New England Nuclear) και την περιεκτικότητα σέ $^3\text{HTdR}$ μετρούσαμε μέ μετρητή β-άκτινοβολίας (LS - 350 Beckman Corporation, Fullerton, Ca.).

Τά αποτελέσματά μας έκφράζουμε σάν έπί τοίς έκατό ποσοστό ένσωμάτωσης $^3\text{HTdR}$ ή σάν έπί τοίς έκατό ποσοστό άναστολής ένσωμάτωσης $^3\text{HTdR}$ συγκρίνοντας τίς πειραματικές όμάδες πρός τοίς μάρτυρες. Ή σύγκριση γινόταν μετά την άφαίρεση τών κρούσεων πού δίναν οί καλλιέργειες χωρίς ΡΗΑ.

4. Έλεγχος παραγωγής προσταγλανδινών (PG) in - vitro από τά περιτοναϊκά μακροφάγα

Γιά τόν έλεγχο τής παραγωγής προσταγλανδινών από τά περιτοναϊκά μακροφάγα ποντικίων μετά την έπίδραση CHCG άκολουθήσαμε την παρακάτω τεχνική: Σέ καλλιέργειες περιτοναϊκών μακροφάγων (1.0×10^6 κύτταρα σέ κάθε τρυβλίο, 16 mm Costar plates) προσθέταμε τρείς συγκεντρώσεις C.HCG (100, 500 και 2.500 IU/ml). Σέ μιά τέταρτη όμάδα καλλιεργειών πού χρησίμευε σάν μάρτυρας βάλαμε μόνο RPMI - FCS. Γιά νά έλέγξουμε άν προϋπήρχαν PG στο θρεπτικό ύλικό χρησιμοποιήσαμε μιά άλλη όμάδα μάρτυρα πού είχε μόνο RPMI - FCS και c.HCG στις διάφορες συγκεντρώσεις. Έλέγξαμε έπίσης την ύπαρξη PG στα σκευάσματα τής HCG άφοϋ τή διαλύσαμε σέ φυσιολογικό όρρο.

Γιά νά έλέγξουμε την παραγωγή PG από τά μακροφάγα έγκυων ποντικίων, πήραμε περιτοναϊκά ΜΦ από ποντίκια τών τριών ήλικιών κύησης (Preg. 1, Preg. 2, Preg. 3). Σάν μάρτυρα χρησιμοποιήσαμε καλλιέργειες από φυσιολογικά μη έγκυα ποντίκια. Και σ' αύτή την περίπτωση ή κάθε καλλιέργεια είχε 1.0×10^6 μακροφάγα σέ κάθε τρυβλίο (16 mm Costar plates).

Όλες τίς καλλιέργειες τίς τοποθετούσαμε σέ κλίβανο και δείγματα από τά υπερκείμενα υγρά τών καλλιεργειών παίρναμε σέ τρία χρονικά διαστήματα: 16 ώρες, 24 ώρες και 48 ώρες από την έναρξη τοϋ πειράματος. Άπό κάθε δείγμα βάσαμε 2 ml υπερκείμενου υγροϋ σέ γυάλινα κωνικά σωληνάκια τών 10 ml και φυγοκεντρούσαμε σέ $1000 \times g$ γιά 10 λεπτά γιά νά άπαλλαγούμε από όλα τά κυτταρικά στοιχεία. Άμέσως μετά ψύχαμε τά δείγματα σέ μείγμα άκετόνης - ξηροϋ πάγου (-270°C) και τά φυλάγαμε σέ ψυγείο (-20°C) μέχρι τó τέλος τοϋ πειράματος.

Ό προσδιορισμός τών προσταγλανδινών έγινε στα έργαστήρια τοϋ



Ἑθνικοῦ Ἰνστιτούτου Ἀλλεργίας καὶ λοιμωδῶν νόσων (N.I.A.I.D.), N.I.H. Bethesda Maryland, ἀπὸ τὴν Δρ. Linda Steel. Χρησιμοποιήθηκε ἡ τροποποιημένη (165) ραδιοανοσολογικὴ τεχνικὴ τῆς Jaffe καὶ συν. (166).

5. Ἀντίδραση ὑπερευαισθησίας ἐπιβραδυνομένου τύπου (Delayed Type Hypersensitivity, DTH).

Ἡ DTH ἀποτελεῖ μιὰ καλὴ in-vivo μέθοδο γιὰ τὸν ἔλεγχο τῆς κυτταρικῆς ἀνοσίας καὶ εἰδικότερα τὸ βαθμὸ ἐπαρκείας τῶν T-λεμφοκυττάρων καὶ μακροφάγων.

Στὰ πειράματά μας ἀκολουθήσαμε τὴν παρακάτω τεχνικὴ (163).

Κάθε ομάδα περιλάμβανε 8 ποντίκια. Στὶς πειραματικὲς ομάδες ποντικίων χορηγήσαμε ἐνδοπεριτοναϊκὰ HCG ἐπὶ 5 μέρες (1000 ἢ 100 IU/ποντίκι).

Στὴν ομάδα ποντικίων ποὺ χρησίμευε γιὰ μάρτυρας χορηγοῦσαμε φυσιολογικὸ ὕδρῳ.

Τὴν 5ῃ μέρα στὸ πίσω ἀριστερὸ πέλμα τοῦ ποντικιοῦ κάναμε ὑποδόρια ἔνεση 1.0×10^8 ἐρυθρῶν προβάτου. Στὴν ομάδα ποντικίων ποὺ χρησίμευε γιὰ θετικὸς μάρτυρας χορηγοῦσαμε τὴν ἴδια μέρα ἐνδοπεριτοναϊκὰ, πυράνη (25 mg/kg).

Τέσσερες μέρες ἀργότερα κάναμε καὶ πάλι ὑποδόρια ἔνεση 1.0×10^8 ἐρυθρῶν προβάτου στὸ πίσω δεξιὸ πέλμα κάθε ποντικιοῦ καὶ 24 ὥρες ἀργότερα μὲ εἰδικὴ συσκευὴ μετροῦσαμε τὸ πάχος καὶ τῶν δύο πίσω πελμάτων ἀφοῦ πρῶτα θυσιάζαμε τὰ ποντίκια.

Ὁ μέσος ὅρος τῆς διαφορᾶς πάχους τῶν δύο πελμάτων ἀποτελοῦσε τὴν ἀπόκριση τῆς ομάδος στὴν δοκιμασίᾳ ὑπερευαισθησίας ἐπιβραδυνομένου τύπου. Κάθε πειραματικὴ ομάδα συγκρίναμε μὲ τὸν μάρτυρα ποὺ εἶχε πάρει μόνον ἐρυθρὰ προβάτου.

Γιὰ τὴν στατιστικὴ ἀνάλυση τῶν ἀποτελεσμάτων χρησιμοποίησαμε τὸ Student «t» test.

Σημαντικὰ ἀποτελέσματα θεωροῦσαμε ἐκεῖνα μὲ $P < 0.05$. Βοηθήματα (136, 137).



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

NK δραστηριότητα των σπληνοκυττάρων από έγκυα BALB/C ποντίκια.

Γιά την μελέτη της NK δραστηριότητας κατά την κύηση πήραμε έγκυα BALB/c ποντίκια διασταυρωμένα με DBA ποντίκια ηλικίας κύησης 8 - 9 ημερών. Σάν μάρτυρα χρησιμοποιήσαμε φυσιολογικά μή έγκυα, BALB/c ποντίκια της ίδιας ηλικίας με τα έγκυα ποντίκια.

Τά σπληνοκύτταρα από τά έγκυα ποντίκια παρουσίασαν σημαντικά μεγαλύτερη NK δραστηριότητα άπ' ότι τά σπληνοκύτταρα των μαρτύρων σέ όλες τις αναλογίες κυττάρων πού χρησιμοποιήσαμε (διαγρ. 1).

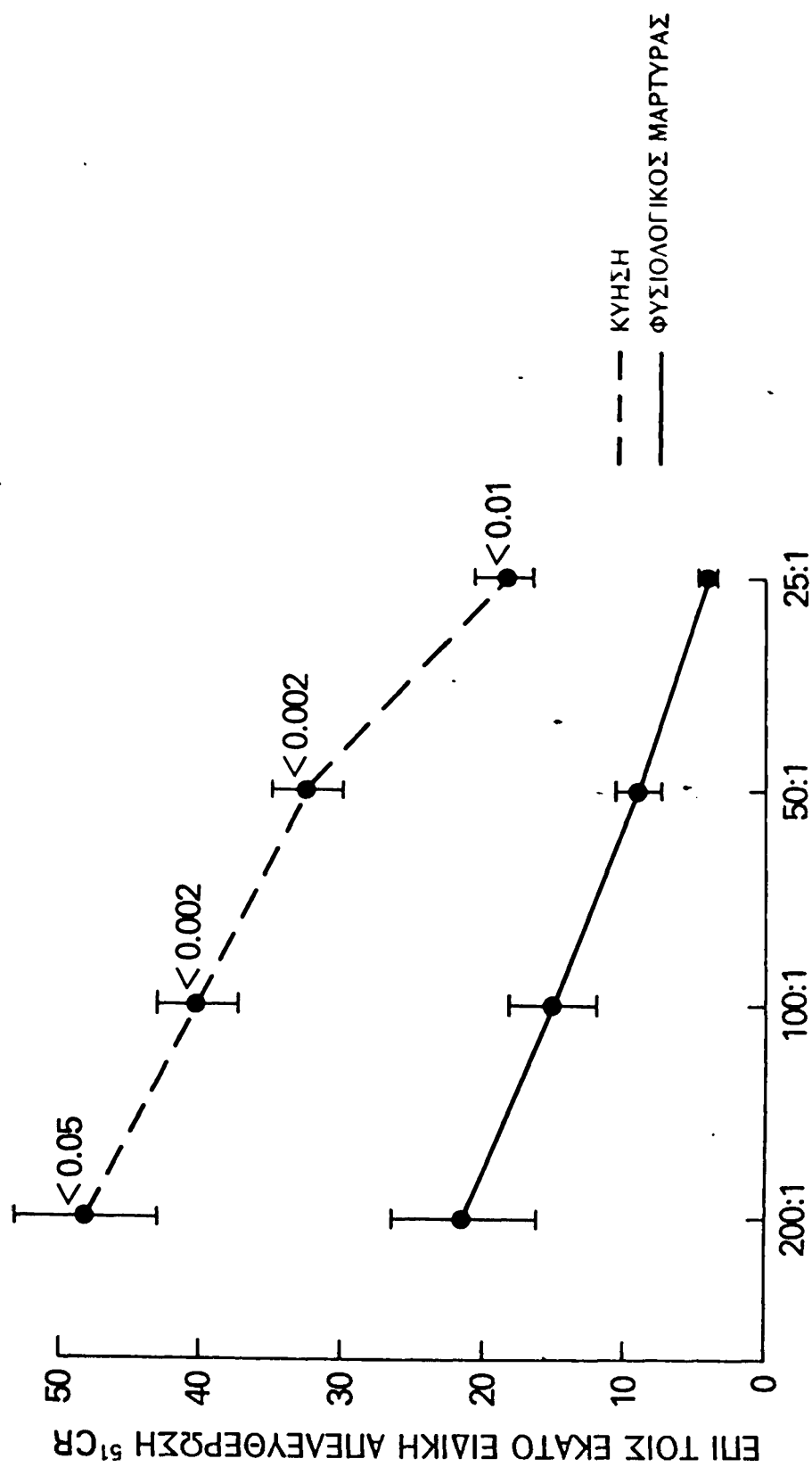
Μετά από αύτή την παρατήρηση μελετήσαμε την NK δραστηριότητα μέ τή πρόοδο της κύησης. Γιά τό λόγο αύτό χωρίσαμε τά έγκυα ποντίκια σέ τρεις ομάδες. Άρχική κύηση (Preg 1, κύηση 8 - 9 ημερών), μέση κύηση (Preg 2, κύηση 12 - 13 ημερών) και προχωρημένη κύηση (Preg 3, κύηση 17 - 18 ημερών). Τά άποτελέσματα από τά πειράματα αύτά φαίνονται στο διάγρ. 2. Τά ποντίκια της πρώτης ομάδας (Preg 1) είχαν σημαντικά αύξημένη NK δραστηριότητα σέ όλες τις αναλογίες κυττάρων πού έλέγξαμε. Οί άλλες δύο ομάδες (Preg 2, Preg 3) είχαν σημαντικά αύξημένη δραστηριότητα μόνο στίς τρεις μεγαλύτερες αναλογίες κυττάρων.

Στό διάγρ. 3 φαίνονται τά άποτελέσματα πρίν και μετά τή χορήγηση του άντιμακροφαγικού παράγοντα λ-carrageenan, σέ φυσιολογικά ή έγκυα BALB/c ποντίκια (Preg 1), 18 ώρες πρίν από τή θανάτωση των πειραματοζών. Ή NK δραστηριότητα στά έγκυα ποντίκια έλαττώθηκε σημαντικά μετά τή χορήγηση του λ-carrageenan, ενώ στά φυσιολογικά μή έγκυα ποντίκια ούσιαστικά μηδενίστηκε. Τά άποτελέσματα αύτά ένθισχύουν την άποψη ότι τά ΜΦ αύξάνουν την NK δραστηριότητα.

Έπίδραση της C.HCG στην NK δραστηριότητα σπληνοκυττάρων από φυσιολογικά και μή έγκυα BALB/c ποντίκια.

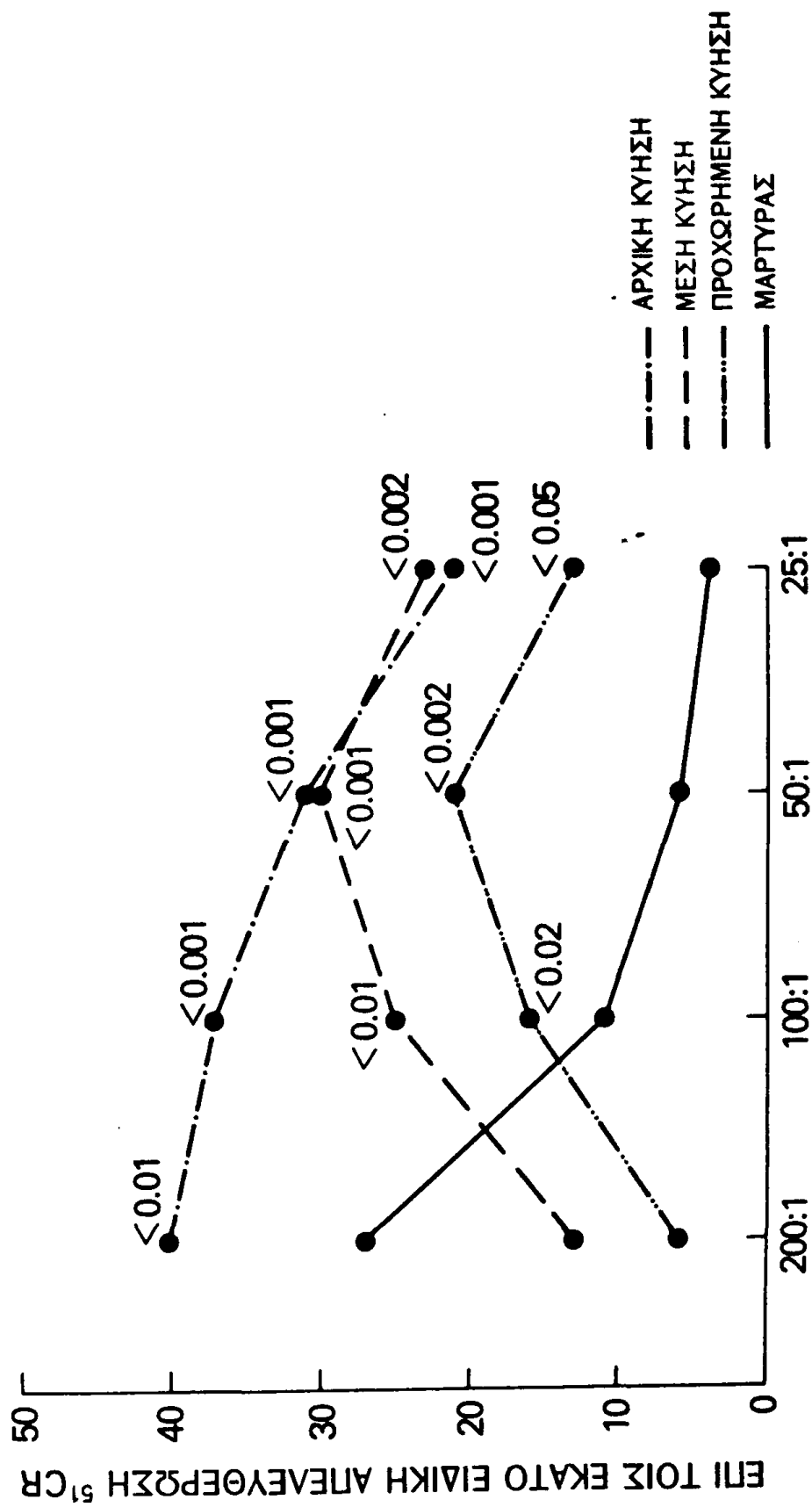
Ή ένδοφλέβια χορήγηση C.HCG (500 IU/ποντίκι) σέ θηλυκά μή έγκυα BALB/c ποντίκια είχε σαν άποτέλεσμα την στατιστικά σημαντική





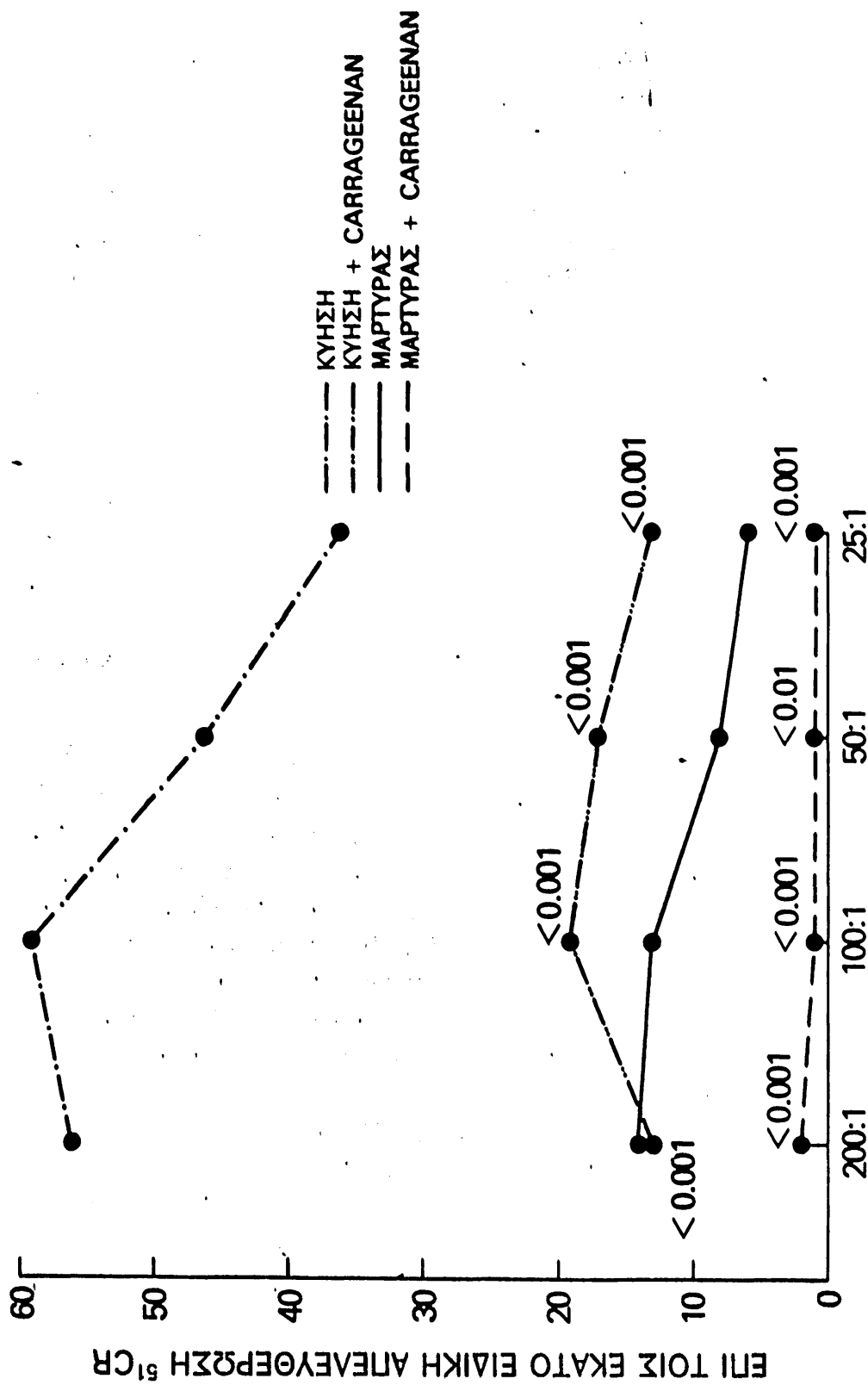
ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ/ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΟΧΟΣ

Διάγραμμα 1. NK δραστηριότητα των σπληνοκυττάρων από φυσιολογικά ή έγκυα BALB/c ποντίκια. Και οι δύο ομάδες ποντικών ήταν ηλικίας 6 ως 8 εβδομάδων και η πειραματική ομάδα βρισκόταν στην 8η ως 9η ημέρα κύησης. Τα αποτελέσματα αποτελούν το μέσο όρο από τρία ξεχωριστά πειράματα. Οι κάθετες γραμμές παριστάνουν $\pm$ ένα σταθερό λάθος από τη μέση τιμή.



ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ/ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΟΧΟΣ

Διάγραμμα 2. NK δραστηριότητα των σπληνοκυττάρων από φυσιολογικά και έγκυα BALB/c ποντίκια. Τα αποτελέσματα κάθε αναλογίας κυττάρων/κύτταρα στόχους, από τις τρεις ομάδες έγκυων ποντικών συγκρίνονται προς την αντίστοιχη της ομάδας του μάρτυρα.



ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ/ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΟΧΟΣ

Διάγραμμα 3. NK δραστηριότητα των σπληνοκυττάρων από φουσιολογικά και έγκυα BALB/c ποντίκια (Preg. 1), πριν και 18 ώρες μετά την ένδοφλέβια χορήγηση 1 mg λ-carrageenan. Στο Student «t» test συγκρίνονται οι σχετικές ομάδες πριν και μετά τη χορήγηση του λ-carrageenan.

αύξηση της NK δραστηριότητας των σπληνοκυττάρων (διαγρ. 4). Τήν c.HCG χορηγήσαμε 1, 2 ή 6 μέρες πρωτού θυσιάσουμε τὰ πειραματόζωα. Ἡ ἐνδοπεριτοναϊκή χορήγηση τῆς ὁρμόνης ἐπίσης εἶχε σὰν ἀποτέλεσμα τὴν αὐξηση τῆς NK δραστηριότητας τῶν σπληνοκυττάρων (διάγρ. 5). Τήν c.HCG καὶ σ' αὐτὴ τὴν περίπτωση χορηγήσαμε σὲ δόση 500 IU/ποντίκι ἀλλὰ σὲ περισσότερες ἡμερήσιες χορηγήσεις (2, 4 ἢ 10 δόσεις). Τὰ πιὸ πάνω πειράματα πραγματοποιήσαμε σὲ ἀνοσολογικὰ ἀλλογενὲς σύστημα (σπληνοκύτταρα ἀπὸ BALB/c ποντίκια ἐναντίον YAC-1 καρκινικῶν κυττάρων ποὺ ἀναπτύχθηκαν σὲ γένος A ποντικίων). Γιὰ τὸ λόγο αὐτὸ θεωρήσαμε σκόπιμο νὰ διερευνήσουμε τὴν NK δραστηριότητα καὶ σὲ συγγενὲς σύστημα χρησιμοποιώντας τὸν ὄγκο M109 ποὺ ἀναπτύχθηκε αὐτόματα σὲ BALB/c ποντίκια.

Καὶ στὴν περίπτωση αὐτὴ ἡ χρησιμοποίηση c.HCG εἶχε σὰν ἀποτέλεσμα τὴ μικρὴ ἀλλὰ στατιστικὰ σημαντικὴ, αὐξηση τῆς NK δραστηριότητας τῶν σπληνοκυττάρων στὶς περισσότερες ἀπὸ τὶς ἀναλογίες κυττάρων ποὺ χρησιμοποιήσαμε (διάγρ. 6).

Ἡ *in-vitro* ἐνεργοποίηση περιτοναϊκῶν μακροφάγων μὲ c.HCG.

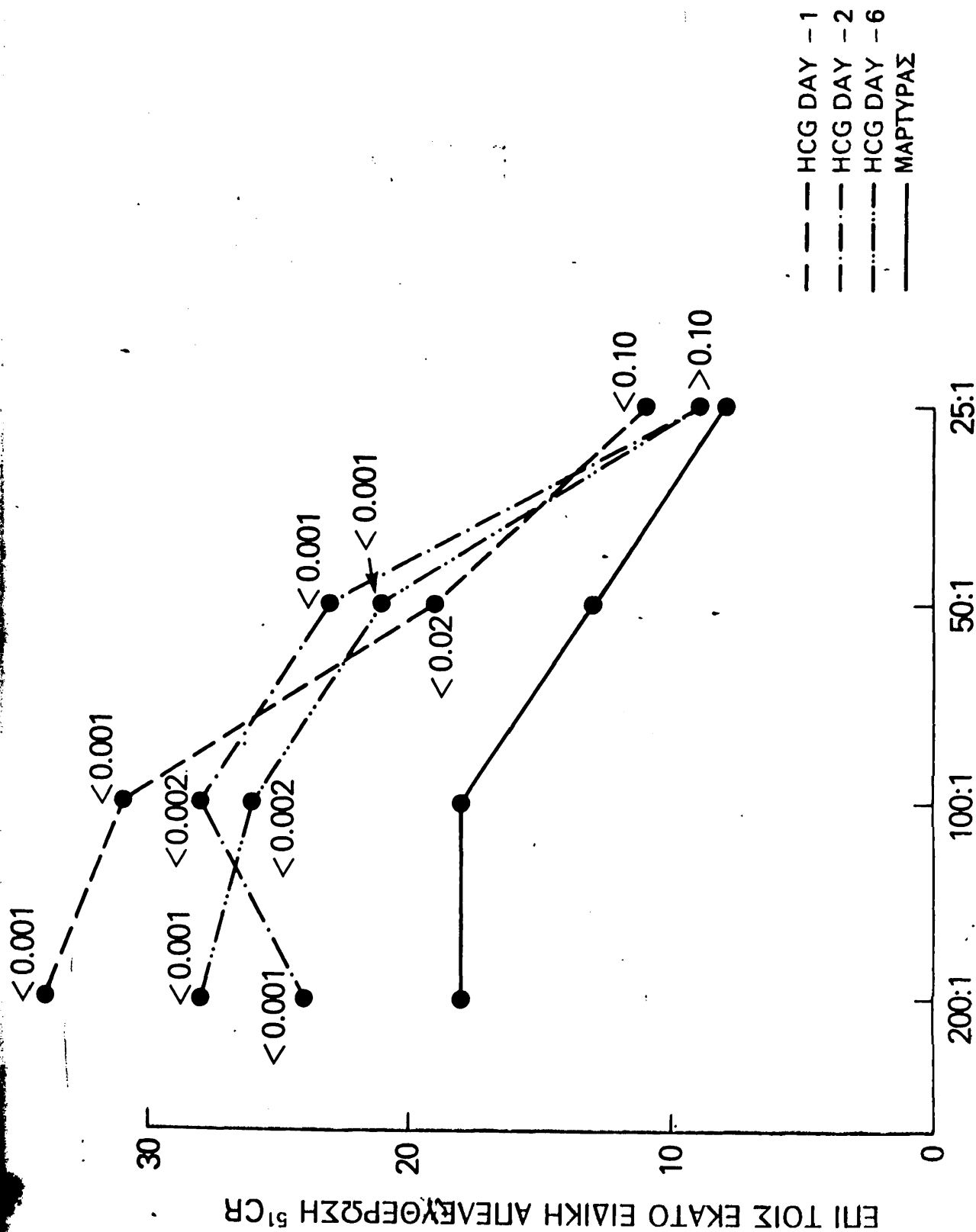
Γιὰ νὰ ἐλέγξουμε τὴν ἱκανότητα τῆς c.HCG νὰ διεγείρει φυσιολογικὰ περιτοναϊκὰ ΜΦ, προσθέσαμε συγκεντρώσεις τῆς ὁρμόνης ἀπὸ 1 ὠς 5.000 IU/ml σὲ καλλιέργειες ΜΦ ποὺ πήραμε ἀπὸ BALB/c ποντίκια (διάγρ. 7). Συγκεντρώσεις τῆς ὁρμόνης μικρότερες ἀπὸ 10 IU/ml δὲν εἶχαν σημαντικὴ διεγερτικὴ δράση στὶς μακροφαγικὲς μονοστιβάδες. Καλλιέργειες ΜΦ στὶς ὁποῖες εἶχε προστεθεῖ c.HCG 100 IU/ml εἶχαν κατασταλτικὴ δράση στὴν ἀνάπτυξη τῶν MBL-2 κυττάρων σὲ ποσοστὸ $41 \pm 9\%$ ($P < 0,05$), ἐνῶ καλλιέργειες ΜΦ μὲ συγκέντρωση c.HCG μεγαλύτερη τῶν 500 IU/ml εἶχαν κατασταλτικὴ δράση ποὺ ἔφθανε σὲ ποσοστὸ μέχρι καὶ $70 \pm 6\%$ ($P < 0,01$).

Φυσιολογικὰ ΜΦ (χωρὶς τὴν προσθήκη c.HCG) δὲν εἶχαν κατασταλτικὴ δράση στὴν ἀνάπτυξη τῶν MBL - 2 κυττάρων. Ἡ c.HCG καὶ σὲ ψηλὲς ἀκόμη συγκεντρώσεις (5000 IU/ml) δὲν ἦταν ἄμεσα κυτταροτοξικὴ γιὰ τὰ MBL - 2 κύτταρα.

Τὴν IF χρησιμοποιήσαμε στὰ πειράματά μας σὰν θετικὸ μάρτυρα λόγω τῆς γνωστῆς ιδιότητάς της νὰ ἐνεργοποιεῖ τὰ περιτοναϊκὰ ΜΦ (25).

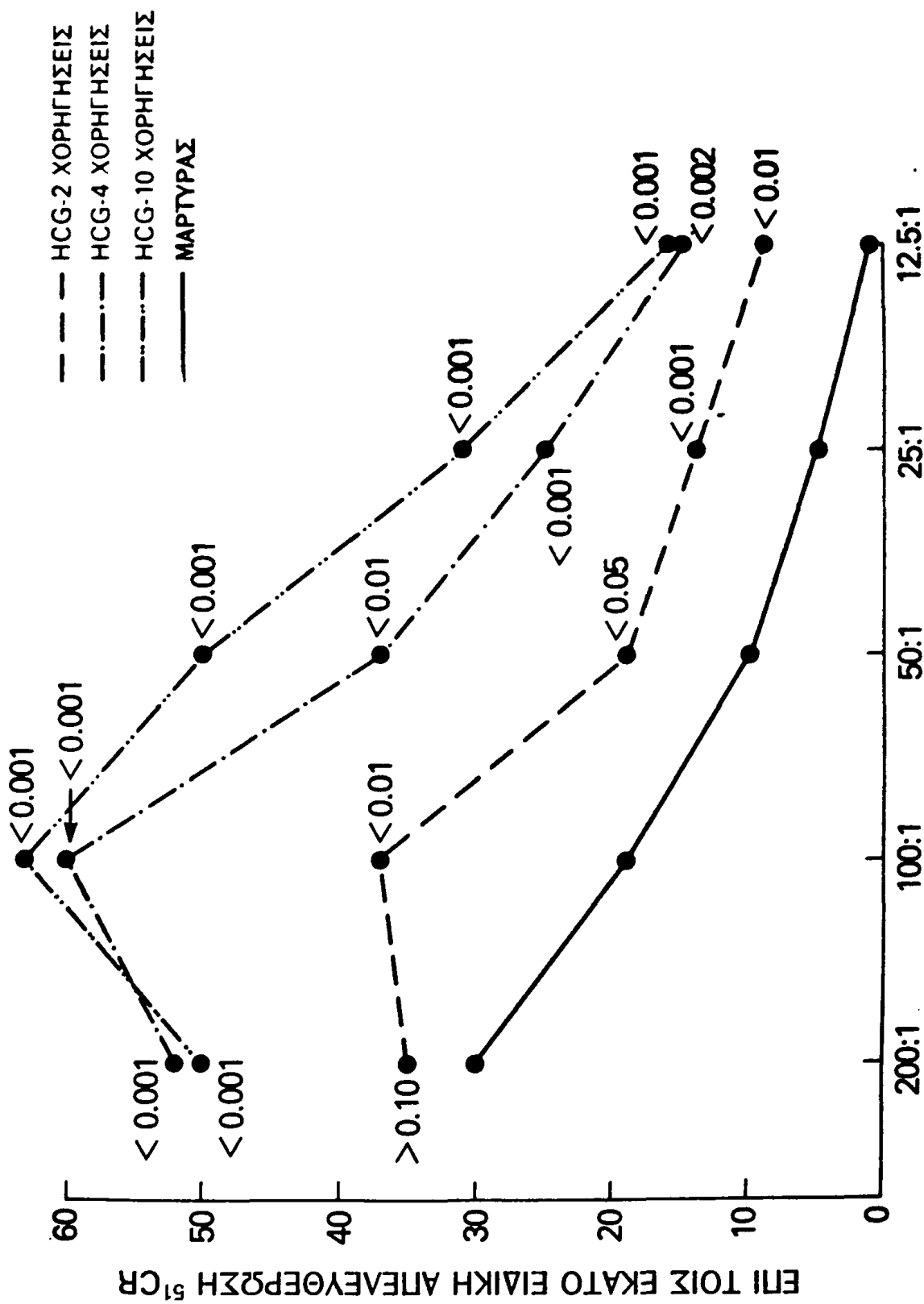
Τὴν ἐνεργοποίηση τοῦ ΜΦ ἐκτὸς ἀπὸ τὶς λειτουργικὲς καὶ βιοχημικὲς συνοδεύουν καὶ μορφολογικὲς μεταβολές. Στὴν εἰκόνα Ια παρουσιάζονται φυσιολογικὰ ΜΦ ἐνῶ στὴν εἰκόνα Ιβ ΜΦ μετὰ ἀπὸ ἐνεργοποίηση μὲ c.HCG. Τὰ ἐνεργοποιημένα ΜΦ εἶναι μεγαλύτερα σὲ μέγεθος, ἐμφανίζουν





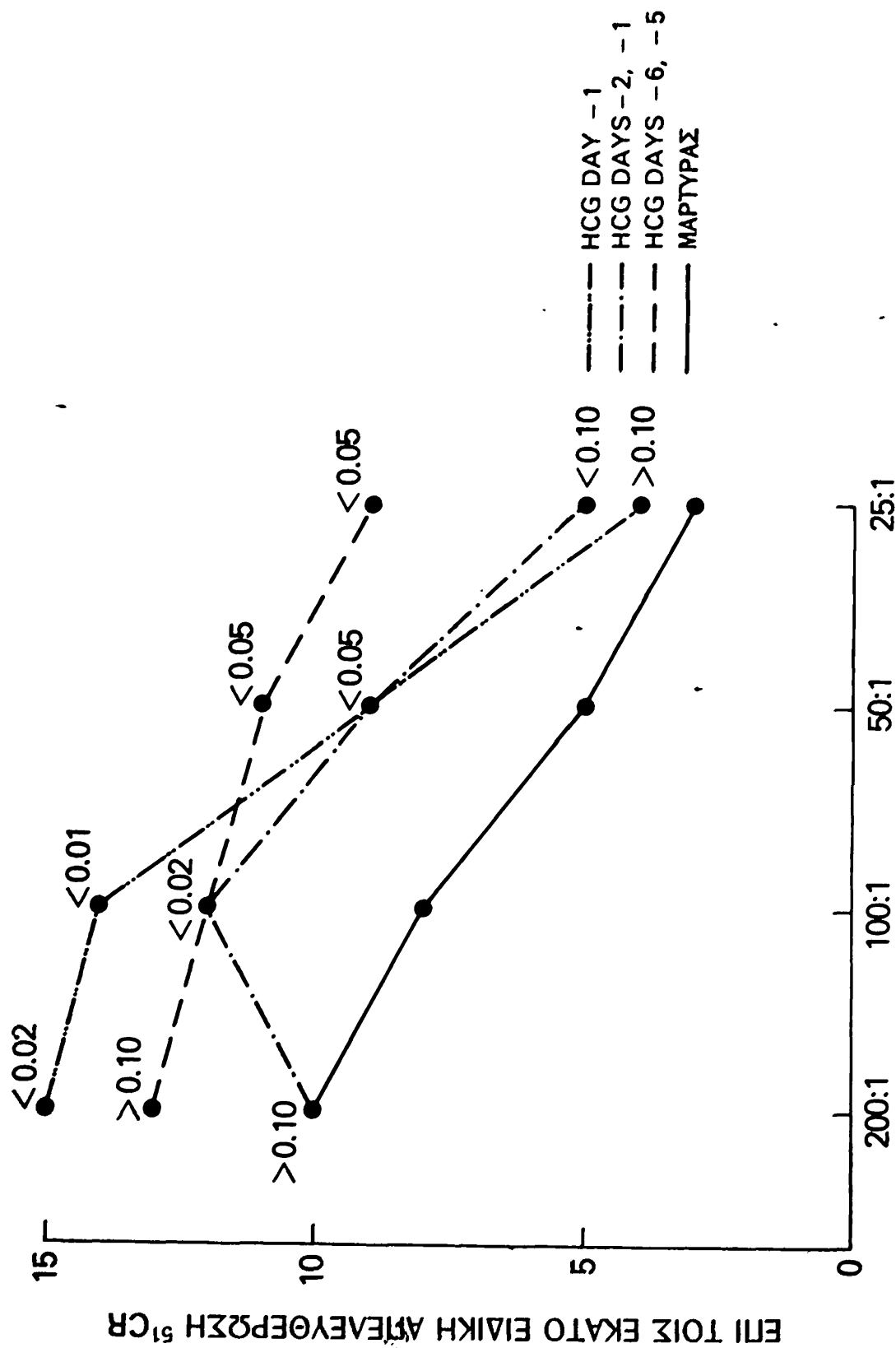
ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ/ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΟΧΟΣ

Διάγραμμα 4. ΝΚ δραστηριότητα σπληνοκυττάρων από φυσιολογικά BALB/c ποντίκια ή ποντίκια μετά την ένδοφλέβια χορήγηση 500 IU ανθρώπινης χοριονικής γοναδοτροπίνης (c.HCG). Η όρμηση χορηγήθηκε σε 0.5 ml φυσιολογικό όρρο 1, 2 ή 6 ημέρες πριν από τη θανάτωση των πειραματοζώων. Στους μάρτυρες χορηγήθηκε αντίστοιχα 0.5 ml φυσιολογικός όρρος.



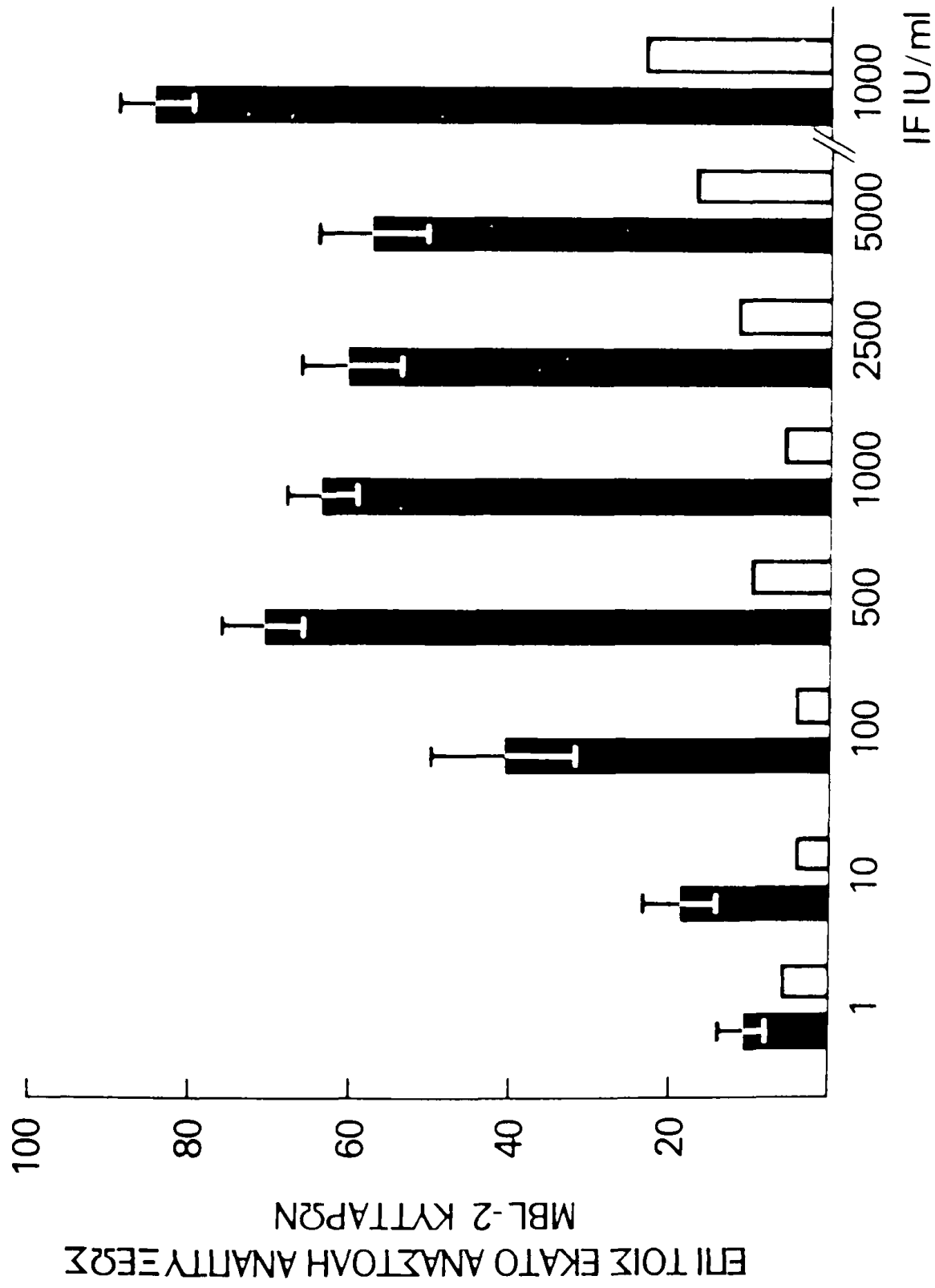
ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ/ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΟΧΟΣ

Διάγραμμα 5. NK δραστηριότητα σπληνοκυττάρων από φυσιολογικά BALB/c ποντίκια ή ποντίκια μετά τη χορήγηση ανθρώπινης χοριογόνινης γοναδοτροπίνης (c.HCG). Η όρμηση χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά σε ήμε- ρήσιες δόσεις των 500 IU για 2, 4 ή 10 μέρες. Η σύγκριση γίνεται προς την ομάδα των μαρτύρων στην οποία χορηγήθηκε φυσιολογικός όρμος για 10 μέρες.



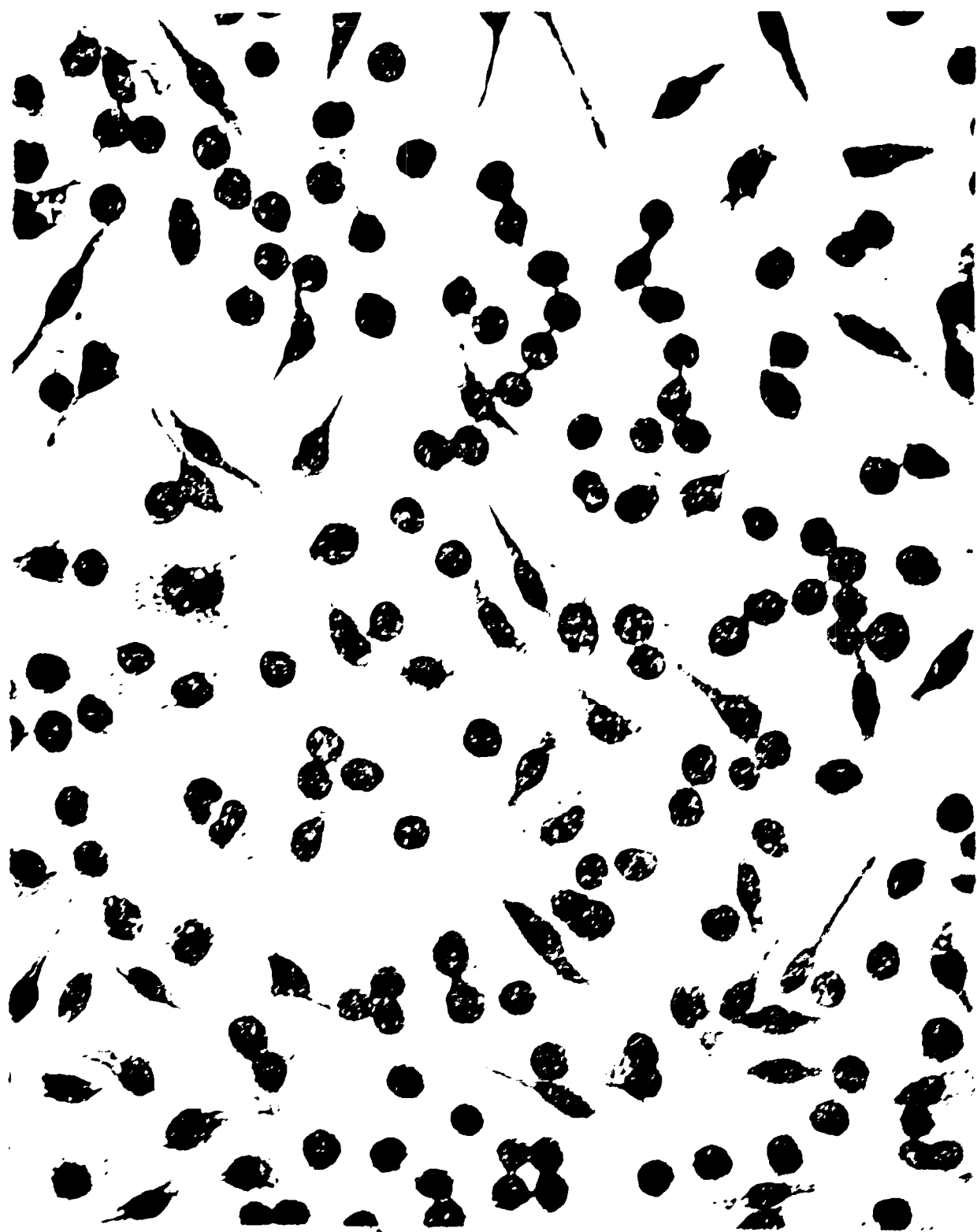
ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ/ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΟΧΟΣ

Διάγραμμα 6. ΝΚ δραστηριότητα σπληνοκυττάρων από BALB/c ποντίκια πριν και μετά τη χορήγηση χοριονικής γοναδοτροπίνης. Τα αποτελέσματα δείχνουν το ποσοστό καταστροφής των Μ109 καρκινικών κυττάρων που είναι σειρά συγγενής προς τα BALB/c ποντίκια.

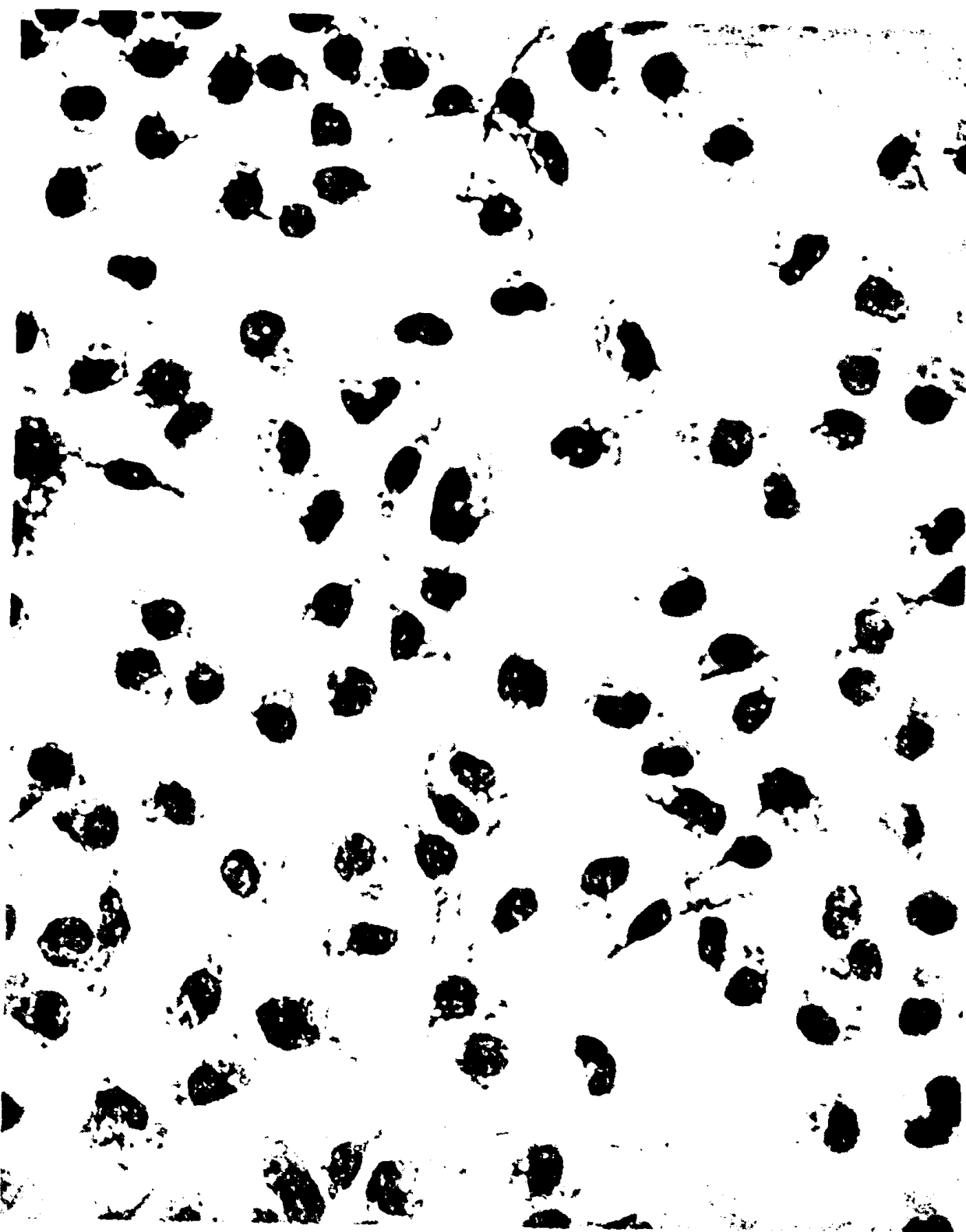


ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΧΟΡΙΟΝΙΚΗ ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΠΙΝΗ IU/ml

Διάγραμμα 7. Αύξηση κυτταροτοξικότητας ΜΦ κατά την in-vitro προσθήκη c.HCG. Τα αποτελέσματα αποτελούν τον μέσο όρο τριών ξεχωριστών πειραμάτων. Οι κάθετες γραμμές δείχνουν $\pm$ ένα σταθερό λάθος από τη μέση τιμή. Όλες οι ομάδες συγκρίνονται προς τον μάρτυρα που δεν είχε HCG.



Εἶκ δ α ια) Φυσιολογικὰ Μφ.

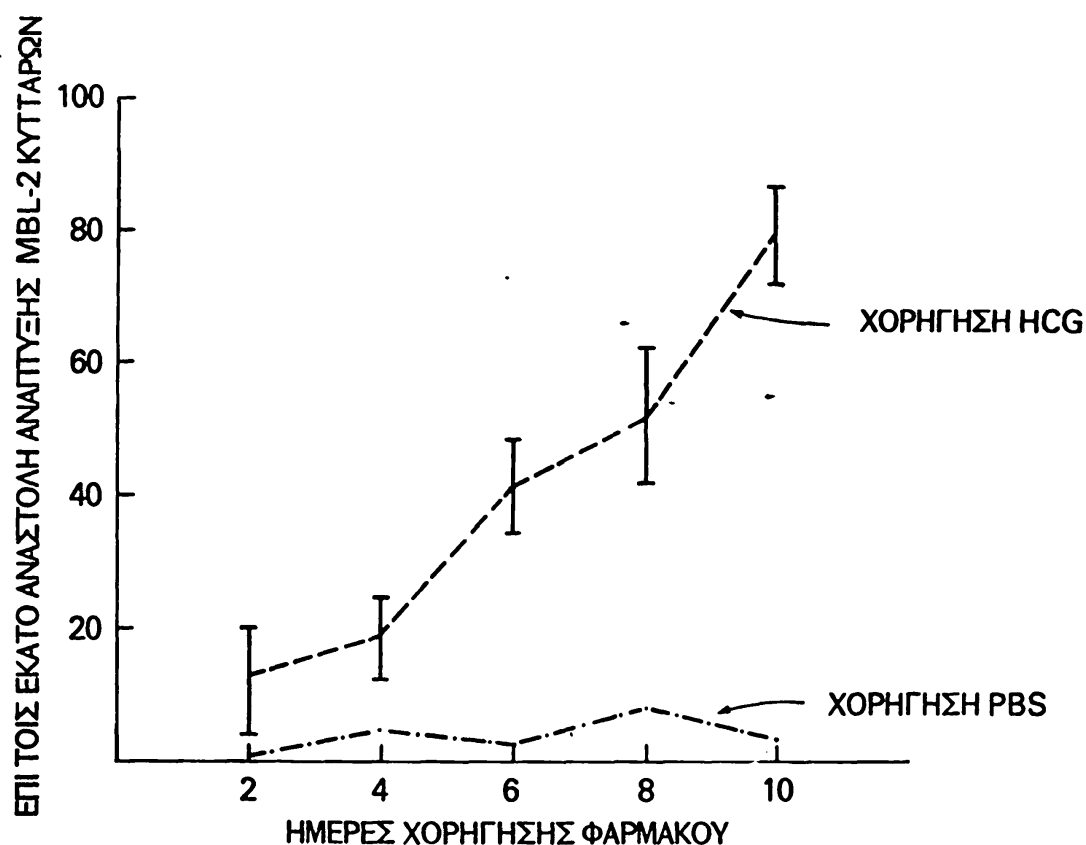


Είκονα Ιβ) ΜΦ μετά από ένεργοποίηση με c.HCG.

πολλά κοκκία (ριβοςώματα) στο κυτταρόπλασμά τους και αυξημένο αριθμό προεκβολών (ψευδοποδίων).

Ἡ *in-vivo* διέγερση περιτοναϊκῶν ΜΦ με c.HCG.

Τὴν HCG χορηγήσαμε ἔνδοπεριτοναϊκά σὲ ἡμερήσιες δόσεις 500 IU/ποντίκι. Ὅπως φαίνεται στὸ διάγρ. 8 σὲ πέντε ομάδες BALB/c ποντικίων χορηγήθηκε ἡ ὁρμόνη γιὰ 2, 4, 6, 8 καὶ 10 μέρες. Σὲ ἄλλες τόσες ομάδες ποντικίων ποὺ χρησίμευαν σὰν μάρτυρες χορηγήθηκε τὶς ἀντίστοιχες μέρες φυσιολογικὸς ὁρρός.



Διάγραμμα 8. Αύξηση τῆς κυτταροτοξικότητας τῶν ΜΦ μετὰ τὴν *in-vivo* χορήγηση c.HCG σὲ BALB/c ποντίκια. Στὶς πειραματικὲς ομάδες χορηγήθηκαν καθημερινὲς δόσεις c.HCG (500 IU) ἀπὸ 2 ὠς 10 μέρες, ἐνῶ στοὺς μάρτυρες χορηγήθηκε τὶς ἀντίστοιχες μέρες φυσιολογικὸς ὁρρός. Τὰ ἀποτελέσματα εἶναι μέσος ὅρος ἀπὸ τριπλὲς καλλιέργειες δυὸ ξεχωριστῶν πειραμάτων. Οἱ κάθετες γραμμὲς εἶναι $\pm$ ἓνα σταθερὸ λάθος ἀπὸ τὴ μέση τιμή.

Τὰ περιτοναϊκά ΜΦ ποὺ πάρθηκαν ἀπὸ τὶς πρὶν πάνω ομάδες ποντικίων ἐλέγχθηκαν γιὰ τὴν ἱκανότητά τους νὰ ἀναστέλλουν τὴν ἀνάπτυξη τῶν MBL-2 κυττάρων. Οἱ ομάδες ποὺ πῆραν τὴν ὁρμόνη γιὰ 2 ἢ 4 μέρες δὲν ἔδωσαν στατιστικὰ σημαντικὰ ἀποτελέσματα ($P > 0,05$), ἐνῶ τὰ ΜΦ ἀπὸ



τις υπόλοιπες ομάδες έδωσαν ποσοστό καταστολής μέχρι $80 \pm 7\%$. Τα ΜΦ από τις ομάδες ποντικίων που πήραν φυσιολογικό όρρο δεν είχαν κατασταλτική επίδραση στην ανάπτυξη των MBL - 2 κυττάρων.

Έλεγχος δραστηριότητας της PHA και τοξικότητας της c.HCG.

Αρχικά μελετήσαμε την δράση της PHA στο σύστημα καλλιέργειών που θα χρησιμοποιούσαμε. Δοκιμάσαμε συγκεντρώσεις PHA από 0,1 $\mu\text{g/ml}$ ως 20 $\mu\text{g/ml}$ (πίνακας 4). Την καλύτερη απόκριση σε κρούσεις ανά λεπτό πήραμε σε συγκέντρωση PHA 5 $\mu\text{g/ml}$, για το λόγο αυτό χρησιμοποιήσαμε τη συγκέντρωση αυτή σε όλα μας τα πειράματα.

Μιά άλλη πληροφορία που χρειαζόμαστε από την αρχική φάση των πειραμάτων, ήταν κατά πόσο ή c.HCG είχε άμεση κυτταροτοξική δράση στον λεμφοκυτταρικό πληθυσμό. Γι' αυτό επώασαμε τριπλές καλλιέργειες λεμφοκυττάρων (5.0×10^5 κύτταρα/καλλ.) με συγκεντρώσεις c.HCG από 10 ως 5.000 IU/ml για 72 ώρες.

Τόν αριθμό των ζωντανών λεμφοκυττάρων μετρήσαμε αφού προσθέσαμε στις καλλιέργειες 0,5 ml κυανού του τρυπανίου (0,04%). Όπως φαίνεται στον πίν. 5, δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των πειραματικών ομάδων και της ομάδας του μάρτυρα στην οποία δεν προσθέσαμε c.HCG.

Η επίδραση της HCG στην βλαστογενετική απόκριση των λεμφοκυττάρων στην PHA.

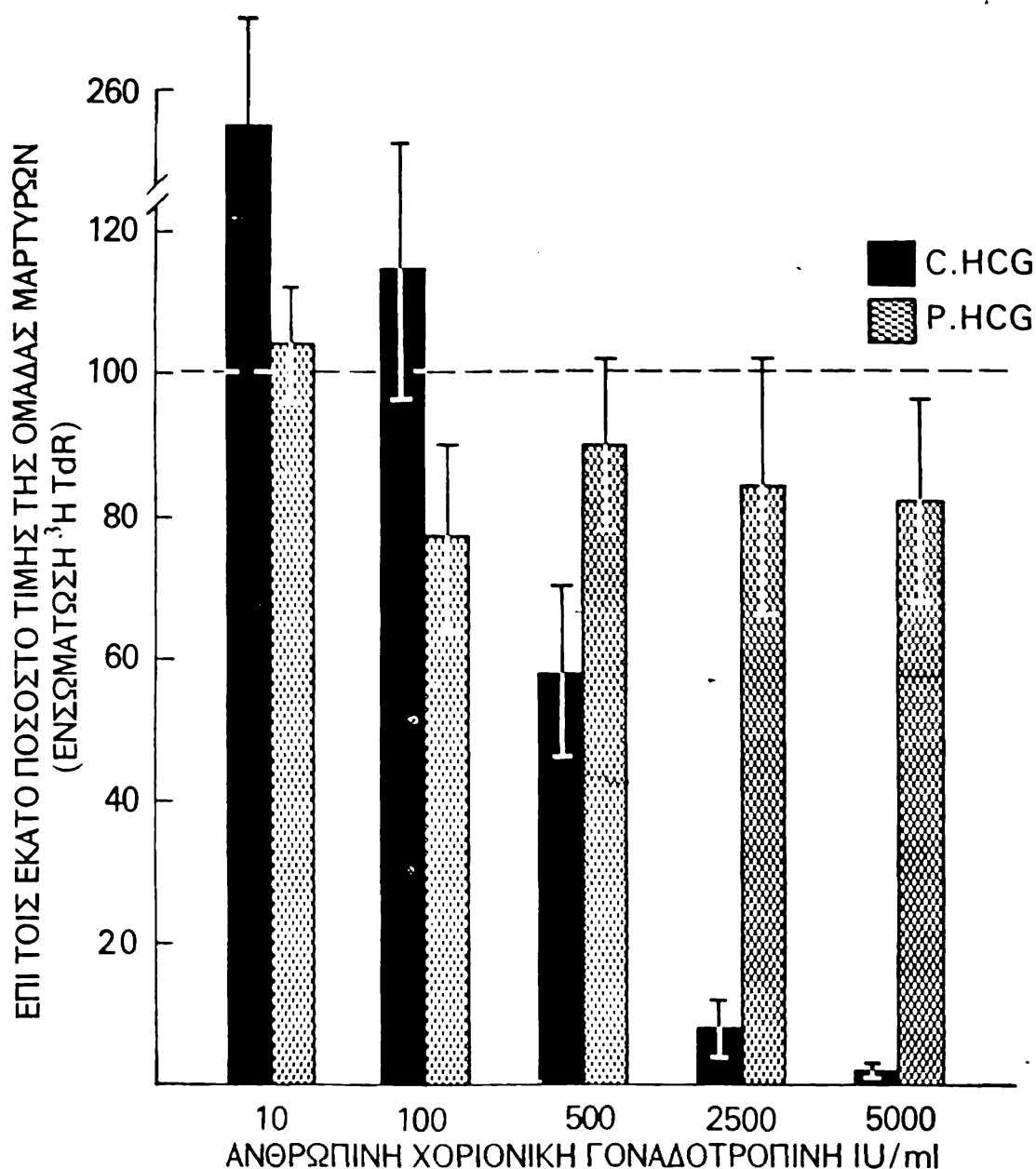
Από τόν καθαρό πληθυσμό λεμφοκυττάρων τοποθετούσαμε $5,0 \times 10^5$ κύτταρα σε έξαπλές καλλιέργειες για κάθε ομάδα. Στο διάγρ. 9 σάν τιμή 100% θεωρούμε τις Δcpm που παίρναμε από τις καλλιέργειες στις οποίες είχαμε προσθέσει μόνο PHA (μάρτυρες).

Στις πειραματικές ομάδες προσθέταμε εκτός από την PHA διάφορες συγκεντρώσεις c.HCG ή P.HCG. Για κάθε πειραματική ομάδα πραγματοποιούσαμε παράλληλες καλλιέργειες χωρίς την προσθήκη PHA για να εκτιμήσουμε την αυτόματη πρόσληψη $^3\text{HTdR}$ από τόν λεμφοκυτταρικό πληθυσμό (background). Στο διάγρ. 9 οι στήλες παριστάνουν ποσοστό πρόσληψης $^3\text{HTdR}$ από τὰ Τ-κύτταρα τών πειραματικών ομάδων σε σχέση με τόν μάρτυρα. Τόσο από τις πειραματικές ομάδες όσο και από τούς μάρτυρες έχει αφαιρεθεί ό αριθμός κρούσεων ανά λεπτό (cpm) που αυτόματα προσλήφθηκε από τὰ λεμφοκύτταρα.

Από τὰ αποτελέσματα είναι φανερό ότι ή c.HCG στη συγκέντρωση τών IU/ml προκαλεί στατιστικά σημαντική αύξηση στην πρόσληψη $^3\text{HTdR}$



($P < 0,01$), ενώ σε συγκέντρωση 100 IU/ml προκαλεί μικρή αύξηση αλλά όχι στατιστικά σημαντική ($P > 0,05$).

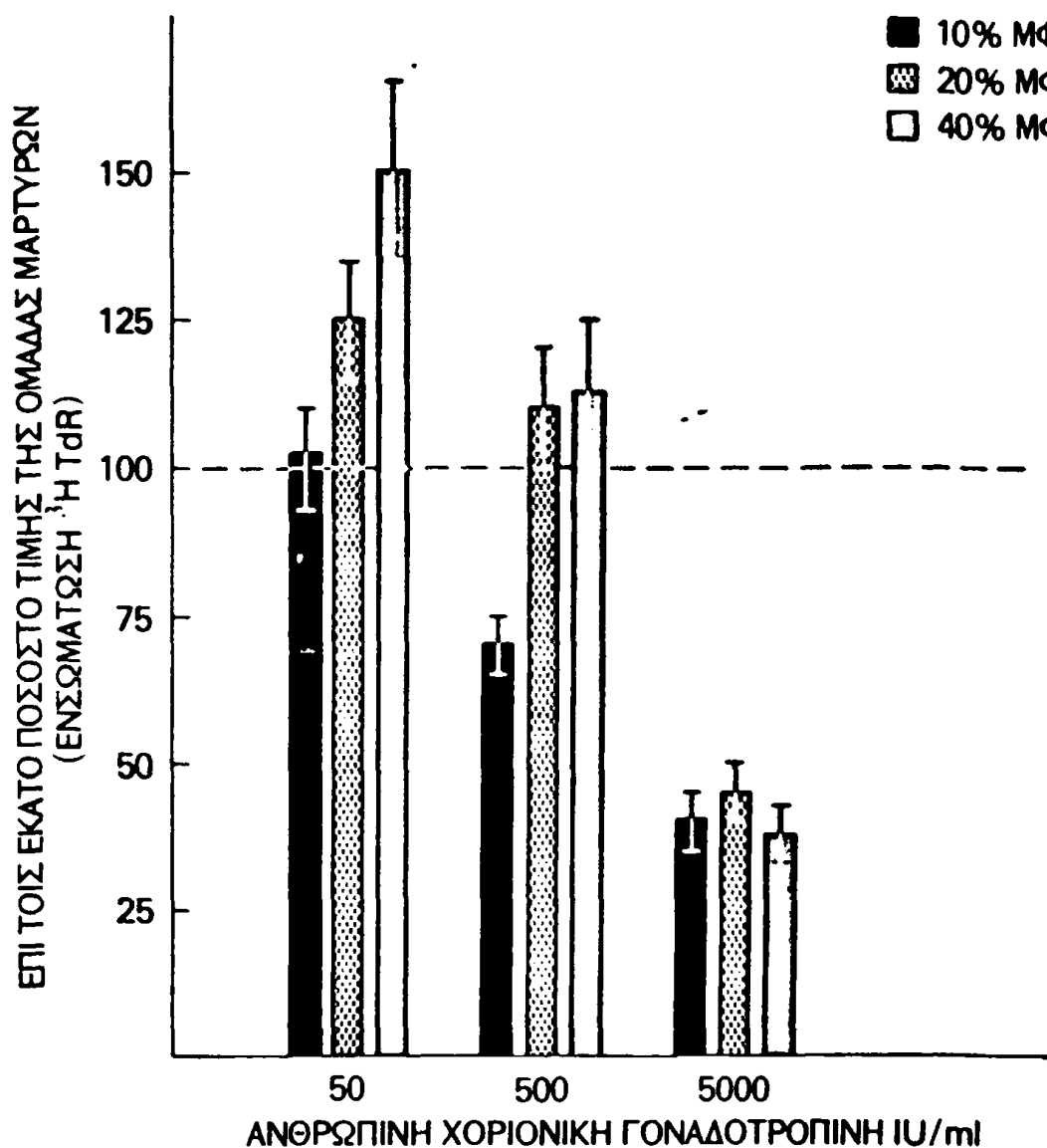


Διάγραμμα 9. Επίδραση της ανθρώπινης χοριονικής γοναδοτροπίνης στην ενσωμάτωση $^3\text{HTdR}$ και τη σύνθεση DNA από T-λεμφοκύτταρα μετά από διέγερση με PHA (5 $\mu\text{g/ml}$). Η ομάδα του μάρτυρα δεν είχε HCG. Οι κάθετες γραμμές παριστάνουν $\pm$ ένα σταθερό λάθος από τη μέση τιμή.

Σε συγκέντρωση 500 IU/ml προκαλεί σημαντική ($P \leq 0,05$) καταστολή στην πρόσληψη $^3\text{HTdR}$, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ή πρόσληψη $^3\text{HTdR}$ μηδενίζεται.



Σε αντίθεση με την c.HCG ή P.HCG προκαλεί σε όλες τις συγκεντρώσεις μόνο μικρή αλλά όχι στατιστικά σημαντική ελάττωση στην πρόσληψη $^3\text{HTdR}$.



Διάγραμμα 10. Επίδραση των περιτοναϊκών ΜΦ στη σύνθεση DNA από T-λεμφοκύτταρα μετά την *in-vitro* προσθήκη P.HCG. Σ' όλες τις καλλιέργειες σαν διεγερτικό μιτογόνο χρησιμοποιήθηκε PHA 5 $\mu\text{g/ml}$. Οι μάρτυρες δεν είχαν P.HCG. Οι κάθετες γραμμές παριστάνουν $\pm$ ένα σταθερό λάθος από τη μέδοση τιμή (έξαπλές καλλιέργειες).

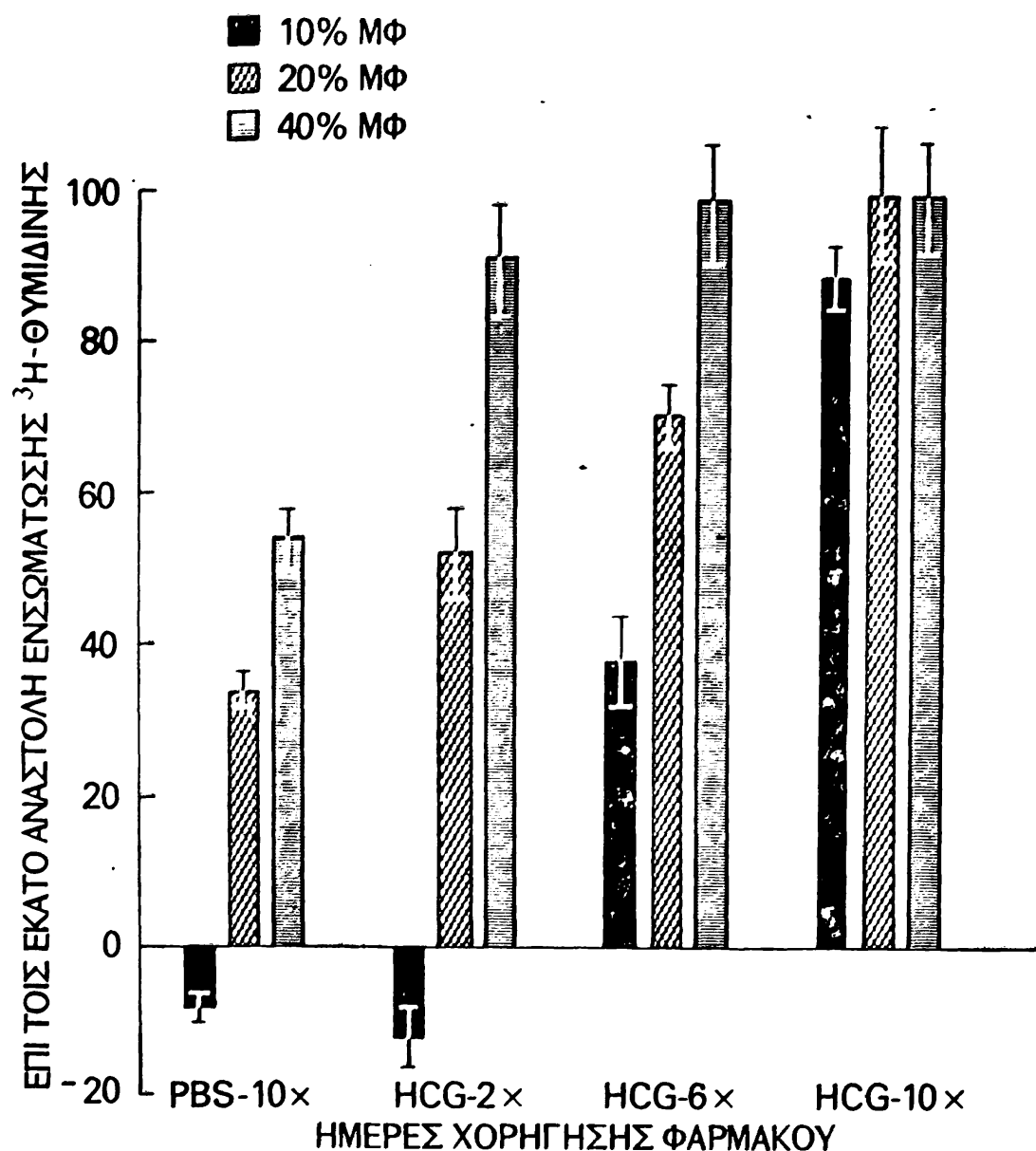
Η επίδραση των περιτοναϊκών ΜΦ στην βλαστογένεση T σπληνοκυττάρων μετὰ τὴν προσθήκη P.HCG.

Στὰ πειράματα αὐτὰ χρησιμοποιήσαμε μονοστιβάδες ΜΦ, τὶς ὁποῖες



καλύπταμε με 5.0×10^5 λεμφοκύτταρα και προσθέταμε την ορμόνη και το μιτογόνο. Χρησιμοποιήσαμε τρεις αναλογίες ΜΦ πρὸς λεμφοκύτταρα 10%, 20% και 40%.

Σὰν μάρτυρες χρησιμοποιήσαμε καλλιέργειες με τις τρεις αναλογίες ΜΦ, στις οποίες δὲν εἶχε προστεθεῖ P.HCG.



Διάγραμμα 11. Επίδραση τῶν περιτοναϊκῶν ΜΦ στὴ σύνθεση DNA τῶν Τ-λεμφοκυττάρων μετὰ ἀπὸ διέγερση μετὰ PHA 5 $\mu\text{g/ml}$. Τὰ ΜΦ πάρθηκαν ἀπὸ BALB/c ποντίκια στὰ ὁποῖα χορηγήθηκε c.HCG ἐνδοπεριτοναϊκά, 500 IU, γιὰ 2, 6 ἢ 10 μέρες. Οἱ μάρτυρες πῆραν φυσιολογικὸ ὄρρο γιὰ 10 μέρες. Τὸ ἐπὶ τοῖς ἑκατὸ ποσοστὸ ἀναστολῆς ἐνσωμάτωσης $^3\text{HTdR}$ ἀναφέρεται στὴν ὁμάδα τοῦ μάρτυρα ποὺ δὲν εἶχε ΜΦ. Οἱ κάθετες γραμμὲς παριστάνουν $\pm$ ἓνα σταθερὸ λάθος ἀπὸ τὴν μέση τιμὴ



Ἡ προσθήκη 50 IU/ml P.HCG καὶ σὲ ἀναλογίες ΜΦ 20% καὶ 40% εἶχε σὰν ἀποτέλεσμα τὴν αὐξημένη πρόσληψη $^3\text{HTdR}$ ἀπὸ τὰ Τ λεμφοκύτταρα. Ἡ ὁρμόνη σὲ συγκέντρωση 500 IU/ml δὲν εἶχε ἐπίδραση στὴ συμπεριφορὰ τῶν λεμφοκυττάρων ἐκτὸς ἀπὸ τὶς καλλιέργειες μὲ ἀναλογία ΜΦ 10%, ὅπου προκάλεσε ἐλάττωση τῆς σύνθεσης DNA σὲ ποσοστὸ 27% ($P < 0,05$).

Σὲ ψηλὲς συγκεντρώσεις (5.000 IU/ml) ἡ P.HCG εἶχε καὶ στίς τρεῖς ἀναλογίες ΜΦ σημαντικὴ κατασταλτικὴ ἐπίδραση στὴν πρόσληψη $^3\text{HTdR}$ ἀπὸ τὰ Τ-λεμφοκύτταρα ($P < 0,01$).

Ἡ κατασταλτικὴ ἐπίδραση τῶν *in-vivo* ἐνεργοποιημένων ΜΦ μὲ c.HCG στὴ βλαστογενετικὴ ἀπόκριση φυσιολογικῶν λεμφοκυττάρων.

Διαπιστώσαμε σὲ προηγούμενα πειράματα ὅτι ἡ ἐνδοπεριτοναϊκὴ χορήγηση c.HCG εἶχε σὰν ἀποτέλεσμα τὴν ἐνεργοποίηση τῶν ΜΦ. Σ' αὐτὴ τὴ σειρά πειραμάτων θέλαμε νὰ ἐλέγξουμε τὴν ἐπίδραση τῶν ἐνεργοποιημένων αὐτῶν ΜΦ στὸ σύστημα βλαστογένεσης. Τὴν c.HCG χορηγήσαμε (500 IU/ποντίκι) σὲ τρεῖς ομάδες πειραματοζώων γιὰ 2, 6 ἢ 10 μέρες, ἐνῶ στοὺς μάρτυρες χορηγήθηκε PBS γιὰ 10 μέρες. Στὸ διάγραμμα 11 συγκρίνονται ὅλες οἱ πειραματικὲς ομάδες μὲ τὸν μάρτυρα ποὺ δὲν εἶχε ΜΦ. Τὰ ἀποτελέσματα ἐκφράζονται σὰν % ποσοστὸ ἀναστολῆς τῆς ἐνσωμάτωσης $^3\text{HTdR}$, ἐνῶ ὁ ἔλεγχος στατιστικῆς σημαντικότητος ἐγίνε συγκρίνοντας κάθε πειραματικὴ ομάδα πρὸς τὴν ἀντίστοιχη ομάδα τοῦ μάρτυρα στὴν ὁποία χορηγήθηκε φυσιολογικὸς ὁρρὸς.

Εἶναι γνωστὸ ὅτι τὰ φυσιολογικὰ ΜΦ σὲ χαμηλὲς ἀναλογίες μποροῦν νὰ διεγείρουν ἐνῶ σὲ ψηλὲς ἀναλογίες νὰ καταστεῖλουν τὴν βλαστογενετικὴ ἀπόκριση τῶν λεμφοκυττάρων (σελ. 34). Τὰ ἀποτελέσματα στὸ διάγρ. 11 δείχνουν σημαντικὰ αὐξημένη καταστολὴ στὴν ἀναλογία ΜΦ 40% τῆς ομάδας HCG - 2X καὶ σὲ ὅλες τὶς ἀναλογίες ΜΦ τῶν ομάδων HCG - 6X καὶ HCG - 10X ($P < 0,05$).

Κατασταλτικὴ ἐπίδραση τῶν ΜΦ ἀπὸ ἔγκυα ποντίκια στὴ βλαστογενετικὴ ἀπόκριση φυσιολογικῶν λεμφοκυττάρων.

Γιὰ τὰ πειράματα αὐτὰ πήραμε περιτοναϊκὰ ΜΦ ἀπὸ ἔγκυα BALB/c ποντίκια (Preg. 1, Preg. 2, Preg. 3) καὶ ἀπὸ φυσιολογικὰ μὴ ἔγκυα BALB/c ποντίκια (5/ὁμάδα).

Τὴν κατασταλτικὴ ἐπίδραση τῶν ΜΦ αὐτῶν στὴν ἀπόκριση τῶν Τ-



λεμφοκυττάρων στην ΡΗΑ μελετήσαμε προσθέτοντας, όπως και σε προηγούμενα πειράματα, τρεις αναλογίες ΜΦ (10%, 20% και 40%) στο σύστημα βλαστογένεσης.

Τα αποτελέσματα (διάγρ. 12) εκφράσαμε σαν %, ποσοστό ένσωμάτωσης $^3\text{HTdR}$ συγκρίνοντας τις ομάδες από έγκυα ποντίκια με τις αντίστοιχες από φυσιολογικά μη έγκυα ποντίκια. Τα περιτοναϊκά ΜΦ από την αρχική κύηση (Preg. 1) σε αναλογία 10% σημαντικά ανάστειλαν την πρόσληψη $^3\text{HTdR}$ από τον λεμφοκυτταρικό πληθυσμό ($P < 0.01$), ενώ σε συγκεντρώσεις 20% και 40% ουσιαστικά μηδένισαν την σύνθεση DNA ($P < 0.001$).

Τα ΜΦ από ποντίκια μέσης κύησης (Preg. 2) επίσης σημαντικά ανάστειλαν την σύνθεση DNA των Τ κυττάρων σε όλες τις αναλογίες ΜΦ που χρησιμοποιήσαμε ($P < 0.01$). Τα ίδια αποτελέσματα, αλλά σε μικρότερο βαθμό καταστολής παρατηρήσαμε και από τα ΜΦ της τρίτης περιόδου κύησης (Preg. 3). Τα αποτελέσματα ήταν επίσης στατιστικά σημαντικά ($P < 0.02$).

Παραγωγή προσταγλανδινών από τα μακροφάγα φυσιολογικών ποντικιδών μετά την προσθήκη c.HCG.

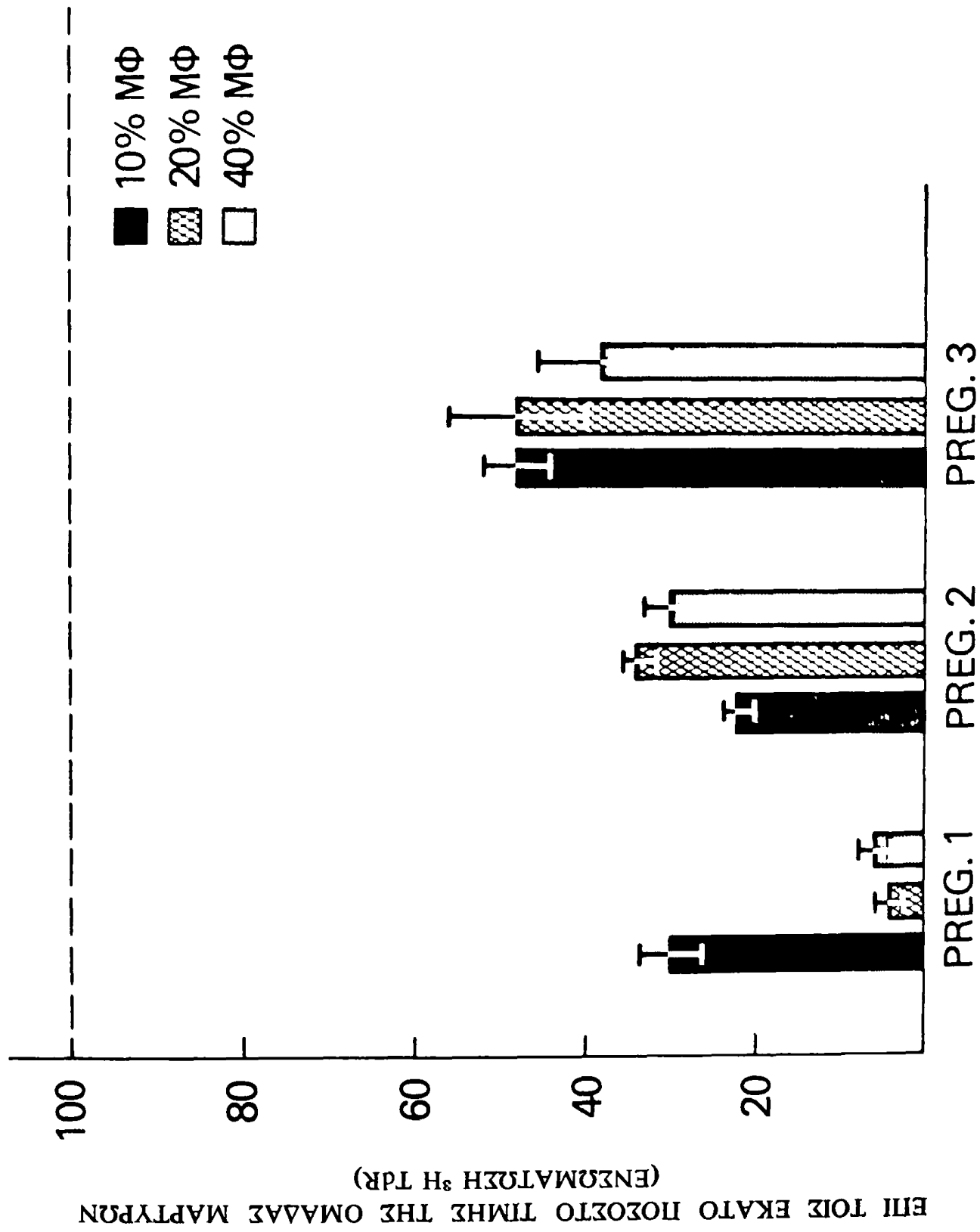
Στον πίνακα 6 φαίνονται τα αποτελέσματα προσδιορισμού των προσταγλανδινών F_{2a} και E (PGF_{2a} και PGE).

Οι τιμές αντιπροσωπεύουν την παραγωγή PG από 1.0×10^6 ΜΦ. Έχουν αφαιρεθεί τα ποσά PG που περιέχονται στο θρεπτικό υγρό (RPMI-FCS) και στα σκευάσματα της c.HCG (87 - 560 pg/ml). Μετά την προσθήκη c.HCG στις καλλιέργειες ΜΦ ή παραγωγή PGF_{2a} είναι 3 ως 23 φορές μεγαλύτερη από εκείνη της ομάδας του μάρτυρα, ενώ ή παραγωγή PGE είναι 28 ως 192 φορές μεγαλύτερη εκείνης του μάρτυρα. Η παραγωγή και των δύο τύπων PG αυξάνεται με τη πάροδο του χρόνου τόσο στις πειραματικές ομάδες όσο και στην ομάδα του μάρτυρα. Η παραγωγή PGF_{2a} αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης της c.HCG, ενώ ή παραγωγή PCG δεν διαφέρει σημαντικά σε συγκεντρώσεις c.HCG (500 ή 2500 IU/ml). Σε συγκέντρωση HCG 100 IU/ml ή PGE είναι μικρότερη αλλά σημαντικά μεγαλύτερη εκείνης της ομάδας του μάρτυρα.

Παραγωγή προσταγλανδινών από τα μακροφάγα έγκυων ποντικιδών.

Όπως φαίνεται στον πίνακα 7 ή παραγωγή PGF_{2a} είναι αυξημένη στα ΜΦ από τη πρώτη ηλικία κύησης σε σχέση με τα ΜΦ από φυσιολογικά ποντίκια κατά 10 περίπου φορές ενώ στις άλλες δύο ηλικίες κύησης





Διάγραμμα 12. Κατασταλτική επίδραση των ΜΦ από Έγκυα BALB/c ποντίκια, στη σύνθεση DNA Τ-λεμφοκυττάρων μετά από διέγερση με PHA 5 μg/ml. Τα ΜΦ της ομάδας του μάρτυρα πάθθηκαν από φυσιολογικά μη έγκυα BALB/c ποντίκια. Τα αποτελέσματα αποτελούν τον μέσο όρο από έξι απλές καλλιέργειες δύο ξεχωριστών πειραμάτων. Οι κάθετες γραμμές παριστάνουν $\pm$ ένα σταθερό λάθος από τη μέση τιμή.

είναι επίσης αύξημένη περίπου στο διπλάσιο. Ἡ παραγωγή PGE είναι μεγίστη κατὰ τὴ πρώτη φάση τῆς κύησης ἐνῶ παρατηρεῖται κάποια ἐλάττωση παραγωγῆς ὅσο ἡ κύηση προχωρεῖ πρὸς τὸ τέλος τῆς, διατηρεῖται ὁμως πάντα σὲ ψηλότερα ἐπίπεδα ἀπὸ τὸν μάρτυρα. Ἀξιοσημείωτο εἶναι τὸ γεγονός ὅτι ἡ παραγωγή PGE ἀπὸ τὰ ΜΦ κατὰ τὴν κύηση εἶναι πολλές φορές μεγαλύτερη ἀπὸ ἐκείνη τῶν ΜΦ ἀπὸ φυσιολογικὰ ποντίκια (70 περίπου φορές Preg. 1 καὶ 10 περίπου φορές Preg. 3).

Ἐλεγχος τῆς ὑπερευαισθησίας ἐπιβραδυνομένου τύπου μετὰ τὴν in-vivo χορήγηση HCG. (DTH).

Γιὰ νὰ ἐλέγξουμε τὴν ἐπίδραση τῆς HCG στὴν κυτταρική ἀνοσία τοῦ ζωντανοῦ ὀργανισμοῦ χορηγήσαμε τὴν ὁρμόνη σὲ δύο δόσεις (100 καὶ 1000 IU/ποντίκι) γιὰ πέντε μέρες, πρὶν ἀπὸ τὴ χορήγηση τοῦ ἀντιγόνου (ἐρυθρὰ προβάτου). Στὰ πειράματα αὐτὰ χρησιμοποιήσαμε τόσο c.HCG ὅσο καὶ P.HCG σὲ CD₂F₁ ποντίκια ἡλικίας 8 - 10 ἐβδομάδων. Τὰ ἀποτελέσματα συγκρίναμε πρὸς τὴν ὁμάδα ποὺ πῆρε μόνον τὸ ἀντιγόνο, περιλάβαμε δὲ μιὰ ὁμάδα ποὺ πῆρε πυράνη 25 mg/kg καὶ ἐρυθρὰ προβάτου (θετικὸς μάρτυρας) καὶ μιὰ ὁμάδα ποὺ πῆρε μόνον φυσιολογικὸ ὁρρὸ (ἀρνητικὸς μάρτυρας).

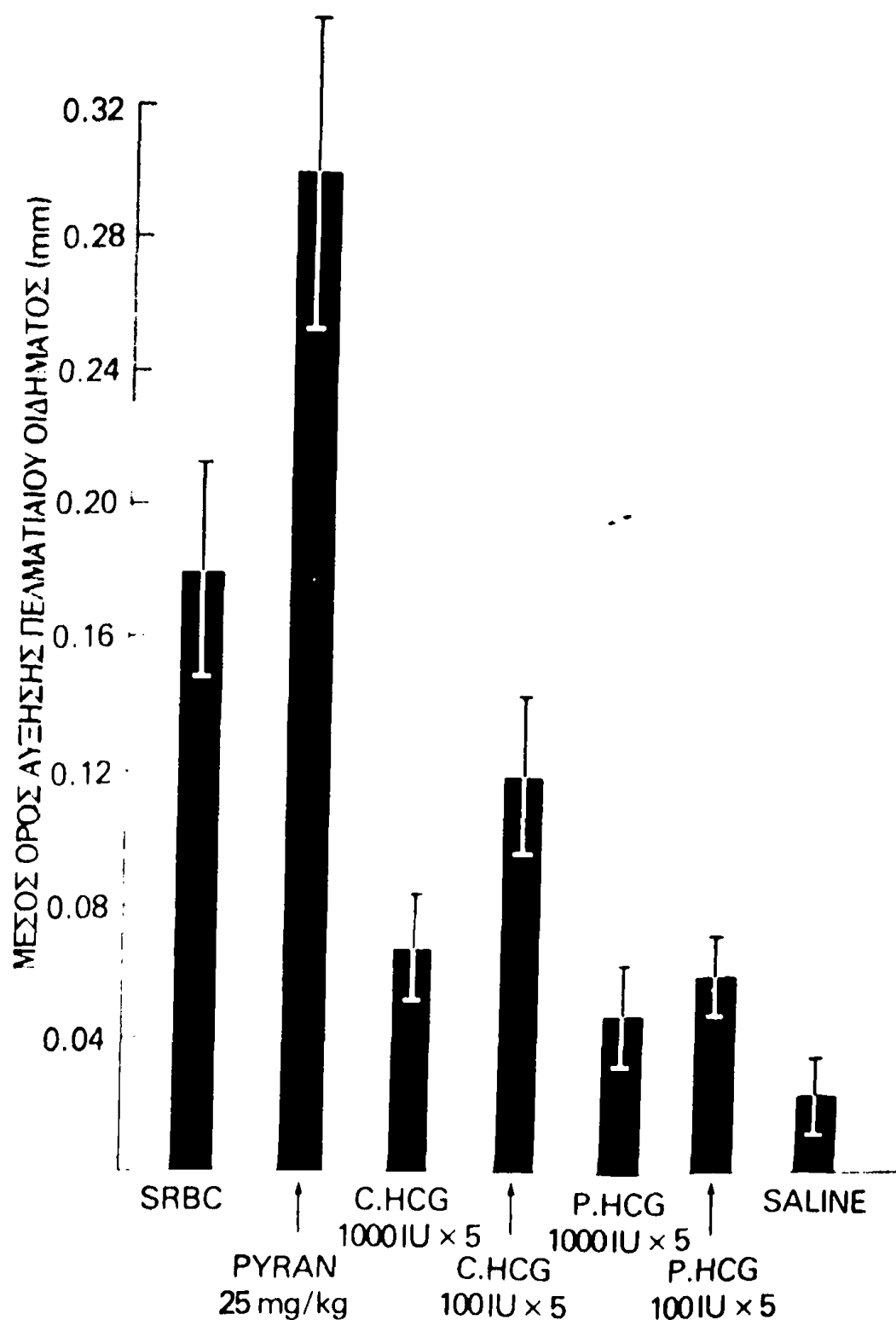
Τὰ ἀποτελέσματα στὸ διάγρ. 13 δείχνουν σημαντικὰ ἐλαττωμένη ἀπόκριση τῆς κυτταρικῆς ἀνοσίας στὶς ὁμάδες, στὶς ὁποῖες χορηγήθηκε c.HCG 1000 IU $\times$ 5, P.HCG 100 IU $\times$ 5 ἢ P.HCG 1000 IU $\times$ 5 ($P < 0,01$) σὲ σύγκριση μὲ τὸν μάρτυρα. Ἡ ὁμάδα ποντικῶν στὴν ὁποία χορηγήθηκε c.HCG 100 $\times$ 5 ἐπίσης παρουσίασε ἐλαττωμένη ἀπόκριση τῆς κυτταρικῆς ἀνοσίας ἀλλὰ ὄχι στατιστικὰ σημαντικὴ στὸ ἐπίπεδο 5% ($0,10 > P > 0,05$).

Ὁ θετικὸς μάρτυρας (πυράνη) ὅπως περιμέναμε παρουσίασε σημαντικὰ αύξημένη τὴ διαφορά πέλματιαιου οἰδήματος ($P < 0,05$), ἐνῶ ἡ ὁμάδα ποὺ πῆρε φυσιολογικὸ ὁρρὸ δὲν ἐμφάνισε καμμιὰ ἀντίδραση.

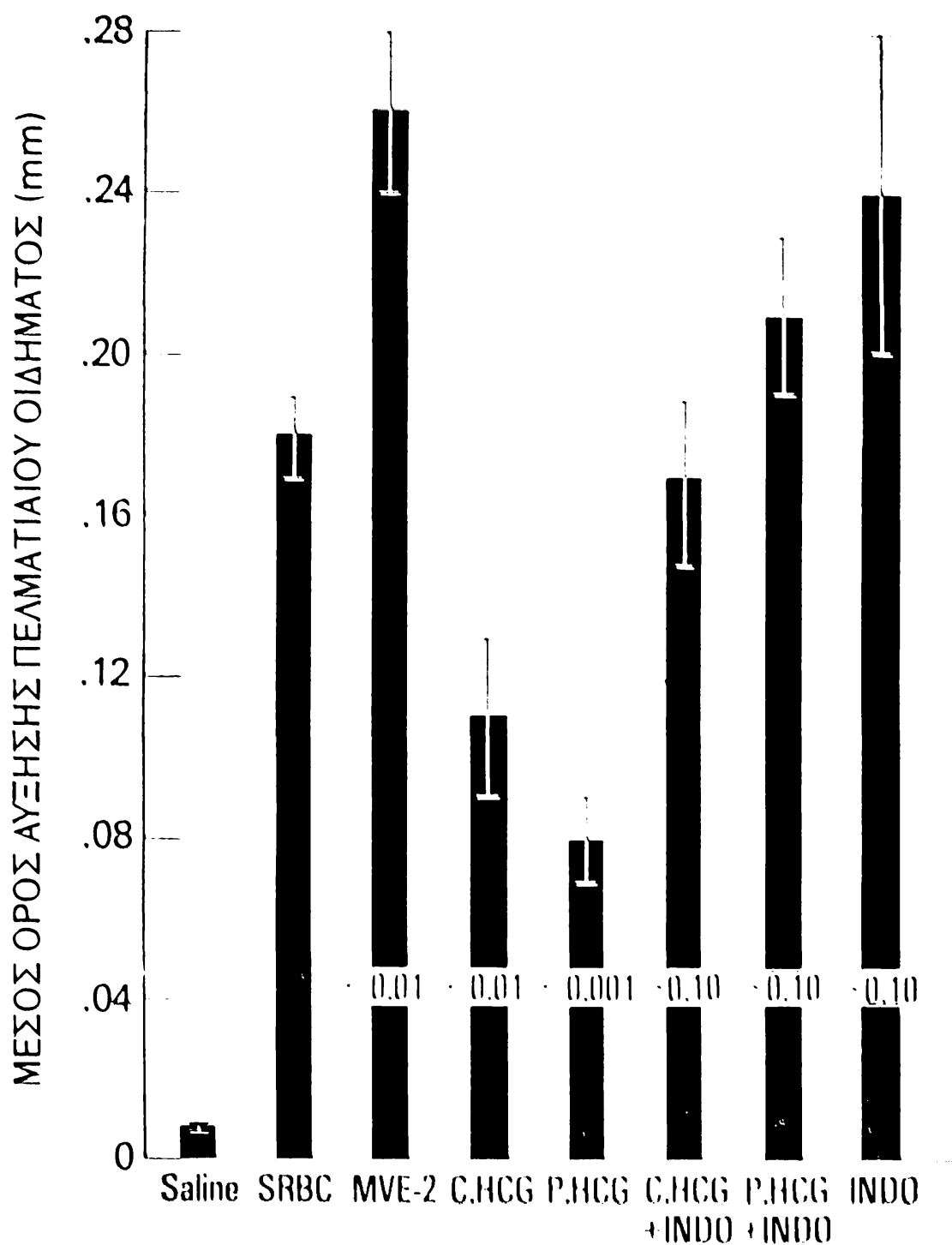
Ἀναστροφὴ τῆς κατασταλτικῆς δράσης τῆς HCG, στὴν ἀντίδραση ὑπερευαισθησίας ἐπιβραδυνομένου τύπου (DTH), μὲ Ἰνδομεθακίνη.

Σὲ προηγούμενα πειράματα διαπιστώσαμε ὅτι ἡ προσθήκη HCG σὲ καλλιέργειες ΜΦ εἶχε σὰν ἀποτέλεσμα τὴν ὑπερπαραγωγή προσταγλανδινῶν (κυρίως PGE). Διαπιστώσαμε ἐπίσης τὴν in-vivo κατασταλτικὴ δράση τῆς HCG στὴν ἀντίδραση ὑπερευαισθησίας ἐπιβραδυνομένου τύπου. Σ' αὐτὴ τὴν σειρά πειραμάτων διερευνήσαμε τὴ συσχέτιση ὑπερπαραγωγῆς PG καὶ καταστολῆς τῆς DTH ἀπὸ τὴν HCG.





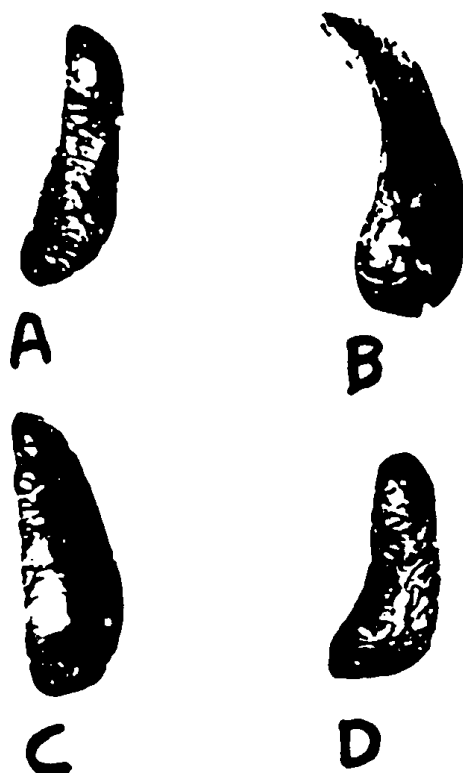
Διάγραμμα 13. Επίδραση της ανθρώπινης χοριονικής γοναδοτροπίνης στην απόκριση υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου CD_1/F_1 ποντικών. Τα αποτελέσματα εκφράζουν το μέσο όρο αύξησης του πελματιαίου οίδηματος (mm) από 24 ποντίκια σε κάθε ομάδα. Οι κάθετες γραμμές παριστάνουν $\pm$ ένα σταθερό λάθος από τη μέση τιμή.



Διάγραμμα 14. Άνταστροφή της κατασταλτικής δράσης της HCG, στην DTH, με Ίνδομεθακίνη. Τα αποτελέσματα εκφράζουν το μέσο όρο αύξησης του πνευμονιακού οίδηματος (mm) από 16 ποντίκια (CD_1F_1). Οι κάθετες γραμμές παρουσιάζουν $\pm$ ένα αναθερμό λάθος από τη μέση τιμή.

Τὴν Ἰνδομεθακίνη χρησιμοποίησαμε λόγω τῆς γνωστῆς ιδιότητάς της νὰ ἀναστέλλει τὴν σύνθεση καὶ ἔκκριση PG (153). Χορηγήθηκε ἐνδοπεριτοναϊκὰ σὲ δόση 100 μg /ποντίκι ἐπὶ 5 μέρες. Τόσο τὴν c.HCG ὅσο καὶ τὴν P.HCG χορηγήσαμε, σὲ δόση 1000 IU/ποντίκι γιὰ 5 μέρες ἐπίσης.

Ἡ πυράνη (Pyran) καὶ ὁ φυσιολογικὸς ὁρρὸς (Saline) χρησιμοποιήθηκαν ἀντίστοιχα σὰν θετικὸς καὶ ἀρνητικὸς μάρτυρας.



Εἰκόνα II. Σπλῆνες ποντικίων. Α. φυσιολογικό, Β. κύηση 8 ὥς 9 ἡμερῶν, C. κύηση 12 ὥς 13 ἡμερῶν, D. κύηση 16 ὥς 17 ἡμερῶν.

Τὰ ἀποτελέσματα στὸ διάγρ. 14 δείχνουν, ὅπως καὶ στὰ προηγούμενα πειράματα, σημαντικὴ καταστολὴ τῆς DTH μετὰ τὴ χορήγηση εἴτε c.HCG ἢ P.HCG. Ἡ ταυτόχρονη, ὅμως, χορήγηση Ἰνδομεθακίνης εἶχε σὰν ἀποτέλεσμα τὴν ἀναστροφή τῆς κατασταλτικῆς αὐτῆς δράσης τῆς HCG στὴν DTH. Τοῦτο μαρτυρεῖ σημαντικὸ ρόλο τῶν ὑπερπαραγομένων PG στὴν καταστολὴ τῆς κυτταρικῆς ἀνοσίας ποὺ παρατηρήσαμε. Ἡ χορήγηση μόνο Ἰνδομεθακίνης εἶχε σὰν ἀποτέλεσμα τὴν αὔξηση, ἀλλὰ ὄχι σὲ στατιστικὰ σημαντικὸ ἐπίπεδο, τῆς DTH. Τοῦτο προφανῶς ὀφείλεται στὴ μεγάλη διασπορά τῶν ἀποτελεσμάτων (μεγάλο SEM).

Σπληνομεγαλία κατά τη κύηση και αύξηση του
 αριθμού των περιτοναϊκών ΜΦ.

Κατά την εκτέλεση των πειραμάτων με έγκυα ποντίκια συστηματικά παρατηρήσαμε την ύπαρξη μεγαλοσπληνίας ιδιαίτερα κατά την πρώτη φάση της κύησης. Την παρατήρηση αυτή επιβεβαιώσαμε προσδιορίζοντας το βάρος των σπληνών έξη ποντικιών από κάθε ομάδα. Όπως φαίνεται στον πίνακα 8 το βάρος του σπλήνα κατά την αρχική κύηση είναι υπερδιπλάσιο από εκείνο των φυσιολογικών ποντικιών ($P < 0,001$), κατά τη μέση κύηση είναι σημαντικά αυξημένο ($P < 0,002$), ενώ κατά το τέλος της κύησης πλησιάζει τις φυσιολογικές τιμές ($P > 0,05$).

Στην εικόνα II παρουσιάζονται σπληνες από φυσιολογικό ποντίκι όσο και από ποντίκια στα διάφορα στάδια της κύησης. Άξιοσημείωτη είναι επίσης ή παρατήρηση ότι από έγκυα ποντίκια απομονώναμε τρεις περίπου φορές περισσότερα ΜΦ άπ' ότι στα φυσιολογικά μή έγκυα BALB/c ποντίκια ($P < 0,001$) (πίν. 8).



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στά αποτελέσματα που παρουσιάζουμε σ' αυτή τη μελέτη διαπιστώσαμε αυξημένη NK δραστηριότητα σε BALB/c ποντίκια τόσο κατά τη διάρκεια της κύησης, όσο και μετά τη χορήγηση c. HCG (διάγρ. 1 ως 6). Το ποσοστό καταστροφής των κυττάρων στόχων ήταν στα περισσότερα πειράματα συνάρτηση της αναλογίας δραστικῶν κυττάρων/κύτταρα στόχους.

Τά NK κύτταρα ήταν κυρίως δραστικά κατά αλλογενῶν κυττάρων (YAC - 1) διαπιστώσαμε ὅμως καὶ μικρὴ ἀλλὰ στατιστικὰ σημαντικὴ αὐξηση τῆς NK δραστηριότητας κατὰ συγγενῶν κυττάρων στόχων (M109).

Ἡ κυτταροτοξικὴ δράση τῶν NK κυττάρων ἀναστράφηκε μὲ τὴν ἐνδοφλέβια χορήγηση τοῦ παράγοντα λ-carrageenan (διάγρ. 3). Ὁ παράγοντας λ-carrageenan εἶναι μιὰ θεϊκὴ πολυγαλακτόζη, ἡ ὁποία εἶναι γνωστὸ ὅτι ἔχει ἀντιμακροφαγικὴ δράση. Ἐχει δεიχθεῖ ὅτι ὁ λ-carrageenan προσλαμβάνεται ἀπὸ τὰ ΜΦ καὶ ἀποθηκεύεται στὰ λυσοσώματα, τὰ ὁποῖα ἐξοιδαίνονται καὶ ρήγνυνται μὲ ἀποτέλεσμα τὸ θάνατο τοῦ κυττάρου (142). Κάτω ἀπὸ ὀρισμένες συνθήκες, σὲ ψηλὲς δόσεις ὁ λ-carrageenan εἶναι δυνατόν νὰ ἔχει τοξικὴ ἐπίδραση τόσο στὰ NK κύτταρα ὅσο καὶ στὰ διεγερμένα T-λεμφοκύτταρα (164).

Μετά τὴ χορήγηση 1 mg/ποντίκι λ-carrageenan ἡ NK δραστηριότητα στὰ ἔγκυα ποντίκια ἐλαττώθηκε σημαντικὰ, ἐνῶ στὰ φυσιολογικὰ μὴ ἔγκυα BALB/c ποντίκια οὐσιαστικὰ μηδενίστηκε. Τὰ ἀποτελέσματα αὐτὰ ὑποδηλώνουν πιθανὸ συνεργηστικὸ ρόλο μακροφάγων καὶ NK κυττάρων.

Τὸ 1974 ὁ Wiley βρῆκε μιὰ, προσομοιάζουσα πρὸς τὴν HCG, γοναδοτροπίνη στὸ περίβλημα ἐμβρύων ποντικίων πρὶν ἀκόμη ἀπὸ τὴν ἐμφύτευση (143), ἐνῶ οἱ Haour καὶ Saxena (144) βρῆκαν ὅτι ἡ βλαστοκύστη κουνελίων περιεῖχε γοναδοτροπίνη, ἡ ὁποία συναγωνιζόταν τὴν HCG σὲ τεχνικὲς δέσμευσης. Ἡ παρατηρήσεις αὐτὲς ἐνισχύουν τὸν συλλογισμό, ὅτι ἡ αὐξηση τῆς NK δραστηριότητας ποὺ διαπιστώσαμε κατὰ τὴν κύηση στὰ ποντίκια πιθανὸν νὰ ὀφείλεται σὲ κάποια γοναδοτροπίνη ποντικίων ποὺ προσομοιάζει μὲ τὴν HCG.

Τὰ πειράματά μας ἔδειξαν ὅτι ἡ c.HCG ἔχει τὴν ἱκανότητα νὰ ἐνεργοποιεῖ τὰ περιτοναϊκὰ ΜΦ τόσο *in-vitro*, ὅσο καὶ *in-vivo* (διάγρ.



7, 8). Για την *in-vitro* ενεργοποίηση των ΜΦ χρειάστηκαν συγκεντρώσεις c.HCG μεγαλύτερες από 100 IU/ml με μέγιστη ανταπόκριση στις 500 IU/ml, ενώ για την *in-vivo* ενεργοποίηση χρειάστηκε χορήγηση της όρμόνης τουλάχιστο για 6 μέρες. Οι συγκεντρώσεις αυτές είναι βέβαια μεγαλύτερες από τα επίπεδα της όρμόνης στο περιφερικό αίμα έγκυων γυναικών, συγκεντρώσεις, όμως σε τέτοια επίπεδα, αναμφισβήτητα δημιουργούνται στον τόπο παραγωγής της όρμόνης, στην συγκυττιοτροφοβλάστη.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Απόκριση $5,0 \times 10^5$ λεμφοκυττάρων σε διάφορες συγκεντρώσεις ΡΗΑ

ΡΗΑ $\mu\text{g/ml}$	c.p.m $\pm$ SD*
0.10	10358 $\pm$ 1211
0.50	16302 $\pm$ 606
1.00	31646 $\pm$ 1634
2.50	60885 $\pm$ 3399
5.00	62763 $\pm$ 3298
10.00	35426 $\pm$ 1851
20.00	16728 $\pm$ 1025

* Κρούσεις ανά λεπτό + μία σταθερή απόκλιση.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Έλεγχος της κυτταροτοξικότητας της ανθρώπινης χοριονικής γοναδοτροπίνης (c.HCG) στα σπληνικά λεμφοκύτταρα ποντικών.

HCG IU/ml	Αριθμ. ζωντανών κυττάρων $\times 10^4/\text{ml}$ + μία σταθερή απόκλιση.
—	78.50 $\pm$ 4.25
10	84.58 $\pm$ 5.68
100	89.33 $\pm$ 8.81
500	92.33 $\pm$ 6.63
1000	83.17 $\pm$ 8.17
2500	69.58 $\pm$ 2.27
5000	63.33 $\pm$ 4.25

Η c.HCG, σύμφωνα με πληροφορίες που πήραμε από την εταιρεία που την παρασκευάζει (Sigma Chem. Co), απομονώνεται από ούρα έγκυων γυναικών. Εάν ακολουθηθεί ή ίδια διαδικασία, που οδηγεί στην απομόνωση της HCG, σε ούρα μη έγκυων γυναικών, ή ελάχιστη ούσια που απομονώνεται δεν έχει καμιά βιολογική ή ανοσολογική δράση.



Ἡ c.HCG, ποὺ ἀπομονώνεται ἀπὸ τὰ οὖρα ἐγκύων γυναικῶν, εἶναι ἀνομοιογενὴς στὴ σύνθεσή της. Ἐχουν ἀπομονωθεῖ τουλάχιστον 12 κλασμάτα μὲ διαφορετικὸ βαθμὸ βιολογικῆς δράσης (145). Ἡ ὁρμόνη χρησιμοποιοῦται σ' αὐτὴ τὴ μορφή (c.HCG, S.A. 3000 IU/mg), τόσο στὴ κλινικὴ πράξη, ὅσο καὶ στὴ βασικὴ ἔρευνα. Ἡ διαδικασία καθάρσεως τῆς HCG (P. HCG S.A. 13.500 IU/mkg), ὁδηγεῖ σὲ ἀποικοδόμηση τοῦ ὕδρογονανθρακικοῦ τμήματος τῆς ὁρμόνης, ἐνῶ τὸ πρωτεϊνικὸ τμήμα ἀπομονώνεται σὲ καθαρὴ μορφή. Ἔτσι ἐνῶ τὸ πρωτεϊνικὸ τμήμα διατηρεῖ τὶς βιολογικὲς τοῦ ιδιότητες οἱ μεταβολὲς στὸ ὕδρογονανθρακικὸ μέρος πιθανώτατα εἶναι ὑπεύθυνες γιὰ τὴν ἀπώλεια μερικῶν ἀνοσολογικῶν ιδιοτήτων. Τὸ τελευταῖο τοῦτο δικαιολογεῖ τὴ διαφορὰ μερικῶν εὐρημάτων μεταξὺ c.HCG καὶ P. HCG.

Τὰ εὐρήματα ἄλλων ἐρευνητῶν, ὅτι ἡ c.HCG εἶχε ἄμεση κατασταλτικὴ δράση στὴ σύνθεση DNA ἀπὸ T-λεμφοκύτταρα, ἐνῶ ἡ P. HCG δὲν εἶχε τέτοια ἱκανότητα (133, 134, 135) ἐπιβεβαιώσαμε καὶ στὰ δικά μας πειράματα (διάγρ. 9). Ἡ c.HCG σὲ χαμηλὲς συγκεντρώσεις (10 IU/ml) προκάλεσε σημαντικὴ διέγερση τῶν λεμφοκυττάρων, ἐνῶ σὲ ψηλὲς συγκεντρώσεις προκάλεσε παντελὴ καταστολή. Ἡ P. HCG προκάλεσε σὲ ὅλες τὶς συγκεντρώσεις μικρὴ ἀλλὰ ὄχι στατιστικὰ σημαντικὴ ἐλάττωση στὴν πρόσληψη $^3\text{HTdR}$. Ἀντίθετα ἡ P. HCG σὲ ψηλὲς συγκεντρώσεις παρουσία διαφόρων ἀναλογιῶν ΜΦ προκάλεσε σημαντικὴ ἐλάττωση τῆς σύνθεσης DNA ἀπὸ τὰ T-λεμφοκύτταρα (διάγρ. 10).

In-vivo ἐνεργοποιημένα ΜΦ μὲ c.HCG εἶχαν ἐπίσης σημαντικὴ κατασταλτικὴ δράση στὴν ἀπόκριση τῶν T-λεμφοκυττάρων στὴν PHA (διάγρ. 11).

Κατασταλτικὴ δράση στὰ T-λεμφοκύτταρα διαπιστώσαμε καὶ ἀπὸ ΜΦ ἔγκυων ποντικῶν. Ἡ καταστολὴ ἦταν ἀντίστροφα ἀνάλογη πρὸς τὴν ἡλικία τῆς κύησης. Ὅσο ἡ κύηση προχωροῦσε τόσο ἡ κατασταλτικὴ δράση τῶν ΜΦ ἐλαττωνόταν.

Εἶναι γνωστὸ ὅτι ἡ συγκέντρωση τῆς HCG φτάνει στὰ ἀνώτερα ἐπίπεδα κατὰ τὸ πρῶτο τρίμηνο τῆς κύησης καὶ στὴ συνέχεια τὰ ἐπίπεδά της ἐλαττώνονται καὶ διατηροῦνται χαμηλὰ μέχρι τὸν τοκετὸ (122).

Τὰ πρὶν ἀποτελέσματα, ὅτι δηλαδή ἡ HCG μετατρέπει τὰ ΜΦ ποντικῶν σὲ κατασταλτικὰ (suppressor) κύτταρα, καὶ ὅτι τὰ ΜΦ ἀπὸ ἔγκυα ποντίκια ἐπίσης ἔχουν κατασταλτικὲς ιδιότητες, μᾶς ὁδηγοῦν στὸν συλλογισμό, ὅτι ἡ HCG ἀσκεῖ τὴν κατασταλτικὴ τῆς δράση στὸ ἀνοσοποιητικὸ μέσα ἀπὸ τὰ ΜΦ. Ἡ δράση αὐτὴ μπορεῖ νὰ εἶναι συστηματικὴ ἢ νὰ εἶναι κυρίως ἐντοπισμένη στὸν πλακούντα, ὅπου οἱ συγκεντρώσεις τῆς ὁρμόνης εἶναι πολὺ ψηλές. Ἡ πληροφορία ἀπὸ τοὺς Wood καὶ συν. (92, 93), ὅτι ἡ περιοχὴ τῆς συγκυττιοτροφολάστης περιέχει μεγάλο ἀ-



ριθμό ΜΦ επιπλέον ενισχύει αυτό τον συλλογισμό. Όσο για τον μηχανισμό δράσης της HCG μιὰ πιθανή απάντηση, μᾶς δίνουν τὰ αποτελέσματα που παρουσιάζονται στους πίνακες 6 καὶ 7. Ἡ προσθήκη c.HCG σὲ καλλιέργειες περιτοναϊκῶν ΜΦ εἶχε σὰν ἀποτέλεσμα τὴ μεγάλη αὐξηση παραγωγῆς προσταγλανδινῶν (PG) κυρίως τῆς E σειρᾶς ἀλλὰ καὶ τῆς F_{2a}. Ἡ παραγωγή PG ἦταν γραμμικὴ συνάρτηση τῆς συγκέντρωσης τῆς ὁρμόνης καὶ ἦταν μεγίστη 48 ὥρες μετὰ τὴν ἔναρξη τοῦ πειράματος.

Σημαντικὰ αὐξημένη παραγωγή PG διαπιστώσαμε καὶ ἀπὸ ΜΦ ἔγκυων ποντικίων. Ἡ παραγωγή PG ἦταν καὶ πάλι ἀντίστροφα ἀνάλογη πρὸς τὴν ἡλικία κύησης. Μεγίστη κατὰ τὴ πρώϊμη κύηση καὶ λιγώτερο αὐξημένη πρὸς τὸ τέλος τῆς κύησης. Ἡ παραγωγή PGE ἦταν κατὰ πολὺ μεγαλύτερη ἀπὸ ἐκείνη τῆς PGF_{2a}.

Ἡ σύνθεση καὶ ἀπέκκριση PG ἀπὸ ΜΦ κάτω ἀπὸ διάφορες συνθήκες ἔχει δεიχθεῖ ἀπὸ πολλοὺς ἐρευνητές. Περιτοναϊκὰ ΜΦ κάτω ἀπὸ τὴν ἐπίδραση Zymosan (146) ἢ κολχικίνης (148) συνθέτουν καὶ ἐκκρίνουν μεγάλα ποσὰ PGE. Ἡ εἰσαγωγή ἐνδομητρικῶν σπειρωμάτων (IUD), ἔχει σὰν ἀποτέλεσμα τὴν ἄθροιση ΜΦ τὰ ὁποῖα παράγουν μεγάλα ποσὰ PGE καὶ PGF_{2a} (147). Σὲ ἄλλες μελέτες ἔχει δειχθεῖ ὅτι κυψελιδικὰ ΜΦ σκύλου, καταστέλλουν τὴν ἀπόκριση βρογχοκυψελιδικῶν λεμφοκυττάρων στὰ μιτογόνα, παράγοντας PGE (149). Οἱ παραγόμενες ἀπὸ τὸ ΜΦ PG δὲν ἔχουν δράση μόνο στὰ λεμφοκύτταρα, ἀλλὰ δροῦν καὶ σὰν ἀρνητικὸς μηχανισμὸς ἀλληλορρύθμισης, ἐλέγχοντας τὸν βαθμὸ ἐνεργοποίησης τῶν ἰδίων ΜΦ (150).

Πρόσφατα οἱ Oppenheim καὶ συν. ἔδειξαν ὅτι ΜΦ διεγερμένα in-vitro μὲ κορυνοβακτηρίδιο parvum ἢ θειογλυκόλη καταστέλλουν τὸν πολλαπλασιασμὸ λεμφοκυττάρων, ἐνοχοποιοῦν δὲ συνεργηστικὴ δράση προσταγλανδινῶν καὶ ὑπεροξειδίου τοῦ ὕδρογόνου (55).

Οἱ PG εἶναι μιὰ μεγάλη ὁμάδα «τοπικῶν ὁρμονῶν» καὶ ἀνευρίσκονται στοὺς περισσότερους ἰστούς. Ἐχουν ἐνοχοποιηθεῖ γιὰ τὴ ρύθμιση πολλῶν λειτουργιῶν, ὅπως διαβίβαση μηνυμάτων στοὺς ἀδρενεργικοὺς ὑποδοχείς, ρύθμιση τῆς ἀρτηριακῆς πίεσης καὶ τῆς αἱματικῆς ροῆς, συγκόλληση αἱμοπεταλίων, σύσπαση τῆς μήτρας καὶ τῆς ὠοθήκης, ὠχρινοποίηση, ὁρμονογένεση καὶ λιπολυτικὲς διαδικασίες (151). Στὸ ἀνοσοποιητικὸ σύστημα οἱ PG ἔχουν ἐνοχοποιηθεῖ μεταξὺ ἄλλων γιὰ τὴν καταστολὴ ἐνεργοποίησης τῶν T-λεμφοκυττάρων, παράταση τῆς ἐπιβίωσης ἀλλομοσχευμάτων καὶ καταστολὴ ἐκδήλωσης τῆς ὑπερευαισθησίας ἐπιβραδυνομένου τύπου (152). Οἱ Goodwin καὶ συν. ἔδειξαν ὅτι ἡ ἐξωγενὴς προσθήκη PGE εἶχε σὰν ἀποτέλεσμα τὴν ἐλαττωμένη πρόσληψη ³HTdR ἀπὸ ἀνθρώπινα λεμφοκύτταρα περιφερικοῦ αἵματος, μετὰ ἀπὸ διέγερση μὲ PHA ἢ CON - A (153).

Οἱ PG, ὅπως καὶ ἄλλοι παράγοντες (ἰσταμίνη, ἀμινοφυλλίνη, ἰσο-



ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Έπίπεδα παραγωγής προσταγλανδινών από φυσιολογικά ΜΦ και μετά την προσθήκη c.HCG Pg/1.0 X 10⁶ ΜΦ.

	Έπώαση 16 ώρες		Έπώαση 24 ώρες		Έπώαση 48 ώρες	
ΜΦ+HCG** IU/ml	PGF _{2a}	PGE	PGF _{2a}	PGE	PGF _{2a}	PGE
» — —	380.00	238.08	547.82	762.51	568.52	911.87
» » 100	960.06	21492.89	1511.88	23293.53	2155.75	25939.00
» » 500	4306.37	41048.18	6259.61	38186.24	5239.43	51123.48
» » 2500	8861.16	45911.75	9535.29	41337.62	6560.53	48882.67
RPMI-FCS*	157.36	24.62	187.67	16.78	175.94	9.45

* Τα ποσά PG που υπήρχαν στο RPMI-FCS αφαιρέθηκαν από όλες τις καλλιέργειες.

** Αφαιρέθηκαν τα ποσά PG που υπήρχαν στα σκευάσματα c.HCG.

ΠΙΝΑΚΑΣ 7. Παραγωγή προσταγλανδινών από ΜΦ φυσιολογικών και έγκυων BALB/c ποντικών Pg/1.0 X 10⁶ ΜΦ.

	Έπώαση 16 ώρες		Έπώαση 24 ώρες		Έπώαση 48 ώρες	
	PGF _{2a}	PGE	PGF _{2a}	PGE	PGF _{2a}	PGE
N.ΜΦ	245.63	386.90	223.23	406.40	266.58	571.98
Preg. 1 ΜΦ	2377.05	17955.18	2421.60	15351.80	2630.35	25539.45
Preg. 2 ΜΦ	557.05	5787.95	437.10	6602.23	905.55	10726.43
Preg. 3 ΜΦ	518.88	3509.43	283.58	3733.55	514.43	3730.65
RPMI-FCS*	75.80	15.98	84.37	33.37	95.93	37.00

* Τα ποσά PG που υπήρχαν στο RPMI-FCS αφαιρέθηκαν απ' όλες τις καλλιέργειες.



προτερηνόλη) φαίνεται ότι εκδηλώνουν τη δράση τους, προκαλώντας αύξηση της συγκέντρωσης του ένδογενοῦς κυκλικοῦ αδεοσίνου 3', 5'-μονοφωσφόρου (CAMP) (154, 155).

Οί Elzayat και Stylos (156) σέ πειράματά τους ἔδειξαν τήν ἀναγκαιότητα τῶν PG γιά τήν ὁμαλή ἐξέλιξη καί διεκπεραίωση τῆς κύησης στά κουνέλια. Προκάλεσαν ἀνοσοποίηση τῶν πειραματοζῶων κατὰ τῶν προσταγλανδινῶν E καί F_{2a}. Χρησιμοποίησαν τόσο ἀρσενικά ὅσο καί θηλυκά πειραμαζόζωα. Ἡ δημιουργία ἀντί-PG ἀντισωμάτων στά ἀρσενικά κουνέλια δέν εἶχε καμιά ἐπίδραση στήν σπερματογένεση ἢ τήν ἱκανότητα γονιμοποίησης.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Βάρος σπλήνα καί ἀριθμός περιτοναϊκῶν ΜΦ σέ φυσιολογικά καί ἔγκυα BALB/c ποντίκια.

Ποντίκια	Βάρος σπλήνα (mg)*	ἀριθ. ΜΦ/ποντίκι × 10 ⁶ *
Φυσιολογικά	88.75 ± 4.27	7.64 ± 0.52
Ἀρχική κύηση	185.00 ± 8.66	20.00 ± 0.68
Μέση κύηση	168.75 ± 13.29	18.33 ± 1.30
Προχωρημένη κύηση	118.75 ± 14.77	18.96 ± 1.40

* Μέση τιμή ἀπό 6 ποντίκια/ὁμάδα ± σταθερό λάθος ἀπό τή μέση τιμή (SEM).

Στά θηλυκά πειραματόζωα τὰ ἀντι-PG ἀντισώματα δέν εἶχαν ἐπίδραση στήν ὠογένεση, ὠορρηξία, γονιμοποίηση ἢ ἐμφύτευση. Ἀντίθετα ἀνοσοποιημένα θηλυκά κουνέλια μέ PGF_{2a} ἀπέβαλαν τὰ ἔμβρυα τους γύρω στήν 24η ἡμέρα κύησης, ἐνῶ τὰ ἀνοσοποιημένα μέ PGE καί PGE πέθαναν ξαφνικά. Οἱ πλακοῦντες αὐτῶν τῶν ζῶων ἦταν μικροί, ἐμφάνιζαν ἔμφρακτα, αἱμορραγική νέκρωση καί αἰμόλυση.

Τὰ εὐρήματα αὐτά ἐπιπλέον ἐνισχύουν τὸ δικό μας συλλογισμό ὅτι οἱ PG καί ἰδιαίτερα τῆς E σειρᾶς εἶναι ὁρμονικοὶ παράγοντες ἀπαραίτητοι γιά τήν προστασία τοῦ πλακούντα ἀπὸ ἀνοσολογική ἐπίθεση ἀπὸ μέρους τῆς μητέρας. Ἡ ἀδρανοποίηση τῶν PG μέ ἀντι-PG ἀντισώματα ἔχει σάν ἀποτέλεσμα τήν ἄρση τῆς προστασίας αὐτῆς, τήν ἀνοσολογική ἐπίθεση κατὰ τοῦ πλακούντα, τὸν θάνατο καί ἀποβολή τοῦ ἐμβρύου. Ὁ ἴδιος μηχανισμός ἐνδεχόμενα θὰ μπορούσε νὰ ἐνοχοποιηθεῖ καί γιά τή νέκρωση καί ἀποβολή τῶν ἐμβρύων μετὰ ἀπὸ χορήγηση σέ πειραματόζωα ἀντι-HCG ὁρροῦ (129). Καί στήν περίπτωση αὐτὴ νέκρωση εἶχε παρατηρηθεῖ στὸν πλακούντα, ἀπὸ τὰ χοριονικά κύτταρα μέχρι τίς ἔσω προφοβλαστικές



στιβάδες. Στις νεκρωτικές έστιες υπήρχε ποικίλου βαθμού διήθηση λεμφοκυττάρων και ούδετεροφίλων.

Η υπερευαισθησία επιβραδυνόμενου τύπου (DTH) αποτελεί μια καλή in-vivo τεχνική για τον έλεγχο της κυτταρικής άνοσίας. Κύτταρα υπεύθυνα για την έκδήλωση της αντίδρασης αυτής είναι κυρίως τα T-λεμφοκύτταρα, αλλά και τα ΜΦ φαίνεται ότι διαδραμάτισαν σημαντικό ρόλο. Στα σχετικά πειράματά μας (διαγ. 13) διαπιστώσαμε ότι τόσο η c. HCG, όσο και η P. HCG είχαν την ικανότητα να ελαττώνουν σημαντικά την απόκριση της κυτταρικής άνοσίας ποντικών σε αντιγονικό έρεθισμό (έρυθρά προβάτου). Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε απόλυτη συμφωνία με τα in-vitro εύρηματά μας και επιβεβαιώνουν και in-vivo τις ανοσοκατασταλτικές ιδιότητες της HCG.

Είναι γνωστό ότι η ινδομεθακίνη αναστέλλει την παραγωγή και έκκριση προσταγλανδινών από όλους σχεδόν τους ιστούς. Στην ιδιότητά της αυτή οφείλεται τόσο η αναλγητική όσο και η αντιφλεγμονώδης δράση της. Χρησιμοποιήθηκε από πολλούς έρευνητές σαν ειδικός αναστολέας παραγωγής των προσταγλανδινών (150, 152, 153, 154).

Η αναστροφή της κατασταλτικής δράσης της HCG στην DTH μετά την χορήγηση ινδομεθακίνης (διάγρ. 14), ενισχύει την άποψή μας, ότι η HCG εκφράζει τις κατασταλτικές της ιδιότητες, μέσα από την παραγωγή προσταγλανδινών.

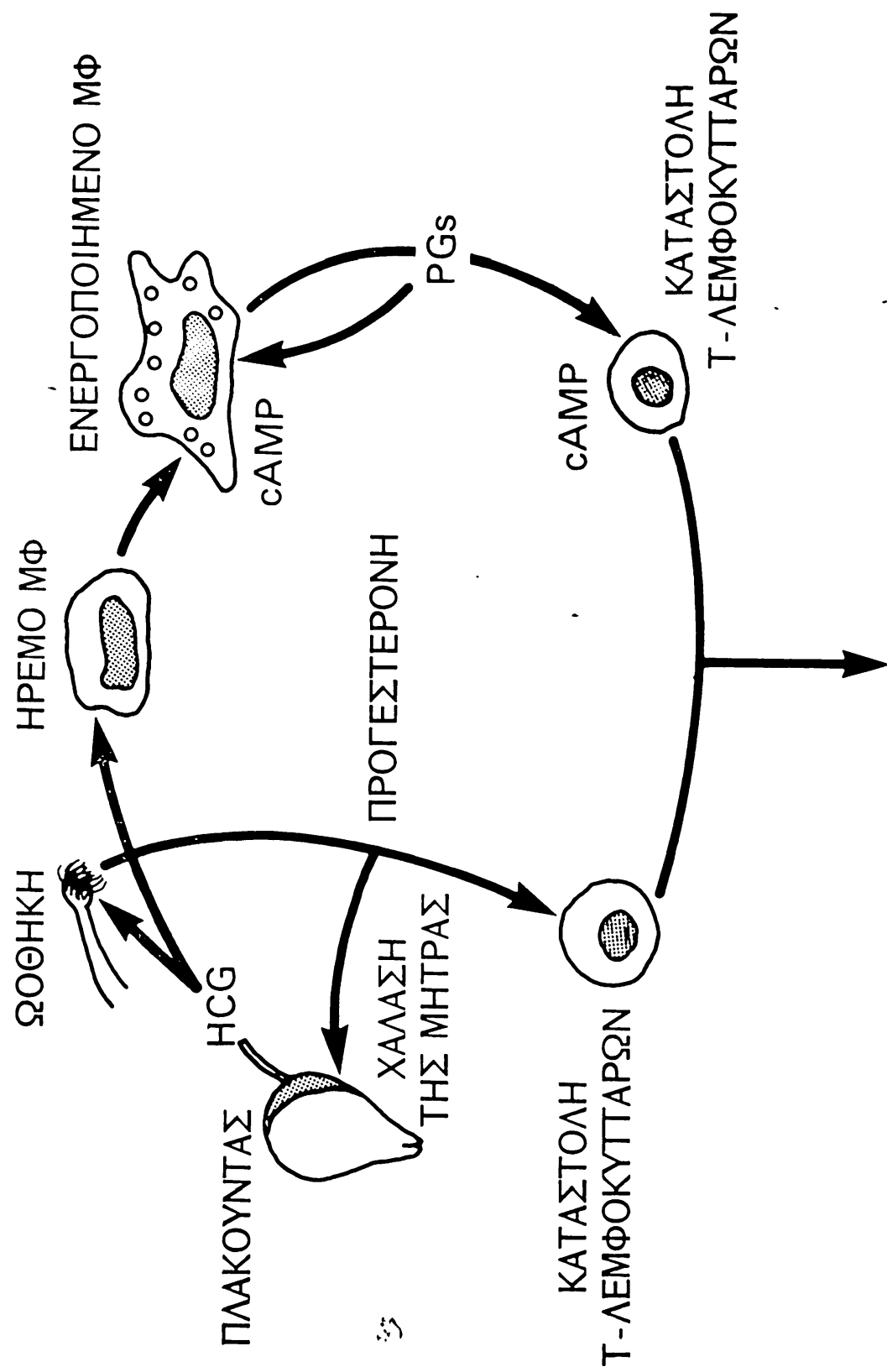
Η σπληνομεγαλία κατά τη διάρκεια της κύησης στα ποντίκια έχει περιγραφεί προηγούμενα και από άλλους έρευνητές (157). Έγκυες γυναίκες, που πέθαναν μετά από ρήξη άρτηριακού ανευρίσματος, επίσης εμφάνιζαν σημαντική διόγκωση του σπλήνα, μετά την 20ή εβδομάδα της κύησης (158). Τα δικά μας αποτελέσματα (πίν. 8) δείχνουν σημαντική διόγκωση του σπλήνα μεταξύ 9ης και 14ης μέρας κύησης στα ποντίκια, ενώ πρὸς τὸ τέλος τῆς κύησης επανέρχεται σε φυσιολογικά επίπεδα.

Η βιολογική σημασία της μεγαλοσπληνίας κατά τη κύηση δὲν έχει διευκρινιστεί. Ο αὐξημένος ἀριθμὸς λεμφοκυττάρων, ἀλλὰ μὲ μειωμένη ἀπόκριση στὰ μιτογόνα (157) ὑποδηλώνει ανοσολογική σκοπιμότητα τῆς μεγαλοσπληνίας (T-κατασταλτικά κύτταρα).

Ο αὐξημένος ἀριθμὸς ΜΦ, πὺ διαπιστώσαμε στὴν περιτοναϊκὴ κοιλότητα ἑγκυων ποντικῶν (πιν. 8), θαυμάσια συσχετίζεται μὲ τὴν ικανότητα τοὺς νὰ ὑπερπαραγάγουν PG καὶ νὰ ἀσκοῦν κατασταλτικὴ δράση στὰ T-λεμφοκύτταρα.

Στὸ σχῆμα I συνοψίζουμε σχηματικὰ τὸν προτεινόμενο μηχανισμό δράσης τῆς HCG. Ἡ HCG, ὡς γνωστὸν, παράγεται ἀπὸ τὴ συγκυττιοτροφολαστικὴ στιβάδα τοῦ πλακούντα. Ἡ δράση τῆς στὴν ὠοθήκη γιὰ τὴν παραγωγή προγεστερόνης εἶναι καλὰ θεμελιωμένη. Ἡ προγεστερόνη μὲ





ΑΠΟΤΡΟΠΗ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΠΙΘΕΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΠΛΑΚΟΥΝΤΑ

Σχήμα 1. Προτεινόμενος μηχανισμός δράσης της HCG.

τή σειρά της, άσκει διπλή δράση. Δρά από τή μιά στο μυομήτριο και προκαλεί χάλαση (άνταγωνίζεται τή δράση μητροσυσπαστικών παραγόντων, μεταξύ των οποίων είναι και οί PGE και PGF_{2a}) και από τήν άλλη άσκει κατασταλτική δράση στά T-λεμφοκύτταρα στο επίπεδο της τροφοβλάστης (117). Το άλλο σκέλος δράσης της HCG, είναι ή ενεργοποίηση των ΜΦ, τόσο συστηματικά, όσο και κυρίως των ΜΦ της τροφοβλάστης, όπου οί συγκεντρώσεις HCG είναι μεγάλες. Τα ΜΦ αυτά με τή σειρά τους παράγουν PG (κυρίως PGE), οί όποιες προκαλούν αύξηση της συγκέντρωσης του ένδογενοϋς C. AMP και καταστολή δράσης των T-λεμφοκυττάρων.

Ή HCG λοιπόν, με δύο τουλάχιστο τρόπους συμβάλλει στην καταστολή των T-κυττάρων και στην πετυχημένη έκβαση της κύησης:

- 1) με τήν παραγωγή προγεστερόνης και
- 2) με τήν ενεργοποίηση των ΜΦ.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην εργασία αυτή έγινε προσπάθεια να μελετηθεί ή επίδραση της ανθρώπινης χοριονικής γοναδοτροπίνης (HCG) στην κυτταρική άνοσια ποντικών. Διερευνήθηκε επίσης ή συμπεριφορά στοιχείων της κυτταρικής άνοσιος στά ποντίκια κατά τή κύηση.

Τά συμπεράσματα που προκύπτουν από τήν ανάλυση των αποτελεσμάτων είναι τά ακόλουθα :

- 1) 'Η NK δραστηριότητα των σπληνοκυττάρων ποντικών είναι αύξημένη τόσο κατά τή κύηση όσο και μετά τή χορήγηση HCG.
- 2) 'Η HCG ενεργοποιεί τά περιτοναϊκά ΜΦ ποντικών τόσο *in-vivo* όσο και *in-vitro*.
- 3) Τά ενεργοποιημένα με HCG ΜΦ όσο και τά ΜΦ από ήγκμα ποντίκια είναι κατασταλτικά για τά T-λειτουργόκυτταρα.
- 4) 'Η κατασταλτική δράση των ΜΦ τόσο κατά τήν κύηση όσο και μετά τή χορήγηση HCG εκδηλώνεται μέσα από τήν παραγωγή προσταγλανδινών κυρίως της E σειράς.
- 5) 'Η *in-vivo* χορήγηση HCG καταστέλλει τήν αντίδραση υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου (DTH) στά ποντίκια.
- 6) 'Η μεγαλοσπληνία κατά τή κύηση πιθανότατα έχει ανοσολογική σημασία.

Σάν τελικό συμπέρασμα θα μπορούσε να ληχθεί ότι ή χοριονική γοναδοτροπίνη άσκει προστατευτική για τό ήμβρυο λειτουργία, μετατρέποντας τά ΜΦ σε κατασταλτικά κύτταρα, αποτρέποντας έτσι ανοσολογική επίθεση κατά τοδ πλακούντα.



SUMMARY

This study was designed to investigate the effect of Human Chorionic Gonadotropin (HCG) on the cellular immune system of the mouse. The response of the cellular immune components during pregnancy in mice was also examined.

The experimental results obtained in this study can be summarized as follows :

- 1. Natural Killer (NK) cell activity in mice was enhanced during pregnancy and after HCG treatment.**
- 2. HCG treatment activates peritoneal macrophages (MΦ) *in-vivo* and *in-vitro*.**
- 3. HCG-activated MΦ and MΦ recovered from pregnant mice are suppressive for T-lymphocytes.**
- 4. Both HCG-activated MΦ and MΦ recovered from pregnant mice express their suppressor activity through prostaglandin synthesis and release.**
- 5. *In-vivo* administration of HCG eliminates delayed type hypersensitivity (DTH) in mice.**
- 6. Splenomegaly during pregnancy is of possible immunological significance.**

From the above data it can be concluded that chorionic gonadotropin protects the fetoplacental unit from immunological attack perhaps by endowing the macrophages with suppressor activity for T-lymphocytes.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. J. W. Alexander and R. A. Good: Fundamentals of clinical immunology W. B. Saunders Company (1977).
2. L. E. Hood, I. L. Weissman and W. B. Wood: Immunology. The Benjamin Cummings Publishing Company (1978).
3. H. H. Fundenberg, D. P. Stites, J. L. Caldwell, J. V. Wells: Basic and clinical immunology. Lange Medical Publications 2nd edition (1978).
4. K. L. Moore: The developing human. 2nd edition. W. B. Saunders Co. (Publ.) Philadelphia, London, Toronto (1977).
5. M. Bessis: Blood smears reinterpreted. Springer International (Publ.) (1977).
6. R. M. Schultz, M. A. Chirigos, and I. V. Heine: Functional and morphologic characteristics of interferon-treated macrophages. Cell. Immunology 35:84 (1977).
7. D. S. Nelson: Immunology of the macrophage. Academic Press, New York, San Francisco, London (1976).
8. R. J. North: The concept of the activated macrophage. J. Immunol. 121 (3): 806 (1978).
9. M. C. Karnousky and J. K. Lazdins.: Biochemical criteria for activated macrophages. J. Immunol. 121 (3): 809 (1978).
10. A. Z. Cohn: The activation of mononuclear phagocytes: fact, fancy, and future. J. Immunol. 121 (3) : 813 (1978).
11. A. C. Allison: Macrophage activation and nonspecific immunity. Int. Rev. Exp. Pathol. 18: 303-46 (1978).
12. R. C. Page, P. Davies, A. C. Allison: The macrophage as a secretory cell. Int. Rev. Cytol. 52: 119-57 (1978).
13. J. R. Oehler, R. B. Herberman and H. T. Holden: Modulation of immunity by macrophages. Pharma. Ther. A. vol 2 pp. 551-593 (1978) Pergamon Press.
14. G. Stingl, S. I. Katz, E. M. Shevach, A. S. Rosenthal and I. Green: Analogous functions of macrophages and langerhans cells in the initiation of the immune response. J. Invest. Dermatol. 71: 59-64 (1978).
15. S. Gordon, W. Newman, B. Bloom: Macrophage protease and rheumatic diseases: Regulation of plasminogen activator by thymus-derived lymphocytes. Agents Actions Jan. 8 (1-2) : 19-26 (1978).
16. Z. A. Cohn: The maturation and activation of mononuclear phagocytes. In: Differentiation of Normal and Neoplastic Hematopoietic Cell. p. 383-392 (1978).
17. K. E. Hopper, P. R. Wood and D. S. Nelson: Macrophage heterogeneity. Vox Sang 36: 257-274 (1979).
18. A. C. Munthe-Kaas: Kupffer cell suspensions and cultures as a tool in experimental carcinogenesis: J. Toxicol. Environ. Health Mar-May 5 (2-3): 565-73.
19. W. G. Hocking and D. W. Golde: The pulmonary-alveolar macrophage. New Engl. J. Med. 301 (12): 639 (1979).



20. M. J. Cline, R. I. Lehrer, M. C. Territo and D. W. Golde: Monocytes and macrophages: functions and diseases. *Ann. Intern. Med.* 88: 78-88 (1978).
21. D. A. Deporter: The role of the macrophage in collagen resorption during chronic inflammation. A new look at the old hypothesis. *Agents and Actions* 9/2 : 168-171 (1979).
22. R. M. Schultz, M. A. Chirigos and J. D. Papamatheakis: Immunotherapy with allogeneic immune peritoneal cells activated by BCG or pyran copolymer. *Cancer Immunol. Immunother.* 3: 183-187 (1978).
23. J. D. Papamatheakis, M. A. Chirigos and R. M. Schultz: Effect of dose, route and timing of pyran copolymer therapy against the Madison lung carcinoma. In: *Immune Modulation and Control of Neoplasia by Adjuvant Therapy* edited by M. A. Chirigos, Raven Press, New York, p. 427 (1978).
24. R. M. Schultz, J. D. Papamatheakis and M. A. Chirigos: Correlation between antitumor activity and macrophage activation by polyanions. In (*Immune Modulation and Control of Neoplasia by Adjuvant Therapy*) p. 495, Chirigos, M. A. (ed.), Raven Press, New York (publ.) (1978).
25. R. M. Schultz, J. D. Papamatheakis and M. A. Chirigos: Interferon: An inducer of macrophage activation by polyanions. *Science*: 197: 674-676 (1977).
26. R. M. Schultz, N. A. Pavlidis, and M. A. Chirigos: Macrophage involvement in the antitumor activity of *Brucella abortus* ether extract experimental lung carcinoma metastases. *Cancer Res.* 38: 3427-3431 (1978).
27. J. B. Hibbs: Macrophage nonimmunologic recognition: Target cell factors related to contact inhibition. *Science* 180: 688 (1973).
28. R. M. Schultz, J. D. Papamatheakis, W. A. Stylos and M. A. Chirigos: Augmentation of specific macrophage-mediated cytotoxicity: Correlation with agents which enhance antitumor resistance. *Cell. Immunol.* 25: 309-316 (1979).
29. H. Cantor, and I. Weissman: Development and function of subpopulations of thymocytes and lymphocytes. *Prog. Allergy* 20: 1 (1974).
30. D. D. Eardley, J. Hugenberg, L. McVay-Boudreau, F. W. Sheu, R. K. Gershon and H. Cantor: Immunoregulatory circuits among T-cell sets I. T-Helper cells induce other T-cells to exert feedback inhibition. *J. Exp. Med.* 147: 1106 (1978).
31. H. Binz and H. Wigzell: Recognition of antigens by T-lymphocytes. *Mol. Cell. Biochem.* 22, 2-3: 93 (1978).
32. L. Moretta, M. C. Mingari and A. Moretta: Human T-cell subpopulations in normal and pathologic conditions. *Immunol. Rev.* 45: 164 (1979).
33. D. L. Robbins and M. E. Gershwin: Identification and characterization of lymphocyte subpopulations. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 7, 4: 245 (1978).
34. J. F. A. P. Miller: Influence of the major histocompatibility complex on T-cell activation. *Adv. Cancer Res.* 29: 44 (1979).
35. D. Naor: Suppressor Cells: Permitters and promoters of malignancy? *Adv. Cancer Res.* 29: 45 (1979).
36. R. M. Zinkernagel: Major transplantation antigens in T cell-mediated immunity: a comparison of the transplantation reaction with antiviral immunity. *Fed. Proc.* 37, 10: 2379 (1978).
37. R. E. Ballicux, C. J. Heijney, F. Vytdehaag and B. J. M. Zegers. Regulation of B-cell activity in man: Role of T-cells. *Immunol. Res.* 45: 3 (1979).
38. S. Cohen, E. Pick, J. I. Oppenheim. *Biology of the lymphokines*. Academic Press. New York, San Francisco, London (1979).



39. A. J. Munro: Interactions between cells of a syngeneic immune system involving products of a major histocompatibility complex. *Proc. R. Soc. Lond. B* 202: 177 (1978).
40. O. Ringden, B. Rynnel-Dagoo, T. Kunori, C. I. E. Smith, L. Hammarstrom, A. Freijd and E. Moller: Induction of antibody synthesis in human B-lymphocytes by different polyclonal B cell activators: Evaluation by direct and indirect PFC assays. *Immunol. Rev.* 45: 195 (1979).
41. D. E. Parks and W. O. Weigle: Regulation of B-cell unresponsiveness by suppressor cells. *Immunol. Rev.* 43: 217 (1979).
42. J. U. Howard and F. L. Shand: The nature of drug-induced B-cell tolerance. *Immunol. Rev.* 43: 43 (1979).
43. D. L. Rosenstreich and S. B. Mizel: The participation of macrophages and macrophage cell lines in the activation of T-lymphocytes by mitogens. *Immunol. Rev.* 40: 102 (1978).
44. M. R. Potter and M. Moore: The effect of adherent and phagocytic cells on human lymphocyte PHA responsiveness. *Clin. Exp. Immunol.* 27: 159 (1977).
45. V. Persson, L. Hammarstrom, E. Moller, G. Moller and C. I. E. Smith: The role of adherent cells in B and T lymphocyte activation. *Immunol. Rev.* 40: 78 (1978).
46. C. W. Pierce and J. A. Kapp: Functions of macrophages in antibody responses *in-vitro*. *Fed. Proc.* 37, 1: 86 (1978).
47. J. E. Niederhuber: The role of I region gene products in macrophage T-lymphocyte interaction. *Immunol. Rev.* 40: 28 (1978).
48. A. C. Allison: Mechanism by which activated macrophages inhibit lymphocyte responses. *Immunol. Rev.* 40: 3 (1978).
49. H. G. Opitz, D. Niethammer, H. Hemke, H. D. Flad, and R. Huget: Inhibition of ³H-thymidine incorporation of lymphocytes by a soluble factor from macrophages. *Cell. Immunol.* 16: 397 (1975).
50. H. G. Opitz, D. Niethammer, R. C. Jackson, H. Lemke, R. Huget and H. D. Flad: Biochemical characterization of a factor released by macrophages. *Cell. Immunol.* 18: 70 (1975).
51. J. T. Kung, S. B. Brooks, J. T. P. Jakway, L. L. Leonard, and D. W. Talmage: Suppression of *in-vitro* cytotoxic response by macrophages due to induced arginase. *J. Exp. Med.* 146: 665 (1977).
52. W. J. Byrd, D. M. Jacobs and M. S. Amoss. Synthetic polyamines added to cultures containing bovine sera reversibly inhibit *in-vitro* parameters of immunity. *Nature* 267: 621 (1977).
53. J. Ferluga, H. V. Schorlemmer, L. G. Baptista and A. C. Allison: Cytotoxic effects of the complement cleavage product C3a. *Br. J. Cancer* 34: 626 (1976).
54. I. Heron, K. Berg, and K. Cantell: Regulatory effect of interferon on T cells *in-vitro*. *J. Immunol.* 117, 4: 1370 (1976).
55. Z. Metzger, J. T. Hoffeld, and J. J. Oppenheim: Macrophage - mediated suppression. I. Evidence for participation of both hydrogen peroxide and prostaglandins in suppression of murine lymphocyte proliferation. *J. Immunol.* 124, 2: 983 (1980).
56. A. S. Kadish, F. A. Tansey, G. S. M. Yu, A. T. Doyle and B. R. Bloom: Interferon as a mediator of human lymphocyte suppression. *J. Exp. Med.* 151: 637 (1980).
57. W. H. West, G. B. Cannon, H. D. Kay, G. D. Bonnard and R. B. Herberman: Natural cytotoxic reactivity of human lymphocytes against a myeloid cell line: characterization of effector cells. *J. Immunol.* 118, 1: 355 (1977).



58. J. Kaplan and D. M. Callewaert: Expression of human T. lymphocyte antigens by natural killer cells. *J. Natl. Cancer Inst.* 60, 5: 961 (1978).
59. W. H. West, R. B. Boozar and R. B. Herberman: Low affinity E-Rosette formation by the human K cell. *J. Immunol.* 120, 1: 90 (1978).
60. R. B. Herberman, M. E. Nunn and H. T. Holden: Low density of thy-1 antigen on mouse effector cells mediating natural cytotoxicity against tumor cells. *J. Immunol.* 121, 1: 304 (1978).
61. R. B. Herberman, M. E. Nunn and D. H. Lavrin: Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity. *Int. J. Cancer* 16: 216 (1975).
62. J. R. Oehler, L. R. Lindsay, M. E. Nunn, and R. B. Herberman. Natural cell-mediated cytotoxicity in rats. I. Tissue and strain distribution, and demonstration of a membrane receptor for the Fc portion of Ig G. *Int. J. Cancer* 21: 204 (1978).
63. O. Evermin, R. R. A. Coombs, D. Plumb and J. Ashby: Characterization of the human natural killer (NK) cell in blood and lymphoid organs. *Int. J. Cancer* 21: 42, (1978).
64. H. Cantor, M. Kasai, F. W. Shen, J. C. Leclerc and L. Glimcher: Immunogenetic analysis of natural killer activity in the mouse. *Immunol. Rev.* 44: 3 (1979).
65. R. Kiessling, E. Klein, H. Pross, and H. Wigzell: Natural killer cells in the mouse. II. Cytotoxic cells with specific for mouse Moloney leukemia cells. Characteristics of the killer cell. *Eur. J. Immunol.* 5: 117 (1975).
66. R. Kiessling and H. Wigzell: An analysis of the murine NK cell as to structure, function and biological relevance. *Immunol. Rev.* 44: 165 (1979).
67. A. K. Kimura, and H. Wigzell: Cell surface glycoproteins of murine cytotoxic lymphocytes. I. T 145, A new cell surface glycoprotein selectively expressed on Ly 1, 2+ cytotoxic T lymphocytes. *J. Exp. Med.* 147: 1418 (1978).
68. E. Ojo, O. Haller and H. Wigzell: *Corynebacterium parvum*-induced peritoneal exudate cells with rapid cytotoxic activity against tumor cells are non phagocytic cells with characteristics of natural killer cells. *Scand. J. Immunol.* 8: 215 (1978).
69. J. C. Roder and R. Kiessling: Target-effector interaction in the natural killer cell system. Covariance and genetic control of cytotoxic and target-cell-binding subpopulations in the mouse. *Scand. J. Immunol.* 8: 135 (1978).
70. M. Gidlund, A. Orn, H. Wigzell, A. Senik, I. Gresser: Enhanced NK cell activity in mice injected with interferon and interferon inducers. *Nature* 273: 759 (1978).
71. G. Trinchieri, D. Santoli, B. B. Knowles: Tumor cell lines induce interferon in human lymphocytes. *Nature* 270: 611 (1977).
72. G. Cudkowitz and P. S. Hochman: Do natural killer cell engage in regulated reactions against self to ensure homeostasis? *Immunol. Rev.* 144: 13 (1979).
73. M. Goldstein and H. Baxter: Fetal tissue homografts. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 73: 564 (1958).
74. M. Constandoulakis and H. E. M. Kay: A and B antigens of the human foetal erythrocyte. *Brit. J. Haematol.* 8: 57 (1962).
75. H. Bergstrom, L. A. Nillsson, L. Nillsson and L. Ryttinger: Demonstration of Rh antigens in a 38 day old fetus. *Am. J. Obst. Gynecol.* 99, 1: 130 (1967).
76. R. Corbellini: Old and new facts and speculations about transplantation antigens in man. In: *Progress in Immunology*. Ed. Amos. Acad. Press. London pp. 973-1019 (1971).



77. K. Ohama and T. Kajii: Mixed cultures of fetal and adult lymphocytes. *Amer. J. Obst. Gynecol.* 119: 552 (1974).
78. A. E. Beer and R. E. Billingham: Host responses to intra-uterine tissue, cellular and fetal allografts. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 21: 59-88 (1974).
79. A. E. Beer and R. E. Billingham: Immunoregulatory aspects of pregnancy. *Fed. Proc.* 37, 10: 2374 (1978).
80. W. P. Faulk, A. Sanderson, and A. Temle. Distribution of MHC antigens in human placental chorionic villi. *Transplant Proc.* 9: 1379 (1977).
81. P. N. Goodfellow, C. J. Barnstable, W. F. Bodmer, D. Snary, and M. J. Crumpton: Expression of HLA system antigens on placenta. *Transplantation* 22, 6: 595 (1976).
82. K. Sundquist, S. Bergstrom and S. Hakansson: Surface antigens of human trophoblasts. *Dev. Compar. Immunol.* 1: 241 (1977).
84. J. F. Hulka, V. Brinton, J. Schaaf, C. Baney: Appearance of antibodies to trophoblast during the postpartum period in normal pregnancies, *Nature* 198: 501 (1963).
85. R. H. Burstein and H. T. Blumenthal: Immune reaction of normal pregnancy. *Amer. J. Obst. Gynecol.* 104: 671 (1969).
86. V. Voutananukorn, P. Matangkasombut and V. Osathanondh: Onset of human maternal cell mediated immune reaction to placental antigens during the first pregnancy. *Clin. Exp. Immunol.* 16: 593 (1974).
87. W. P. Faulk, M. Jeannet, W. D. Creighton and A. Carbonara: Immunological studies of the human placenta. Characterization of immunoglobulins on trophoblastic basement membranes. *J. Clin. Invest.* 54: 1011 (1974).
88. G. A. Currie, W. Van Doorninck, and K. D. Bagshawe: Effect of neuraminidase on the immunogenicity of early mouse trophoblast. *Nature* 219: 191 (1968).
89. R. F. Searle, E. J. Jenkinson, and M. H. Johnson: Immunogenicity of mouse trophoblast and embryonic sac. *Nature* 255: 719 (1975).
90. R. Borland, Y. W. Loke, and D. Wilson: Immunological privilege resulting from edocrine activity of trophoblast *in vivo*. In: *Immunobiology of trophoblast* Ed: Edwards Howe and Johnson. Cambridge University Press Cambridge pp. 158-169.
91. Y. W. Loke, D. V. Wilson and R. Borland: Localization of human chorionic gonadotropin in monolayer cultures of trophoblast cells by mixed agglutination *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 113: 875 (1972).
92. G. Wood, J. Reynard, E. Krishnam, and L. Racela: Immunobiology of the human placenta. I. IgG Fc receptors in trophoblastic villi. *Cell. Immunol.* 35: 191 (1978).
93. G. Wood, J. Reynard, E. Krishnam, and L. Racela: Immunobiology of the human placenta. II. Localization of macrophages *in vivo* - bound IgG and C3. *Cell. Immunol.* 35: 205 (1978).
94. A. S. Pacsa and B. Pejtsik: Impairment of immunity during pregnancy and antiviral effect of amniotic fluid. *Lancet* 1: 330 (1977).
95. R. E. Rocklin, J. E. Zuckerman, E. Alpert and J. R. David: Effect of multiparity on human maternal hypersensitivity to foetal antigen. *Nature* 241: 130 (1973).
96. V. Voutananukorn, P. Matangkasombut: Specific plasma factors blocking human maternal cell-mediated immune reaction to placental antigens. *Nature New Biol.* 242: 110 (1973).
97. M. C. Carr, D. P. Stites, H. H. Fudenberg: Cellular immune aspects of the human fetal-maternal relationship. III. Mixed lymphocyte reactivity between related maternal and cord blood lymphocytes. *Cell Immunol.* 11: 332-341 (1974).



98. G. D. Bonnard and L. Lemos. The cellular immunity of mother versus child at delivery: sensitization in unidirectional mixed lymphocyte culture and subsequent³¹ Cr-release cytotoxicity test. *Transplant. Proc.* 4: 177-180 (1972).
99. R. A. Gatti, E. J. Yunis and R. A. Good: Characterisation of serum inhibitor of MLC reactions. *Clin. Exp. Immunol.* 13: 427 (1973).
100. M. Jonker, A. Van Leeuwen and J. J. Van Rood: Inhibition of the mixed leukocyte reaction by alloantisera in man. II. Incidence and characteristics of MLC inhibiting antiserum from multiparous women. *Tissue Antigens* 9: 246 (1977).
101. P. K. E. Poskitt, E. A. Kurt, B. B. Paul et. al: Response to mitogen during pregnancy and the post partum period. *Obstet Gynecol.* 50: 319 (1977).
102. M. C. Carr, D. P. Stites, and H. H. Fudenberg: Cellular immune aspects of the human fetal maternal relationship. II. *In-vitro* response of gravida lymphocytes to phytohaemagglutinin. *Cell. Immunol.* 8: 448 (1973).
103. P. Jha, G. P. Talwar and V. Hingorami: Depression of blast transformation of peripheral leukocytes by plasma from pregnant women. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 122: 965 (1975).
104. O. M. Petrucco, R. F. Seamark, K. Holmes, I. J. Forbec and R. G. Symonds: Changes in lymphocyte function during pregnancy. *Brit. J. Obstet. Gynaecol.* 83: 3245 (1976).
105. S. A. Birkeland and K. Kristoffersen: The fetus as an allograft: a longitudinal study of normal human pregnancies studied with mixed lymphocyte cultures between mother -father and mother- child. *Scand. J. Immunol.* 11: 311 (1980).
106. S. A. Birkeland, and K. Kristoffersen: Lymphocyte transformation with mitogens and antigens during normal human pregnancy: a longitudinal study. *Scand. J. Immunol.* 11: 321 (1980).
107. A. Maraz and I. B. Petri: Intrinsic alteration of lymphocyte reactivity in women with normal pregnancy or tumor of placental origin. *Cell. Immunol.* 10: 496 (1974).
108. R. L. Wold, R. Lomnitzer, and A. R. Rabson: An inhibitor of lymphocyte proliferation and lymphokine production released by unstimulated foetal monocytes. *Clin. Exper. Immunol.* 27: 464 (1977).
109. H. L. Lau., and S. E. Linkins: Alpha-fetoprotein. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 124: 533 (1976).
110. S. Gupta, R. A. Good: A-fetoprotein and human lymphocyte subpopulations. *J. Immunol.* 118: 405 (1977).
111. H. W. Stimson: Identifications of pregnancy associated α -macroglobulin on the surface of peripheral blood leukocyte populations. *Clin. Exp. Immunol.* 28: 445 (1977).
112. H. W. Stimson: Studies on the immunosuppressive of a pregnancy associated α -macroglobulin. *Clin. Exp. Immunol.* 25: 199 (1976).
113. C. H. W. Horne, C. M. Towler, P. Humphreys, A. W. Thomson, and H. Bohn: Pregnancy specific β -glycoprotein - a product of syncytiotrophoblast. *Experientia* 32, 9: 1197 (1976).
114. F. M. Clarke, H. Morton, and G. J. A. Clunie: Detection and separation of two serum factors responsible for depression of lymphocyte activity in pregnancy. *Clin. Exp. Immunol.* 32: 318 (1978).
115. F. P. Nooman, W. J. Halliday, H. Morton, G. J. A. Clunie: Early pregnancy factor is immunosuppressive. *Nature* 278: 649 (1979).
116. S. Kasakura: Is cortisol responsible for inhibition of MLC reactions by pregnancy plasma? *Nature* 246: 496 (1973).



117. L. E. Clemens, P. K. Siiteri, and D. P. Stites: Mechanism of immunosuppression of progesterone on maternal lymphocyte activation during pregnancy. *J. Immunol.* 122, 5: 1978 (1979).
118. E. W. Barnes, A. C. MacCuish, N. B. Landon, J. Jordan, and W. J. Irvine: Phytohaemagglutinin-induced lymphocyte transformation and circulating auto-antibodies in women taking oral contraceptives. *Lancet* 1: 898 (1974).
119. R. I. Schiff, D. Mercier and R. Buckley: Inability of gestational hormones to account for the inhibitory effects of pregnancy plasmas on lymphocyte response *in vitro*. *Cell. Immunol.* 20: 69 (1975).
120. F. J. Morgan, S. Birken, and R. E. Canfield: The amino acid sequence of human chorionic gonadotropin. The α subunit and β subunit. *J. Biol. Chem.* 250: 5247 (1975).
121. R. B. Jaffe, P. A. Lee, and A. R. Midgley: Serum gonadotropins before, at the implantation of, and following human pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 29: 1281 (1969).
122. R. J. Dash, B. R. Shanna, G. K. Rastogi and P. K. Devi: Measurement of serum human chorionic gonadotropin in normal pregnancy. *Indian J. Med. Res.* 64, 7: 963.
123. R. B. Jaffe, M. Serou - Ferre, I. Huhtaniemi and C. Korenbrot: Regulation of the primate fetal adrenal gland and testes *in vitro* and *in vivo*. *J. Steroid Biochem.* 8: 479 (1977).
124. B. C. Nisula and J. M. Ketslegers: Thyroid-stimulating activity and chorionic gonadotropin. *J. Clin. Invest.* 54: 494 (1974).
125. W. H. Pearce and H. Kaiman: Human chorionic gonadotropin and homograft survival. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 98: 573 (1967).
126. J. B. Younger, R. L. Pierre, and C. M. Zmijewski: Effect of human chorionic gonadotropin on antibody production. *Amer. Obstet. Gynecol.* 105: 9 (1969).
127. L. M. Slater, W. Bostik, and L. Fletcher: Decreased mortality of murine graft-versus-host disease by human chorionic gonadotropin. *Transplantation* 23: 103 (1977).
128. T. Han: Human chorionic gonadotropin: Its inhibitory effect on cell-mediated immunity *in vivo* and *in vitro*. *Immunology* 29: 509 (1975).
129. C. S. Bamba and S. Gombe: The role of placental gonadotrophins (P SG and HCG) in pregnancy in the rat. *J. Reprod. Fert.* 53: 109 (1978).
130. E. W. Adcock, F. Teasdale, C. S. August, S. Cox, G. Meschia, F. C. Battaglia, M. A. Naughton: Human chorionic gonadotropin: Its possible role in maternal lymphocyte suppression. *Science* 181: 845 (1973).
131. C. G. Beling, and M. E. Weksler: Suppression of mixed lymphocyte reactivity by human chorionic gonadotropin. *Clin. Exp. Immunol.* 18: 537 (1974).
132. D. Beck, H. Ginsburg, Y. Naot: The modulating effect of human chorionic gonadotropin on lymphocyte blastogenesis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 129: 14 (1977).
133. J. L. Caldwell, D. P. Stites and H. H. Fudenberg: Human chorionic gonadotropin: effect of crude and purified preparations on lymphocyte responses to phytohemagglutinin and allogeneic stimulation. *J. Immunol.* 115, 5: 1249 (1975).
134. J. H. Morse, G. Stearns, J. Arden, G. M. Agosto and R. E. Canfield: The effect of crude and purified human gonadotropin on *in vitro* stimulated human lymphocyte cultures. *Cell. Immunol.* 25: 178 (1976).



135. R. F. Maes and N. Claverie: The effect of preparations of human chorionic gonadotropin on lymphocyte stimulation and immune response. *Immunology*. 33: 351 (1977).
136. T. Colton: *Statistics in Medicine*. Little, Brown and Company, Boston, Mass. (1974).
137. P. Armitage: *Statistical methods in medical research*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Edinburgh, Melbourne (1977).
138. A. E. Beer and R. E. Billingham: The embryo as a transplant. *Sci. Am.* 230: 36 (1974).
139. N. P. Luz, M. Margues, A. C. Ayub and P. R. Correa: Effects of estradiol upon the thymus and lymphoid organs of immature female rats. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 105: 525 (1969).
140. D. T. Purtilo, H. M. Hallgren and E. J. Yunis: Depressed maternal lymphocyte response to phytohemagglutinin in human pregnancy. *Lancet*. 1: 769 (1972).
141. B. Schoultz: A quantitative study of the pregnancy zone protein in the sera of pregnant and puerperal women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 119: 792 (1974).
142. P. J. Catanzaro, H. I. Schwartz and R. C. Grahm: Spectrum and possible mechanism of carrageenan cytotoxicity. *Am. J. Pathol.* 64: 387 (1971).
143. L. D. Wiley: Presence of a gonadotrophin on the surface of preimplanted mouse embryos. *Nature* 252: 715 (1974).
144. F. Haour and B. B. Saxena: Detection of a gonadotropin in rabbit blastocyst before implantation. *Science* 185: 444 (1974).
145. D. Puelt, A. Kenner, R. Beruemsle and D. Rabinowitz: Characterization of the human chorionic gonadotropin fractions in pregnancy urine. *Acta Endocrinologica* 89: 612 (1978).
146. J. L. Humes, R. J. Bonney, L. Pelus, M. E. Dahlgren, S. J. Sadowski, F. A. Kuehl and P. Davies: Macrophages synthesize and release prostaglandins in response to inflammatory stimuli. *Nature* 269: 149 (1977).
147. L. Myatt, M. A. Bray, D. Gordon and J. Morley: Macrophages on intrauterine contraceptive devices produce prostaglandins. *Nature* 257: 227 (1975).
148. D. Gerns, W. Kramer, M. Brenner, G. Till and K. Resch: Induction of prostaglandin E release from macrophages by colchicine. *J. Immunol.* 124, 1: 376 (1980).
149. J. H. Demenkoff, M. J. Ansfield, H. B. Kaltreider and E. Adam: Alveolar macrophage suppression of canine bronchoalveolar lymphocytes: The role of prostaglandin E in the inhibition of mitogen-responses. *J. Immunol.* 124, 3: 1365 (1980).
150. R. M. Schultz, N. A. Pavlidis, W. A. Stylos and M. A. Chirigos: Regulation of macrophage tumoricidal function: A role for prostaglandins of the E series. *Science* 202: 390 (1978).
151. G. D. Stockman and D. M. Mumford: The effect of prostaglandins on the *in vitro* blastogenic response of human peripheral blood lymphocytes. *Exp. Hemat.* 2: 65 (1974).
152. L. M. Pelus and H. R. Strausser: Prostaglandins and the immune response. *Life Sciences* 20: 903 (1977).
153. J. S. Goodwin, A. D. Bankhurst and R. P. Messner: Suppression of human T-cell mitogenesis by prostaglandins. *J. Exp. Med.* 146: 1719 (1977).
154. J. W. Smith, A. L. Steiner and C. W. Parker: Human lymphocyte metabolism. Effects of cyclic and noncyclic nucleotides on stimulation by phytohemagglutinin. *J. Clin. Invest.* 50: 442 (1971).



155. H. R. Bourne, L. M. Lichtenstein, K. L. Melmon, C. S. Henner, Y. Weinstein, and G. M. Shearer: Modulation of inflammation and immunity by cyclic AMP. *Science* 5: 19 (1974).
156. S. Elzayat and W. Stylos: The effect of circulating prostaglandin antibodies on reproduction in rabbits with special reference to the placenta. *Endocrinology* 95: 1642 (1974).
157. R. Mattson, B. Nilsson and K. L. Kiessling: An investigation of splenic enlargement in pregnant mice. *Devel. Compar. Immunol.* 3: 683 (1979).
158. H. L. Sheehan and N. M. Falkier: Splenic aneurism and splenic enlargement in pregnancy. *Brit. Med. M.* 2: 1105 (1948).
159. H. Tabor, and C. W. Tabor: Biosynthesis and metabolism of 1,4-diaminobutane-spermidine, spermine and related amines. *Advanc. Enzymology* 36, 213 (1972).
160. R. M. Schultz, W. Woods, S. J. Mohr, and M. A. Chirigos: Immune response of BALB/C X DBA/2F1 mice to a tumour allograft during pyran copolymerinduced tumor enhancement. *Cancer Res.* 36: 1641 (1976).
161. R. M. Schultz, P. Ruiz, M. A. Chirigos, U. Heine and R. W. Nelson: Establishment and characterization of a cell line derived from spontaneous murine lung carcinoma (M109) *In vitro*, 13: 223 (1977).
162. M. Cikes, S. Friberg, G. Klein: Progressive loss of H-2 antigens with concomitant increase of cell-surface antigen (s) determined by Moloney leukemia virus in cultured murine myelomas: *J. Natl. Cancer Instit.* 50: 347 (1973).
163. W. A. Stylos, M. A. Chirigos, V. Papademetriou and L. Lauer: The immunomodulatory effect of BM 12.531 (Azimexon) on normal or tumored mice: *In-vitro* and *in vivo* studies: *J Immunopharmacol.* 2(1):113, (1980).
164. R. Kiessling, P. S. Hochman, O. Haller, G. M. Shearer, H. Migzell, and G. Cudkiewicz: Evidence for a similar or common mechanism for natural killer cell activity and resistance to hemopoietic grafts. *Eur. J. Immunol.* 7: 655 (1977).
165. L. K. Steel, L. Platshon and M. Kaliner: Prostaglandin generation by human and guinea pig lung tissue: Comparison of parenchymal and airway responses: *J. Allergy Clin. Immunol.* 64, 287 (1979).
166. R. M. Taffe, J. W. Smith, W. T. Newton, and C. W. Parker: Radioimmunoassay for prostaglandins. *Science* 171, 494 (1971).

