

4.97.....5A

ΑΠΟ ΤΟΝ ΤΟΜΕΑ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

• ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Χ.Μ. ΜΟΥΤΣΟΠΟΥΛΟΣ
ΚΑΙ

ΤΟΝ ΤΟΜΕΑ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ ΤΟΥ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Π.Δ. ΛΑΠΑΤΣΑΝΗΣ
ΚΑΙ

ΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΤΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΕΘΝΙΚΟΥ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ ΥΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΗΝΩΜΕΝΩΝ ΠΟΛΙΤΕΙΩΝ
ΤΗΣ ΑΜΕΡΙΚΗΣ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Δρ. J.J. HOOKS

339

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΗΣ, ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙ-
ΝΗΣ Ε, ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ ΣΥΓΚΥΤΙΟΥ
ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΔΕΝΟΙΩΝ ΣΤΗ ΒΡΕΦΙΚΗ ΒΡΟΓΧΙΟΛΙΤΙΔΑ**

ΑΠΟ ΤΟ
ΔΗΜΗΤΡΙΟ Τ. ΜΠΟΥΜΠΑ
ΙΑΤΡΟ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΓΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΑ

που υποβλήθηκε στην Ιατρική Σχολή
του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 1986



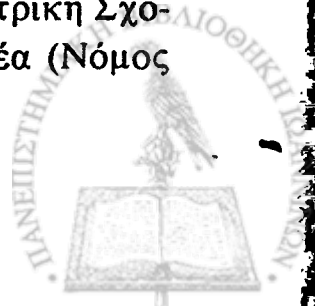
...Στη μνήμη του πατέρα μου



Στη μητέρα μου



Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Νόμος 5343/32, άρθρο 200, παρ. 2).



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
I. Εισαγωγή	13
II. Γενικό μέρος	15
Βρογχολίτιδα	17
Ιντερφερόνη	32
III. Ειδικός μέρος	45
Υλικό και μέθοδοι	47
Αποτέλεσμα	57
Συζήτηση	63
Συμπεράσματα	67
Περίληψη	68
Summary	69
IV Βιβλιογραφία	71



ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

Ig E: Immunoglobulin E, ανοσοσφαιρίνη E

RSV: respiratory syncytial virus, ιός του αναπνευστικού συγκυτίου

IFN: Interferon, ιντερφερόνη

IF - 2: Initiation factor - 2, Εναρκτήριο Παράγοντας

PGE: Prostaglandin E, προσταγλαδίνη E

c - myc: cellular myc. Πρωτοογκογονίδιο myc

c - myb: cellular myb, Πρωτοογκογονίδιο myb

c - raf cellular raf, Πρωτοογκογονίδιο raf

Δ.Ε.Σ.: Δικτυοενδοθηλιακό σύστημα.



I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η βρογχιολίτιδα είναι η πιο συχνή λοίμωξη του αναπνευστικού συστήματος που συναντιέται σε παιδιά ηλικίας μικρότερης από 2 χρόνων. Εκδηλώνεται με ταχύπνοια, αναπνευστικό συριγμό και δύσπνοια που μπορεί να καταλήξουν σε οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια. Ο ιός του αναπνευστικού συγκύτιου ενοχοποιείται για το 40 – 70% των περιπτώσεων ενώ για το υπόλοιπο 30% άλλοι ιοί, όπως αδενοϊοί, ιός της παραγρίπης κλπ.¹

Εκτός από τους ιούς, φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου ανοσολογικοί παράγοντες με ανοσολογικές αντιδράσεις τύπου I (αναφυλακτική) και IV (κυτταρική)². Οι πιο σημαντικές ενδείξεις για την συμμετοχή αυτών των ανοσολογικών μηχανισμών στην παθογένεια της βρογχιολίτιδας είναι οι παρακάτω:

1. Η κλινική εικόνα μοιάζει με αυτή του άσθματος.

2. Παιδιά που εμβολιάστηκαν με νεκρό ιό αναπνευστικού συγκύτιου, και στη συνέχεια μολύνθηκαν μ' αυτό τον ιό εμφάνισαν εικόνα πολύ βαριάς βρογχιολίτιδας και μάλιστα αρκετά από αυτά πέθαναν².

3. Τριάντα στα εκατό (30%) των βρεφών και νηπίων με βρογχιολίτιδα θα εμφανίσουν αργότερα άσθμα, στην παιδική τους ηλικία. Η συχνότητα στα υπόλοιπα παιδιά είναι μόνο 3 – 10%³.

4. Πρόσφατα βρέθηκε ότι στα ρινοφαρυγγικά εκκρίματα του ρινοφάρυγγα βρεφών με λοίμωξη από ιό του αναπνευστικού συγκύτιου που συνοδεύεται από συριγμό, υπάρχει ειδική ανοσοσφαιρίνη E (IgE) που στρέφεται ενάντια σ' αυτό τον ιό. Αντίθετα, σε βρέφη με λοίμωξη του αναπνευστικού από τον ίδιο ιό και που δεν συνοδεύεται από συριγμό, δεν υπάρχουν αυτές οι ανοσοσφαιρίνες E ή υπάρχουν σε πολύ χαμηλό τίτλο⁴.



5. Από όλα τα βρέφη με λοίμωξη του αναπνευστικού οφειλόμενη στον ιό του αναπνευστικού συγκύτιου μόνο 1:50 ή 1:100 εμφανίζουν συριγμό².

Είναι γνωστό από παλιά, ότι λοιμώξεις, ιδίως με ιούς, που όπως είναι γνωστό διεγείρουν την παραγωγή Ιντερφερόνης (Interferon, IFN) από τα κύτταρα του οργανισμού, προκαλούν κρίσεις άσθματος σε ασθματικούς⁵. Επίσης έχει βρεθεί *in vitro* ότι η IFN αυξάνει τη μέσω IgE έκλυση ισταμίνης και τη χημειοταξία των βασεόφιλων του αίματος⁶. Επειδή στη βρογχολίτιδα υπάρχει πάντα βρογχόσπασμος κι επειδή πρόκειται για μία ίωση που οφείλεται σε ιούς οι οποίοι είναι ισχυροί διεγέρτες παραγωγής IFN — μιάς ουσίας που, όπως αναφέρθηκε, καλύπτει και τα δύο σκέλη της βρογχολίτιδας, τόσο το ιϊκό όσο και το ανοσολογικό — προσπαθήσαμε να βρούμε 1) αν κυκλοφορεί IFN στον ορό του αίματος βρεφών με βρογχολίτιδα και τον πιθανό ρόλο της στην παθογένεια της νόσου. 2) την αιτιολογία της βρογχολίτιδας στην Ελλάδα με ορολογικές μεθόδους και 3) να συγκρίνουμε τη συγκέντρωση της ανοσοσφαιρίνης E (IgE) του ορού στα παιδιά με βρογχολίτιδα, μ' εκείνη των φυσιολογικών παιδιών.

Η εργασία αυτή έγινε στο Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας των ΗΠΑ κάτω από την επίβλεψη του καθηγητή Χ.Μ. Μουτσόπουλου και του Δρ. J.J. Hooks, των οποίων τη συμπαράσταση και βοήθεια εκτιμώ βαθύτατα.

Τον καθηγητή Π. Λαπατσάνη ευχαριστώ θερμά για τις υποδείξεις του και την ενθάρρυνσή του γι' αυτή την εργασία.

Την Δρ. Αντιγόνη Σιαμοπούλου που είχε την ευθύνη για τη λήψη του ιστορικού, την κλινική διάγνωση και την συλλογή των ορών ευχαριστώ θερμότατα.

Στη μικροβιολόγο Shirley Geis οφείλω την εκμάθηση των τεχνικών και την ευχαριστώ θερμά. Επίσης ευχαριστώ τον Δρ. W. Hook για τον προσδιορισμό των ανοσοσφαιρινών E.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στη φιλόλογο Μαρία Πέττα που είχε την γλωσσική επιμέλεια και στις Ευαγγελία Παπανικολάου και Ελένη Παππά για τη δακτυλογράφηση του κειμένου.



II. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



Α. ΒΡΟΓΧΙΟΛΙΤΙΔΑ

Οι οξείες λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος στα βρέφη και στα παιδιά χωρίζονται σε λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος (κοινό κρυολόγημα, φαρυγγίτιδα, ωτίτιδα), του μέσου («κρούπ», επιγλωτίτιδα) και του κατώτερου (βρογχίτιδα, βρογχιολίτιδα, πνευμονία). Ο χωρισμός αυτός, αν και αυθαίρετος, είναι εξαιρετικά χρήσιμος στην καθημερινή κλινική πράξη¹.

Η πιο συχνή λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος στα βρέφη και στα νήπια είναι η βρογχιολίτιδα. Αν και η θνησιμότητά της είναι πολύ μικρή, μπορεί να πάρει επιδημική μορφή και να προκαλέσει βαριά νόσο. Επιπλέον, οι μακροχρόνιες επιπλοκές της και η σχέση της με το άσθμα είναι σχετικά άγνωστες².

Ι. αιτιολογία

Το κύριο παθογόνο αίτιο της βρογχιολίτιδας είναι ο ιός του αναπνευστικού συγκύτιου. (ιός του Α.Σ. Respiratory Syncytial Virus, R.S.V) Είναι το κύριο παθογόνο αίτιο και μπορεί να καλλιεργηθεί ή να ανιχνευθεί με ανοσοφθορισμό στα ρινοφαρυγγικά εκκρίματα στο 70 – 75% των περιπτώσεων⁷. Εκτός από τον ιό του Α.Σ. έχουν βρεθεί και άλλοι ιοί, όπως αδενοϊοί (τύποι 7,3 και 21), ρινοϊοί, ιός της παραγρίπης (ιδίως ο τύπος 3) και λιγότερο συχνά ο ιός της παρωτίτιδας και ο ιός της γρίπης. Σπανίως ο ιός της παραγρίπης, μπορεί να προκαλέσει πολύ βαριά νόσο ακόμη και θάνατο. Επίσης είναι δυνατό, μερικές φορές, το μυκόπλασμα της πνευμονίας να προκαλέσει βρογχιολίτιδα στα βρέφη. Όλοι οι παραπάνω παθογόνοι μικροοργανισμοί (εκτός του ιού του Α.Σ) είναι υπεύθυνοι για το 7% περίπου των περιπτώσεων βρογχιολίτιδας⁸.



Ο ιός του αναπνευστικού συγκύτιου: Ανήκει στην ομάδα των παραμυξοϊών η οποία περιλαμβάνει επίσης τους ιούς της παραϊνφλουέντζας, της παρωτίδας και της ιλαράς. Αποτελείται από RNA με συμμετρική μονή έλικα, από ένα άμορφο λιποειδές περίβλημα (envelope) και ακανθωτές προεξοχές που περιέχουν γλυκοπρωτεΐνη. Δεν περιέχει νευραμινιδάση. Βρίσκεται σε σφαιρικές μορφές διαμέτρου 90 – 130 nm και είναι εξαιρετικά ευαίσθητος στη θερμοκρασία, πράγμα που δημιουργεί προβλήματα στην απομόνωσή του. Καλλιεργείται σε κύτταρα HeLa και σε ανθρώπινους ινοβλάστες από έμβρυο. Πολλαπλασιάζεται εκβλαστώνοντας από την κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου (Σχήμα 1). Τα προσβλημένα κύτταρα σχηματίζουν συγκύτια (απ' όπου προέρχεται και η ονομασία τους) (Σχήμα 2). Η παρουσία αντισωμάτων κατά του ιού του Α.Σ. στις κυτταροκαλλιέργειες δεν αναστέλλει την προσβολή των κυττάρων. Αυτό παρουσιάζει ενδιαφέρον, γιατί τα βρέφη προσβάλλονται από τον ιό, παρόλο που έχουν στον ορό τους ψηλούς τίτλους αντισωμάτων κατά του ιού μητρικής προέλευσης⁹.

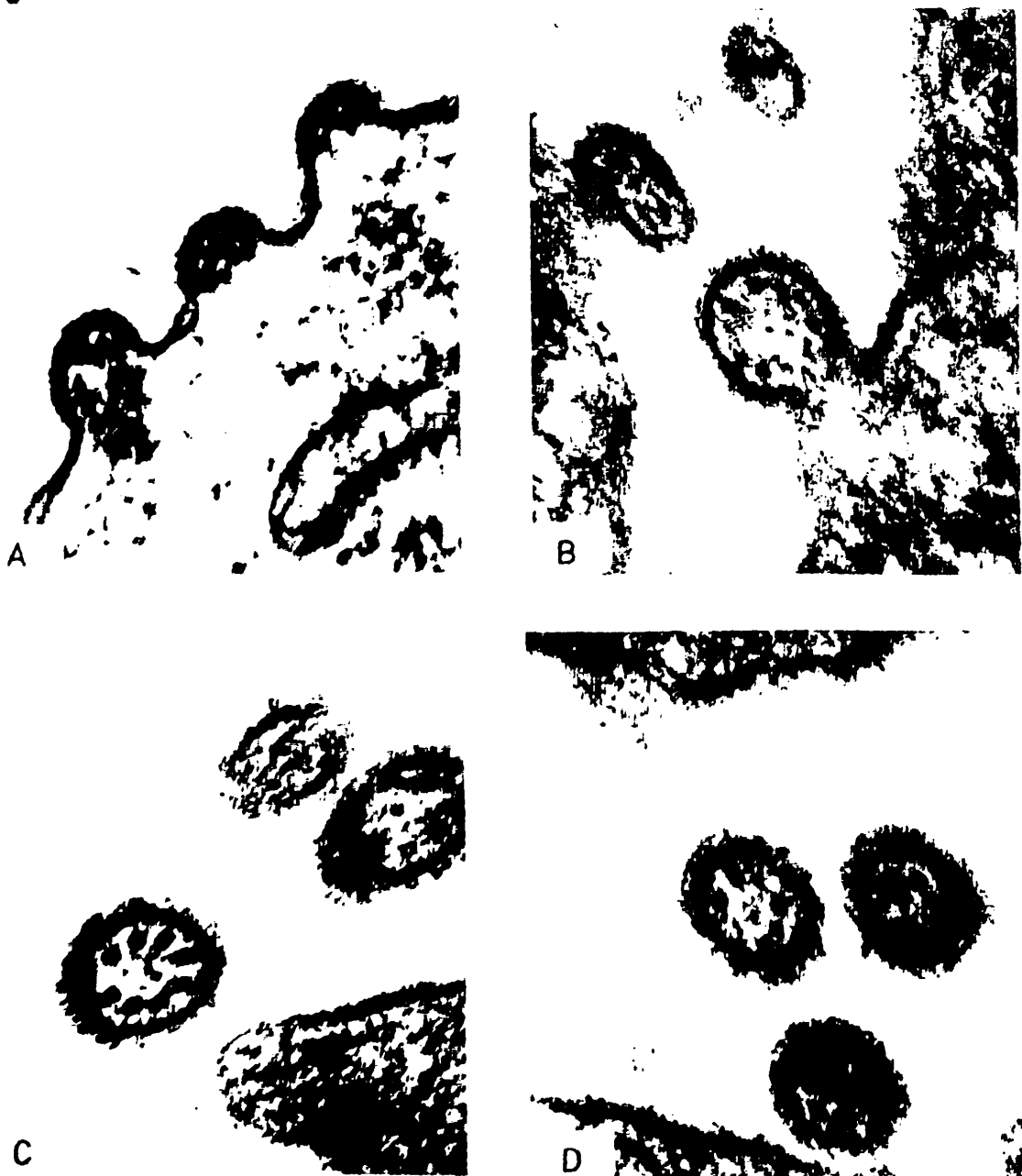
Σε κάθε λοίμωξη με ιό του Α.Σ. ανευρίσκονται στον ορό εξουδετερωτικά αντισώματα και αντισώματα που προκαλούν σύνδεση του συμπληρώματος. Στα ρινικά εκκρίματα των αρρώστων, στην οξεία φάση της νόσου, ανευρίσκονται συχνά εξουδετερωτικά αντισώματα της κλάσης των IgA⁹.

Οι αδενοϊοί: Είναι το δεύτερο σε συχνότητα παθογόνο αίτιο στη βρογχιολίτιδα. Είναι D.N.A. ιοί διαμέτρου 70 – 90 nm, χωρίς περίβλημα. Το καψίδιο τους είναι εικοσαεδρικό κι' αποτελείται από 252 καζομερίδια (Σχήμα 3).

Πρόκειται για σχετικά σταθερούς ιούς που διατηρούν τη λοιμογόνο ικανότητά τους και μετά την έκθεσή τους στον αιθέρα και το χλωροφόρμιο. Μέχρι σήμερα, στον άνθρωπο έχουν απομονωθεί 4 διαφορετικοί ορότυποι που έχουν όμως ένα κοινό αντιγόνο ομάδας ενάντια στο οποίο στρέφονται αντισώματα που συνδέουν το συμπλήρωμα⁹.

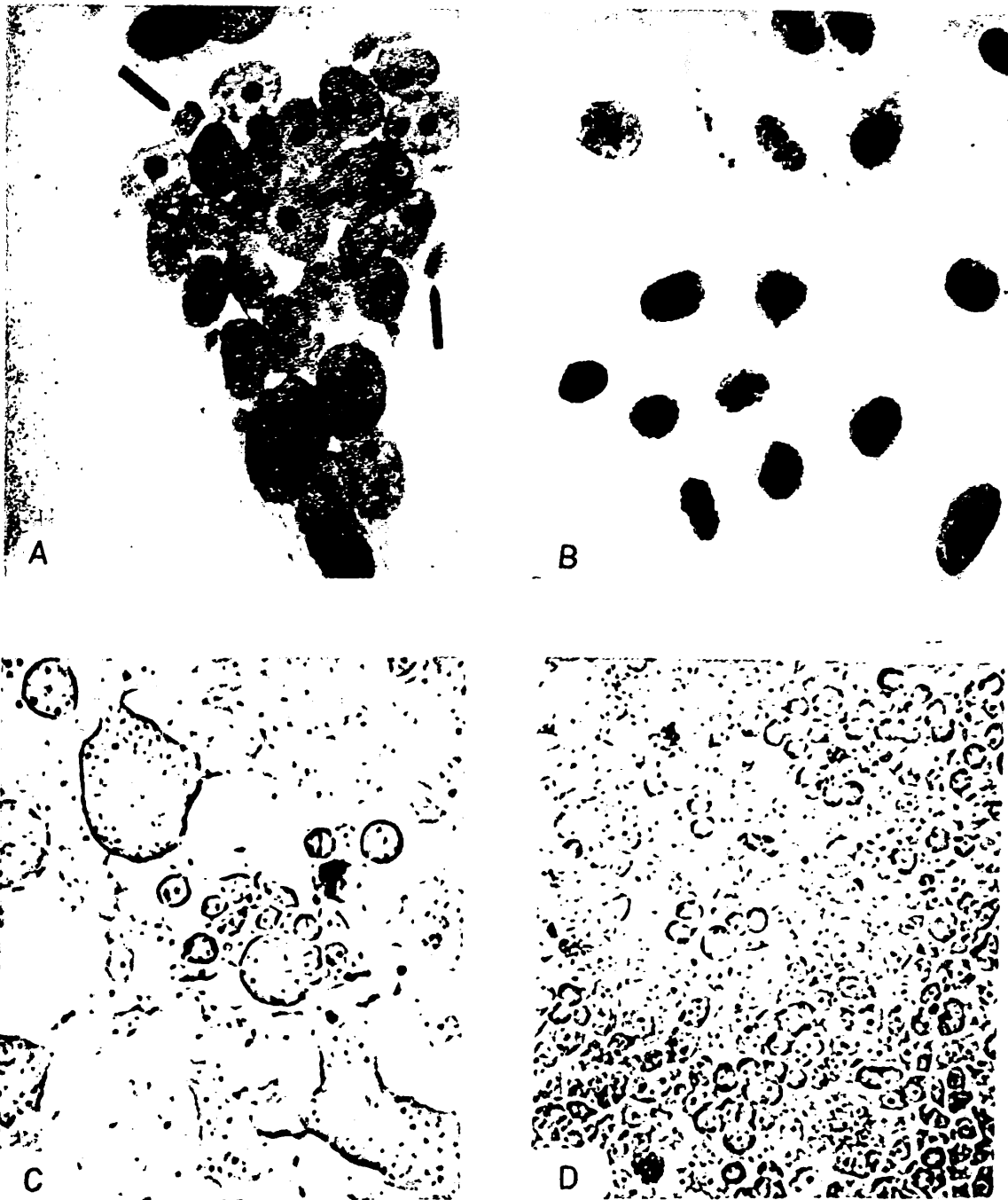
Η ανοσία στους αδενοϊούς διαρκεί για μεγάλο χρονικό διάστημα και είναι ειδική για τον κάθε ορότυπο. Στηρίζεται κυρίως σε



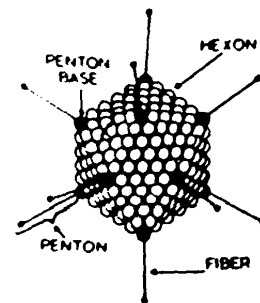
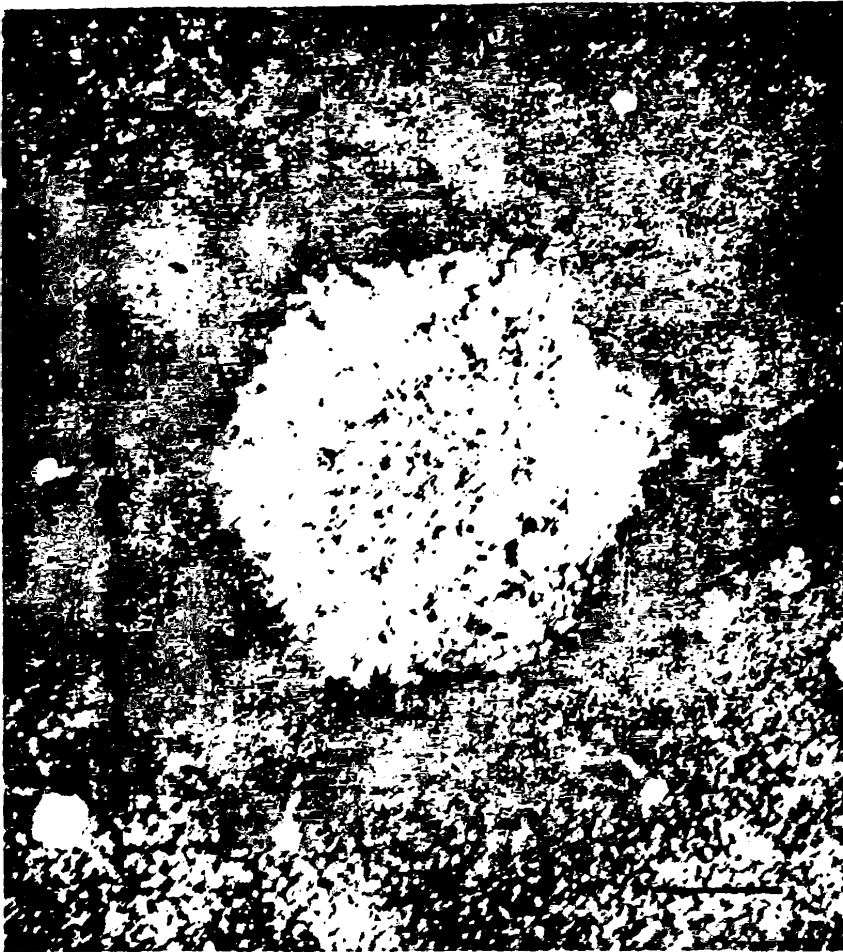


Σχήμα 1: Ωρίμανση και απελευθέρωση ενός σωματιδίου ιού RSV σε κύτταρα BS-C-1 (A) Προβολή των βιρίων που ωριμάζουν μέσω ειδικών περιοχών μεμβράνης των κυττάρων (B). Το σωματίδιο του ιού σχεδόν έτοιμο να αποχωριστεί από την κυτταρική μεμβράνη (C). Ένα ώριμο πιά σωματίδιο ιού που μόλις απελευθερώθηκε (D). Νέα σωματίδια ιού στον μεσοκυττάριο χώρο, (X100) Dr. J. Joncas, Armand Frappier Institute, Montreal, Quebec.





Σχήμα 2: Η κυτταροπαθολογία καλλιιεργειών κυττάρων προσβλημένων με ιό RSV. (A) Κύτταρα BS-C-1, 72 ώρες μετά την προσβολή· σχηματισμός συγκυτίων και ενδοκυτταροπλασματικών εγκλείστων (βέλη). (B). Φυσιολογικά BS-Ψ-1 κύτταρα μετά επώαση για 72 ώρες για σύγκριση (A και B X 370) (C) κύτταρα HEp-2 120 ώρες μετά μόλυνσή τους με το RSV (D) Φυσιολογικά HEp-2 κύτταρα μετά επώαση 120 ώρες για σύγκριση (C και D, X 290) (Lennette EH και Schmidt NJ, 1969).



Σχήμα 3: Ηλεκτρονική φωτογραφία και σχεδιάγραμμα του αδενοϊού τύπου 5 (η πάυλα = 25 nm) που δείχνει τις ίνες (Fibers) που προβάλλουν από τις γωνίες του εικοσαέδρου (Valentine and Pereira, 1965).

κυκλοφορούντα αντισώματα, παρά σε τοπικά αντισώματα όπως είναι οι IgA.

Από επιδημιολογική άποψη, οι αδενοϊοί είναι υπεύθυνοι για το 4 – 5% των λοιμώξεων της παιδικής ηλικίας ενώ για τους ενήλικες το αντίστοιχο ποσοστό είναι 3%. Σε μια μελέτη που περιλάμβανε 18.000 νεογνά και παιδιά, τα 10% των πνευμονιών και τα 5% των βρογχίτιδων οφείλονταν σε αδενοϊούς⁹.

Η διάγνωση των λοιμώξεων με αδενοϊούς είναι αρκετά δύ-



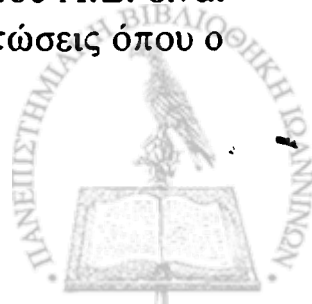
σκολη, επειδή τείνουν να προκαλούν ασυμπτωματικές λοιμώξεις σε ποσοστό μέχρι και 50%. Η εργαστηριακή διάγνωση γίνεται με απομόνωση του ιού, σε καλλιέργειες ανθρώπινων νεοπλαστικών κυττάρων (Hela, HEp2, KB), με ανίχνευση στο αίμα αντισωμάτων που συνδέουν το συμπλήρωμα ή με αιμοσυγκόλληση⁹.

II. επιδημιολογία

Η επιδημιολογία των λοιμώξεων που οφείλονται σε ιό του Α.Σ. είναι πολύ χαρακτηριστική. Δεν υπάρχει άλλος αναπνευστικός ιός που να προκαλεί τόσο εκτεταμένες ετήσιες επιδημίες. Οι επιδημίες αυτές προσβάλλουν κυρίως βρέφη μικρότερα από 6 μηνών και διαρκούν περίπου 5 μήνες. Η μεγαλύτερη συχνότητά τους παρατηρείται κυρίως από το Νοέμβριο μέχρι το Μάρτιο. Στη διάρκεια αυτών των μηνών ο αριθμός των εισαγωγών στο Νοσοκομείο για αναπνευστικά προβλήματα αυξάνει σημαντικά².

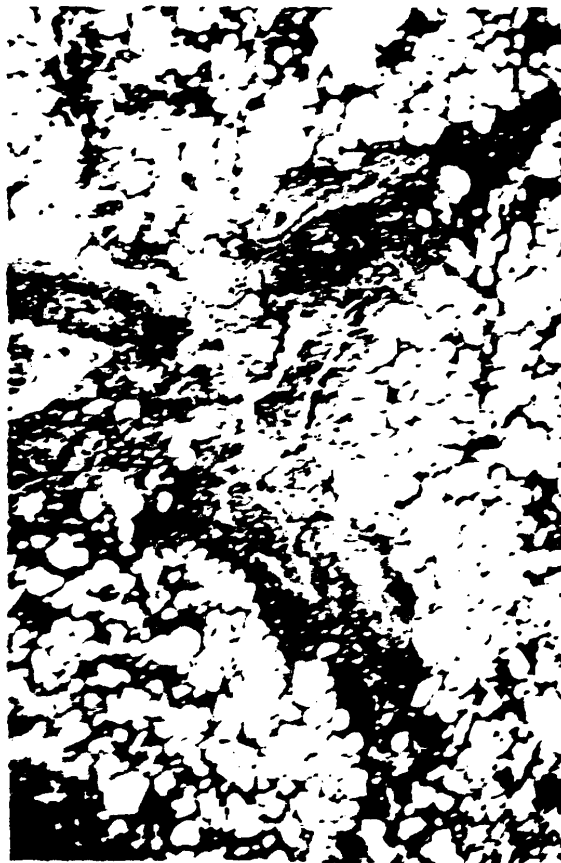
Ο ιός κυρίως μεταφέρεται στην οικογένεια από τα μεγαλύτερα αδέρφια¹⁰. Από τη στιγμή που μολύνονται τα βρέφη διασπείρουν τον ιό στο περιβάλλον για μεγάλο χρονικό διάστημα μέχρι και 21 ημέρες (μέσος όρος 6 – 7 μέρες)⁸. Επίσης ο ιός είναι πολύ μεταδοτικός και στο Νοσοκομείο. Περίπου 1:50 ως 1:100 βρέφη έχουν νόσο που απαιτεί εισαγωγή στο Νοσοκομείο. Η πιθανότητα για βαριά νόσο του κατώτερου αναπνευστικού στη διάρκεια της λοίμωξης είναι 3 – 4 φορές μεγαλύτερη στην ηλικία των 1 – 3 μηνών απ' ό,τι στην ηλικία των 8 – 12 μηνών. Κλινικές παρατηρήσεις δείχνουν ότι η συχνότητα της βρογχολίτιδας σε βρέφη μικρότερα από 2 μηνών είναι σημαντικά κατώτερη από εκείνη βρεφών μεγαλύτερων από 2 μηνών⁸. Πρόσφατα δεδομένα⁸ ανεβάζουν τον αριθμό των εισαγωγών στο Νοσοκομείο, βρεφών με βρογχολίτιδα σε 13, για μια πόλη 100.000 και 127 για πόλη 1.000.000 κατοίκων. Οι αγροτικές περιοχές και τα προάστια παρουσιάζουν λιγότερο βαριές περιπτώσεις βρογχολίτιδας⁸.

Εκτός από τις επιδημικές μορφές, όπου ο ιός του Α.Σ. είναι το κύριο αίτιο, παρατηρούνται και σποραδικές περιπτώσεις όπου ο ιός του Α.Σ. έχει δευτερεύουσα σημασία^{11,12}.



III. Παθολογοανατομικά ευρήματα

Χρονικά η πρώτη βλάβη στη βρογχιολίτιδα είναι η νέκρωση του αναπνευστικού επιθήλιου. Στη συνέχεια, ακολουθεί πολλαπλασιασμός των κυττάρων του επιθήλιου που είναι επίπεδα ή κυβοειδή και δεν έχουν κροσσούς, όπως τα φυσιολογικά. Αυτή η απώλεια των κροσσών δημιουργεί προβλήματα στην απομάκρυνση των εκκρίσεων που είναι αυξημένες. Έτσι, μέσα στους βρόγχους και τα βρογγιόλια, σχηματίζονται παχύρευστα βύσματα από κυψελιδικά συντρίμματα και ινική, αποφράζοντάς τους μερικά ή ολικά. Στο διάμεσο ιστό παρατηρείται δτήθηση με λεμφοκύτταρα και οίδημα^{1,3} (Σχήμα 4).



Σχήμα 4: Βρογχιολίτιδα: Φλεγμονώδεις βλάβες γύρω από τους αεραγωγούς και απόφραξη των βρογγιολίων από κύτταρα και συντρίμματα ιστών. Οι κυψελίδες δεν προσβάλλονται (Dr. B. C. Hall and Dr. W. J. Hall).



Η αποκατάσταση των βλαβών γίνεται αργά με αναγέννηση των βασικών στιβάδων σε 3 – 4 μέρες μετά τη νόσο. Η αναγέννηση των κροσσών γίνεται σε 15 ημέρες περίπου⁸.

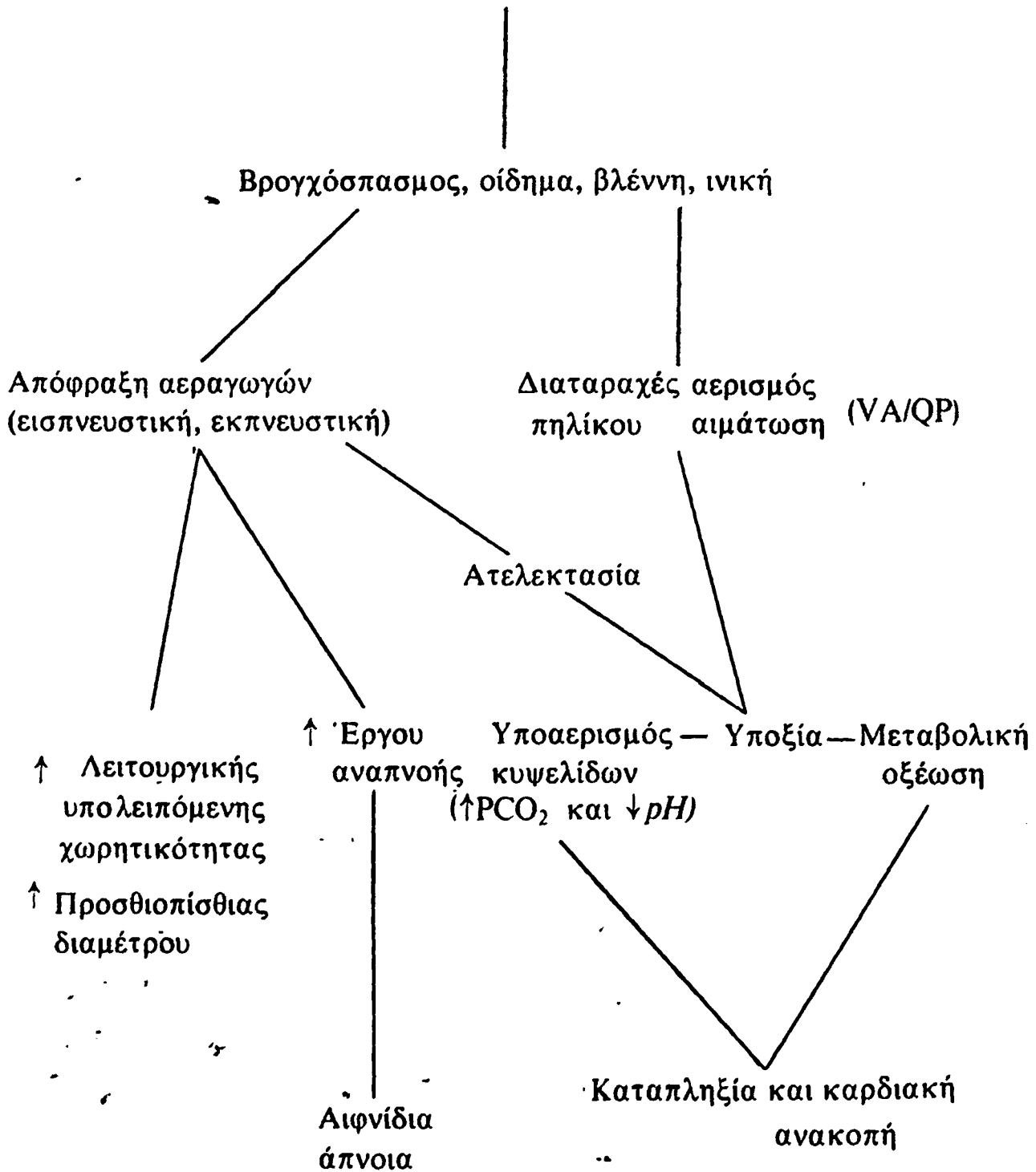
IV Παθοφυσιολογία

Η λοίμωξης του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος προκαλεί βρογχόσπασμο και οίδημα. Τα κυψελιδικά συντρίματα, η βλέννη και η ινική που παράγονται, αποφράζουν τις αεροφόρες οδούς κατά τη διάρκεια της εισπνοής και της εκπνοής. Αν η απόφραξη είναι πλήρης εμφανίζονται ατελεκτασίες. Η απόφραξη των αεροφόρων οδών προκαλεί διαταραχή του πηλίκου αερισμός/αιμάτωση στις κυψελίδες με τελικό αποτέλεσμα την υποξία. Όταν η υποξία είναι σοβαρή μπορεί να προκαλέσει καταπληξία (shock) και καρδιακή ανακοπή. Η απόφραξη των αεροφόρων οδών (που είναι κυρίως εκπνευστική) προκαλεί αύξηση της λειτουργικής υπολειπόμενης χωρητικότητας, αύξηση της προσθιοπίσθιας διαμέτρου και υπεραερισμό των πνευμόνων. Επίσης αυξάνει το έργο της αναπνοής και μπορεί να προκαλέσει αιφνίδια άπνοια από υπερκόπωση των αναπνευστικών μυών.

Η παθοφυσιολογία της βρογχολίτιδας συνοψίζεται στο παρακάτω διάγραμμα⁸:



ΛΟΙΜΩΞΗ ΜΕ ΙΟ + ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ



V. Παθογένεια

Για πρώτη φορά το 1969, άρχισε να συζητιέται εκτός από τους ιούς και ο ρόλος ανοσολογικών μηχανισμών στην πρόκληση της βρογχιολίτιδας. Αφορμή γι' αυτό έδωσε ο εμβολιασμός παιδιών με εμβόλιο νεκρού ιού αναπνευστικού συγκύτιου. Όταν αυτά τα παιδιά έπαθαν φυσική μόλυνση από τον ιό, εμφάνισαν πολύ βαριά εικόνα βρογχιολίτιδας και μάλιστα μερικά απ' αυτά πέθαναν. Ορϋολογικές εξετάσεις έδειξαν ότι είχαν ψηλούς τίτλους εξουδετερωτικών αντισωμάτων και αντισωμάτων που συνδέουν το συμπλήρωμα, όπως επίσης και στοιχεία κυτταρικής ανοσίας έναντι του ιού του Α.Σ. (Το τελευταίο με την τεχνική της μικτής λεμφοκυτταρικής αντίδρασης)¹⁴. Το σημαντικό στοιχείο του εμβολίου του ιού του Α.Σ., είναι ότι για πρώτη φορά συμβαίνει νόσος παρόμοια με τη φυσική, σαν παρενέργεια εμβολίου με νεκρό ιό, σ' αντίθεση με την ιλαρά λχ. όπου η νόσος μετά το εμβόλιό της δεν έχει καμιά σχέση μ' αυτή.

Η εμπειρία του εμβολίου του ιού του Α.Σ. σε συνδυασμό με την παρατήρηση, ότι βρέφη με βρογχιολίτιδα έχουν μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης άσθματος (τα ποσοστά είναι 30% για τα παιδιά με βρογχιολίτιδα και 3 - 10% για τα παιδιά χωρίς αυτή) δεν άφησε πια περιθώριο για αμφιβολίες ότι στην παθογένεια της βρογχιολίτιδας επεισέρχονται και ανοσολογικοί παράγοντες³. Οι πιο σημαντικές εργασίες που έγιναν προς αυτή την κατεύθυνση αναφέρονται συνοπτικά παρακάτω:

1) Οι Welliver και συν¹⁵ βρήκαν ότι βρέφη με βρογχιολίτιδα από ιό του Α.Σ. είχαν στατιστικά σημαντικά ($p < 0,01$) αυξημένη κυτταρική ανοσία συγκριτικά με ασθενείς που είχαν πνευμονία ή νόσο του ανώτερου αναπνευστικού που οφείλονταν σε ιό του Α.Σ.

2) Δύο χρόνια αργότερα οι Welliver και συν. βρήκαν ότι στα ρινικά εκκρίματα παιδιών με βρογχιολίτιδα, υπάρχουν ειδικά αντισώματα της τάξης E (IgE) κατά του ιού του Α.Σ. κι ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του τίτλου τους και της σοβαρότητας της νόσου⁴.

Εκτός από τους ανοσολογικούς φαίνεται ότι και ανατομικοί παράγοντες επεισέρχονται στην παθογένεια της βρογχιολίτιδας. Έ-



τσι οι Hogg και συν.⁷⁰ έδειξαν ότι οι περιφερικές αεροφόρες οδοί στα βρέφη, είναι δυσανάλογα στενές, συγκριτικά των ενηλίκων. Επομένως, κάθε ανωμαλία στο ύψος των μικρών αεραγωγών (βρόγχοι 3ης και 4ης τάξης και βρογχιόλια) όπως λ.χ. οίδημα, βύσματα από ινική και νεκρά επιθηλιακά κύτταρα ή βρογχόσπασμος, αυξάνε κατά πολύ περισσότερο τις αντιστάσεις στο δίοδο του αέρα στα βρέφη, σε σχέση με τους ενήλικες. Τέλος, οι πόροι του Κοην είναι μικρότεροι σε αριθμό και μέγεθος στο βρεφικό πνεύμονα και γι' αυτό αναπτύσσονται ευκολότερα γραμμοειδείς ατελεκτασίες¹⁶.

VI. Κ λ ι ν ι κ ή Ε ι κ ό ν α

Μετά την περίοδο της επώασης που διαρκεί 4 – 5 μέρες εμφανίζονται καταρροϊκά συμπτώματα που συνοδεύονται, μερικές φορές, από ανορεξία. Σε λίγες μέρες (1 – 2) το παιδί αρχίζει να βήχει και συνήθως εμφανίζει πυρετό, (μέχρι 38,5° – 39° C). Καθώς ο βήχας χειροτερεύει, εμφανίζεται συριγμός και αναπνευστική δυσχέρεια που, όταν είναι μεγάλη, εκδηλώνεται με εισολκή των μεσοπλευρίων διαστημάτων, αναπέταση των πτερυγίων της μύτης και διαλείπουσα κυάνωση. Στην ακρόαση των πνευμόνων υπάρχουν διάσπαρτοι υγροί κι εκπνευστικοί ξηροί ρόγχοι, μείωση των ήχων της αναπνοής και παράταση της εκπνοής. Ακόμα υπάρχει υπεραερισμός των πνευμόνων από την παγίδευση του αέρα με αύξηση της προσθιοπίσθιας διαμέτρου του θώρακα και κατάσπαση των διαφραγμάτων που προκαλεί μετατόπιση του χείλους του ήπατος κάτω από το δεξιό πλευρικό τόξο. Σ' αυτή την περίπτωση, το εύκολα ψηλαφητό ήπαρ δεν πρέπει να συγχέεται με το ήπαρ της καρδιακής ανεπάρκειας που πολύ σπάνια συμβαίνει στη βρογχιολίτιδα¹⁷. Μερικά βρέφη με λοίμωξη από ιό του Α.Σ μπορεί να εμφανίσουν νωρίς στην πορεία της νόσου απνοϊκά επεισόδια και χρειάζονται αναπνευστήρα. Σ' αυτά τα βρέφη τα ευρήματα βρογχιολίτιδας είτε συνυπάρχουν με τα επεισόδια άπνοιας είτε εμφανίζονται αργότερα^{18, 20}.

Τα σοβαρά συμπτώματα της βρογχιολίτιδας συνεχίζονται για 2 – 3 μέρες μετά η θερμοκρασία πέφτει στους 37.5 – 38° C και σταδιακά γίνεται φυσιολογική. Ο μέσος χρόνος νοσηλείας στο νοσοκομείο είναι 4 – 6 μέρες.



VII. Εργαστηριακά ευρήματα.

Ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων είναι συνήθως φυσιολογικός και βοηθά στη διαφορική διάγνωση από τον κοκκύτη και την πνευμονία. Σε αλλεργικά βρέφη μπορεί να υπάρχει ηωσινοφιλία στο περιφερικό αίμα ή στο ρινικό έκκριμα. Όταν το παθογόνο αίτιο είναι ο ιός του Α.Σ, ανιχνεύεται στο ρινικό έκκριμα με ανοσοφθορίζουσα χρώση. Ο ιός του Α.Σ και οι αδenoϊοί, μπορούν να διαγνωσθούν ορολογικά με αντισώματα που συνδέουν το συμπλήρωμα.

VIII. Ακτινολογικά ευρήματα

Τα ευρήματα στην ακτινογραφία θώρακα δεν είναι ειδικά και περιλαμβάνουν υπεραερισμό (κατάσπαση των ημιδιαφραγμάτων και αυξημένη διαφάνεια στα πνευμονικά πεδία), πολύ αχνά πνευμονικά διηθήματα κι επίταση της βρογχοαγγειακής σκιάς^{21, 22} (Σχήμα 5).

IX. Διαφορική διάγνωση Επιπλοκές

Στα νεογνά είναι δύσκολο ή αδύνατο να διαφορογνωστεί η βρογχιολίτιδα από τη βρογχοπνευμονία. Συνήθως όμως, η βρογχοπνευμονία έχει ψηλό πυρετό και λευκοκυττάρωση. Η διαφορική διάγνωση από τον κοκκύτη στηρίζεται στον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων ο οποίος σχεδόν πάντα στον κοκκύτη είναι μεγαλύτερος από 15.000/ml με λεμφοκυτταρικό τύπο ενώ στη βρογχιολίτιδα πολύ σπάνια συμβαίνει αυτό¹⁸.

Η διαφορική διάγνωση της βρογχιολίτιδας από το άσθμα, αν και το τελευταίο σε βρέφη ηλικίας μικρότερης από 9 – 12 μηνών είναι πολύ σπάνια, μπορεί να είναι πολύ δύσκολη στο πρώτο επεισόδιο. Θετικό οικογενειακό ιστορικό αλλεργίας, ιστορικό προηγούμενων επεισοδίων με βρογχόσπασμο, ηωσινοφιλία στο ρινικό έκκριμα ή το περιφερικό αίμα και άμεση απόκριση στα βρογχοδιασταλτικά, είναι στοιχεία που συνηγορούν υπέρ του άσθματος¹⁸.





*Σχήμα 5: Προσθιοπίσθια και πλάγια ακτινογραφία θώρακα σε παιδί 6 μηνών χιολίτιδα από αδενοϊό. Να σημειωθεί ο υπεραερισμός των πνευμόνων, το δι-
ου δεξιού άνω λοβού και η μερική ατελεστασία του δεξιού άνω λοβού. Μια
ι αργότερα, εμφανίστηκε πλήρης ατελεκτασία του δεξιού άνω λοβού.*



Βαριές μορφές βρογχολίτιδας συγχέονται καμιά φορά με καρδιακή ανεπάρκεια. Καθυστέρηση στην αύξηση, καρδιομεγαλία (σπάνια στη βρογχολίτιδα) και φουσήματα είναι ενδεικτικά καρδιακής νόσου.

Η κύρια επιλογή της βρογχολίτιδας είναι η δευτεροπαθής βακτηριακή επιμόλυνση. Λιγότερο συχνά συμβαίνουν πνευμοθώρακας, εμφύσημα, άπνοια και αναπνευστική ανεπάρκεια. Η καρδιακή ανεπάρκεια είναι πολύ σπάνια¹⁸.

Χ. Θεραπεία - Πρόγνωση

Ένδειξη για εισαγωγή στο νοσοκομείο είναι αν το βρέφος έχει ένα από τα παρακάτω κριτήρια:

1. Ηλικία μικρότερη από 2 μήνες.
2. Κυάνωση ή άπνοια, ή ιστορικό κυάνωσης ή άπνοιας
3. Ιστορικό προηγούμενου σοβαρού επεισόδου βρογχολίτιδας.
4. Αναπνοές περισσότερες από 60/min.
5. Αρτηριακή PCO_2 μεγαλύτερη από 45 mm Hg σε αέρα δωματίου.
- ή 6. Αρτηριακή PO_2 μικρότερο από 60 mm Hg σε αέρα δωματίου.

Επειδή τα βρέφη που εισάγονται με βρογχολίτιδα για κάποιον από τους παραπάνω λόγους είναι υποξαιμικά, είναι σημαντικό να μετριοούνται τα αέρια αίματος σε τακτά χρονικά διαστήματα. Ο εισπνεόμενος αέρας θα πρέπει να είναι υγραποποιημένος κι εμπλουτισμένος με αρκετό οξυγόνο έτσι ώστε η αρτηριακή PO_2 να κρατιέται σε επίπεδα μεγαλύτερα από 60 mm Hg. Συνήθως, τα βρέφη είναι αφυδατωμένα από την ταχύπνοια και την αδυναμία πρόσληψης υγρών, γι' αυτό θα πρέπει να ενυδατώνονται προσεκτικά επειδή υπάρχει ο φόβος πνευμονικού οιδήματος που θα επιδεινώνει ακόμα περισσότερο την αναπνευστική δυσχέρεια¹⁸.

Επειδή υπάρχει η πιθανότητα να ευθύνονται και αλλεργικοί μηχανισμοί για την απόφραξη των αεροφόρων οδών, σε μερικά βρέ-



φη με βρογχιολίτιδα, επινεφρίνη σε διάλυση 1:1.000 σε δόση 0,01 ml/kg υποδόρια ή άλλες εισπνεόμενες κατεχολαμίνες με ή χωρίς θεοφυλλίνη σε δόση 2 – 4 mg/kg από το στόμα κάθε 6 – 8 ώρες, βελτιώνουν την κατάσταση.

Χορήγηση αντιβιοτικών ενδείκνυται στις βαριές περιπτώσεις βρογχιολίτιδας και σ' αυτές που υπάρχει υποψία για ενδεχόμενη βακτηριακή επιμόλυνση. Ο ψηλός πυρετός, οι μεγάλες πνευμονικές διηθήσεις στην ακτινογραφία θώρακα, ή σημαντική αύξηση του αριθμού των λευκών με στροφή προς τ' αριστερά, η αναπνευστική ανεπάρκεια ή οι θετικές καλλιέργειες για βακτηρίδια είναι ενδείξεις για παρεντερική χορήγηση αντιβιοτικών¹⁸.

Σε βρέφη που εμφανίζουν αναπνευστική ανεπάρκεια θα πρέπει να γίνει διασωλήνωση της τραχείας και μηχανικός αερισμός. Οι κυριότερες ενδείξεις για τη χρήση αναπνευστήρα είναι η άπνοια, η αναπνευστική οξέωση με $pH < 7,25$ και $PO_2 < 60$ mm Hg με $F_1O_2 \geq 0,8 - 1,0$ ^{18,19}.

Δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι η χορήγηση κορτικοστεροειδών επιδρά στην πορεία της νόσου και γι' αυτό είναι καλό να μη χρησιμοποιούνται. Τα ηρεμιστικά θα πρέπει να αποφεύγονται εκτός αν ο άρρωστος είναι διασωληνομένος και βρίσκεται σε αναπνευστήρα¹⁸.

ΧΙΙ. Πρόγνωση

Το οξύ στάδιο της βρογχιολίτιδας συνήθως διαρκεί 2 – 7 μέρες. Η πρόγνωση είναι πολύ καλή. Πολύ λιγότερο από 1% των βρεφών με βρογχιολίτιδα πεθαίνουν από αναπνευστική ανεπάρκεια. Περίπου 50% από τα βρέφη με βρογχιολίτιδα θα εμφανίσουν και άλλο επεισόδιο βρογχόσπασμου με συριγμό²³. Τριάντα στα εκατό (30%) περίπου απ' αυτά τα βρέφη θα εμφανίσουν αργότερα αλλεργικό άσθμα²³. - ²⁵. Πολλά από τα βρέφη με βρογχιολίτιδα που δεν έχουν κανένα πρόβλημα από το αναπνευστικό σύστημα στα επόμενα χρόνια, αν υποβληθούν σε πνευμονικές δοκιμασίες 10 χρόνια μετά, παρουσιάζουν παθολογικές μετρήσεις στη σπειρομέτρηση²⁷. - ²⁹.



B. Η ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΗ

Σύμφωνα με τον ορισμό ότι, ορμόνες είναι ουσίες που μεταφέρουν πληροφορίες από ένα κύτταρο, σ' ένα άλλο, ίσως ο πιο κάλός ορισμός που μπορεί να δοθεί σήμερα για την ιντερφερόνη (IFN) είναι: «Ιντερφερόνη είναι μια παρακρινική ορμόνη της ταξης των γλυκοπρωτεϊνών». Σαν τέτοια, έχει όλα τα κοινά χαρακτηριστικά των πεπτιδικών ορμονών, δηλ.:

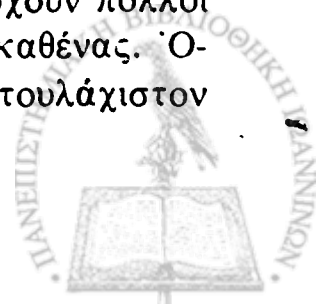
1. Δρα στην κυτταρική μεμβράνη σε ειδικούς υποδοχείς που είναι πρωτείνες.
2. Δεν υπάρχουν στο πλάσμα δεσμευτικές πρωτείνες γι' αυτή.
3. Είναι υδρόφιλο μόριο και
4. Ο χρόνος ημίσειας ζωής είναι λίγα λεπτά.

Η IFN ανακαλύφθηκε από τους Isaacs και Lindenmann το 1957. Την περιέγραψαν σα «μια διαλυτή αντιϊκή γλυκοπρωτεΐνη που παράγεται από τα κύτταρα όταν αυτά μολυνθούν με ιούς³⁰. Από τότε πολλές ενδιαφέρουσες ιδιότητες της IFN ανακαλύφθηκαν που αναφέρονται στη συνέχεια.

I. Βιοχημεία – Τύποι

Η IFN είναι γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 10–50.000 daltons^{31a}. Αποτελείται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα στα πλάγια της οποίας συνδέονται ομοιοπολικά γαλακτόζες και σιαλικά οξέα. Η σύνδεση του σιαλικού οξέος γίνεται έμμεσα μέσω δεσμού με τη γαλακτόζη^{31a, 32}.

Οι φυσικές και χημικές ιδιότητες της IFN δεν είναι ομοίμορφες αλλά ποικίλουν. Αυτό οφείλεται στο ότι υπάρχουν πολλοί τύποι και υπότυποι IFN με διαφορετικές ιδιότητες ο καθένας. Όπως φαίνεται στον πίνακα I στον άνθρωπο υπάρχουν τουλάχιστον



τρεις τύποι IFN, α , β και γ . Οι IFN - α και - γ παράγονται από τα κύτταρα του Δ.Ε.Σ. Η IFN - α παράγεται από τα λευκά αιμοσφαίρια σαν απάντηση σε ιούς, βακτηριδιακά προϊόντα (τοξίνες κ.λπ.) πολυνουκλεοτίδια, καρκινικά και ξένα κύτταρα. Όταν τα ίδια ερεθίσματα επιδράσουν στους ινοβλάστες ή στα επιθηλιακά κύτταρα παράγεται IFN - β ^{33a}.

Η IFN - γ είναι μια λεμφοκίνη με μοριακό βάρος περίπου 50.000 που παράγεται από ευαισθητοποιημένα T - λεμφοκύτταρα όταν διεγείρονται με θυμοεξαρτώμενα αντιγόνα ή ανοσοσυμπλέγματα ή από μη ευαισθητοποιημένα λεμφοκύτταρα, όταν διεγείρονται με μιτογόνα ή αντιλεμφοκυτταρικά αντισώματα ^{33a, b, c}.

Και οι τρεις τύποι IFN έχουν διαφορετική αντιγονική σύσταση και η ταυτοποίησή τους γίνεται με βάση τη σταθερότητά τους σε $pH=2$ και με αντιορούς. Οι IFN - α και - β είναι σταθερές σε $pH=2$ ενώ η IFN - γ καταστρέφεται σ' αυτό το pH . Πάντως και οι τρεις τύποι έχουν ορισμένες κοινές ιδιότητες που είναι πολύ χρήσιμες στη διαδικασία ταυτοποίησης της IFN κατά τη μέτρησή της στα βιολογικά υγρά ³⁴. Αυτές είναι οι ακόλουθες:

1. Η ειδικότητα στο είδος: Έτσι λχ. η IFN του ανθρώπου προστατεύει ανθρώπινα κύτταρα από τους ιούς όχι όμως κύτταρα άλλων ζώων.

2. Δεν περνούν από ημιδιαπερατές μεμβράνες που σημαίνει ότι, το μοριακό τους βάρος είναι μεγάλο, όπως δηλαδή συμβαίνει με όλες τις πρωτεΐνες.

3. Αδρανοποιούνται μετά επώαση με πρωτοελυτικά ένζυμα όπως λχ. η τρυψίνη.

4. Τα κύτταρα για να δράσουν οι ιντερφερόνες χρειάζονται χρόνο επώασης 12 - 18 ωρών περίπου.

5. Η αντιϊκή τους δράση δεν αφορά μόνο τον ιό που προκάλεσε την παραγωγή τους αλλά και άλλους ιούς διαφορετικούς απ' αυτόν.

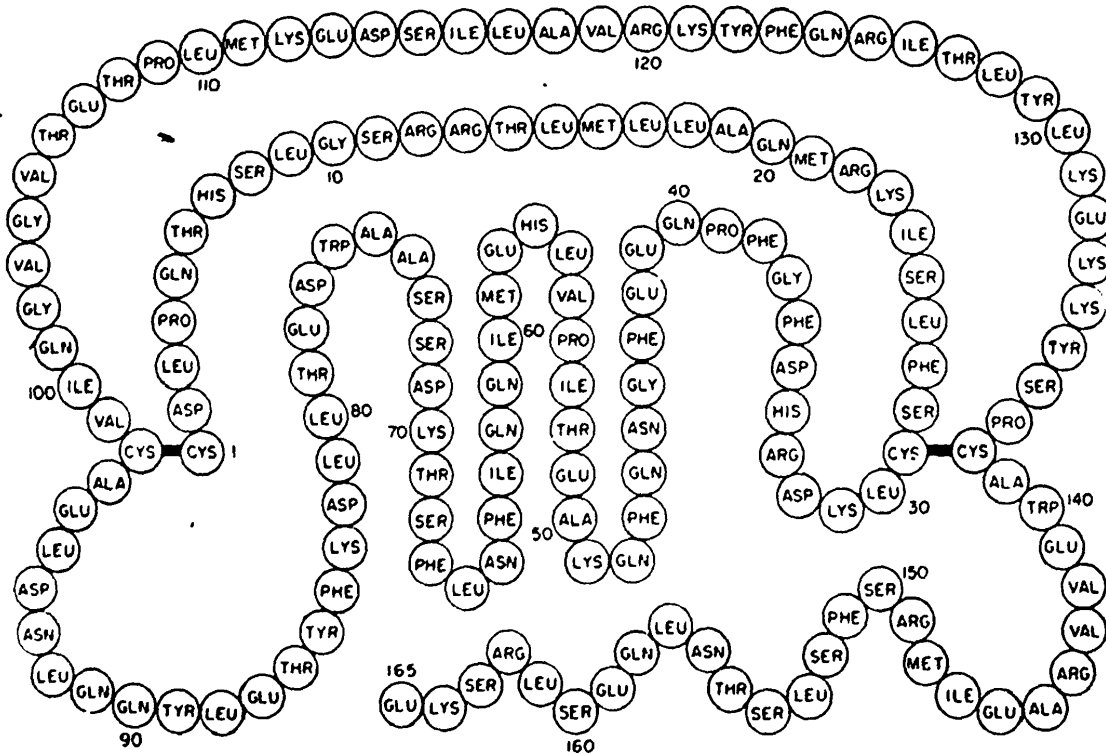
Από τους τρεις τύπους IFN, η IFN - γ φαίνεται ότι είναι η πιο δραστική. Πρόσφατα με μονοκλωνικά αντισώματα έχουν βρεθεί 14 υπότυποι για την IFN - α ³⁵. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις ιντερ-



ΠΙΝΑΚΑΣ Ι: ΤΥΠΟΙ ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΗΣ

ΤΥΠΟΣ	ΕΠΑΓΩΓΕΑΣ	ΤΟΠΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ	ΑΝΕΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ pH = 2
α	Ιοί, πολυνουκλεοτί- δια, βακτηριακά προϊό- ντα Καρκινικά ή ξένα κύτταρα	Λευκά αιμοσφαίρια	Δεν καταστρέφεται
β	»	Ινοβλάστες και επι- θηλιακά κύτταρα	Δεν καταστρέφεται
γ	Ανοσοσυμπλέγματα, μιτογόνα, θυμοεξαρ- τώμενα αντιγόνα, αντιλεμφοκυτταρι- κός ορός.	T - λεμφοκύτταρα	Καταστρέφεται

φέρονες έχουν απομονωθεί. Πολλές ιντερφερόνες παρασκευάζονται σήμερα με μεθόδους μηχανικής γενετικής^{33c} (Σχήμα 6).



Σχήμα 6. Η αλληλουχία των αμινοξέων της ανθρώπινης Ιντερφερόνης παρασκευάζεται με μεθόδους μηχανικής γενετικής^{33c}.

II. Βιολογικές ιδιότητες

Αντιϊκές - Αντιμικροβιακές

Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο οι ιοί προκαλούν παραγωγή IFN δεν είναι γνωστός. Φαίνεται ότι το ερέθισμα για την παραγωγή της είναι RNA διπλής έλικας μεγέθους μεγαλύτερου από 25 ζεύγη βάσεων³⁵. Η παραγόμενη IFN δρα στα διπλανά κύτταρα (τοπική δράση) και όταν η συγκέντρωσή της είναι πολύ μεγάλη διαχέεται στην κυκλοφορία³¹.

Η IFN δεν αδρανοποιεί τους ιούς δρώντας απευθείας πάνω τους. Αντίθετα, δρα στις μεμβράνες των κυττάρων οι οποίες περι-



βάλλουν το κύτταρο που την παράγει και:

1. Ενεργοποιεί γονίδια που είναι απαραίτητα για τη σύνθεση αντιϊκών ενζύμων (νουκλεάσες).

2. Διακόπτει τη σύνθεση πρωτεϊνών που είναι απαραίτητες για τη συγκρότηση των ιών, αναστέλλοντας τη μεταγραφή του ιικού DNA ή RNA. Τα γονίδια που είναι υπεύθυνα γι' αυτή τη δράση βρίσκονται στο χρωμόσωμα 21.

Ειδικότερα, μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί τα εξής κυτταροπλασματικά ένζυμα που επάγονται ή καταστέλλονται με την παρουσία IFN^{35a, b}.

1. Η πρωτεϊνική κινάση που παράγονται IF-2 απαραίτητου για την έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης. Έτσι διακόπτεται η μετάφραση ορισμένων ιικών mRNA.

2. Μια ενδορίβονουκλεάση που διασπά RNA μονής έλικας.

3. Την ολιγοαδενυλική συνθετάση απαραίτητη για τη σύνθεση ολιγοαδενυλικών οξέων με 2-5 φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Τα οξέα αυτά παρεμποδίζουν την προσθήκη σε ολιγοπεπτιδικές αλυσίδες καινούργιων αμινοξέων.

4. Η IFN καταστέλλει τη δράση ενζύμων που συμμετέχουν στη σύνθεση των γλυκοπρωτεϊνών του περιβλήματος του ιού.

Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η ικανότητα των κυττάρων που έχουν ήδη διεγερθεί από την IFN να μεταφέρουν τη διέγερσή τους στα διπλανά κύτταρα χωρίς να απαιτείται η παρουσία IFN για τα δεύτερα. Έτσι πολλαπλασιάζεται η ταχύτητα και η έκταση της δράσης του συστήματος της IFN. Εκτός από την IFN η νοραδρεναλίνη και η FSH μεταφέρουν τις πληροφορίες τους από κύτταρο σε κύτταρο πιθανά μέσω κοινών μηχανισμών με c-AMP³².

Η IFN δεν έχει μόνο αντιϊκή δράση αλλά και αντιμικροβιακή γενικότερα. Έτσι αναστέλλει την ενδοκυττάρια αύξηση και πολλαπλασιασμό των χλαμύδιων, της σιγκέλας, του τοξοπλάσματος, των ρικετσιών και του πλασμώδιου της ελονοσίας³⁵.



• *Ο ρόλος της IFN στις ιώσεις*

Οι αμυντικοί μηχανισμοί του οργανισμού για τους ιούς χωρίζονται γενικά σε^{36, 37}.

α) αυτούς που δρουν ενάντια στους ιούς εξωκυττάρια, όπως λ.χ. είναι τα εξουδευτερωτικά αντισώματα και τα φαγοκύτταρα,

β) σε αυτούς που αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των ιών ενδοκυττάρια και πρόκειται για τα ευαισθητοποιημένα λεμφοκύτταρα, τα κυτταρολυτικά αντισώματα με το συμπλήρωμα, ο πυρετός, η υποξία, η τοπική οξέωση και η IFN. Απ' όλους αυτούς τους μηχανισμούς, το σύστημα της IFN είναι χρονικά το πρώτο που δρα. Αυτό γίνεται μέσα σε λίγες ώρες μετά την εισβολή του ιού και διαρκεί για λίγες μέρες μέχρι 3 εβδομάδες. Η IFN είναι η πρώτη και πολλές φορές η πιο σημαντική γραμμή άμυνας του οργανισμού στις ιώσεις³⁸.

Η σπουδαιότητα της IFN στην άμυνα ενάντια στις ιώσεις ποικίλλει ανάλογα με τον ιό. Υπάρχουν ιοί, όπως οι αναπνευστικοί, που η IFN είναι η πιο σημαντική αμυντική δύναμη του οργανισμού. Αντίθετα για άλλους ιούς, όπως ο ιός της ηπατίτιδας Β, η IFN δε συμμετέχει σημαντικά στην άμυνα. Οι διαφορές αυτές οφείλονται στο ότι ορισμένοι ιοί όπως λ.χ. της ηπατίτιδας Β δεν είναι αρκετά ισχυρά ερεθίσματα για την παραγωγή της IFN. Ακόμα οι διάφοροι ιοί ποικίλλουν ως προς την ευαισθησία τους στην αντιϊκή δράση της IFN. Έτσι λ.χ. οι αναπνευστικοί ιοί και ο ιός της ηπατίτιδας Β είναι πολύ ευαίσθητοι στη δράση της.

• *Επίδραση της IFN στην αύξηση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων.*

Η IFN έχει αντιαυξητική δράση στα κύτταρα. Η δράση αυτή συνίσταται σε καταστολή της σύνθεσης DNA που έχει σαν αποτέλεσμα την επιμήκυνση της φάσης S του κύκλου ζωής των κυττάρων. Η αντιαυξητική δράση της IFN είναι πιο έκδηλη στο αναγενόμενο ήπαρ και στις πρόδρομες μορφές της ερυθράς σειράς στο μυελό των οστών. Επίσης, ο φαινότυπος των κυττάρων παίζει καθοριστικό ρό-

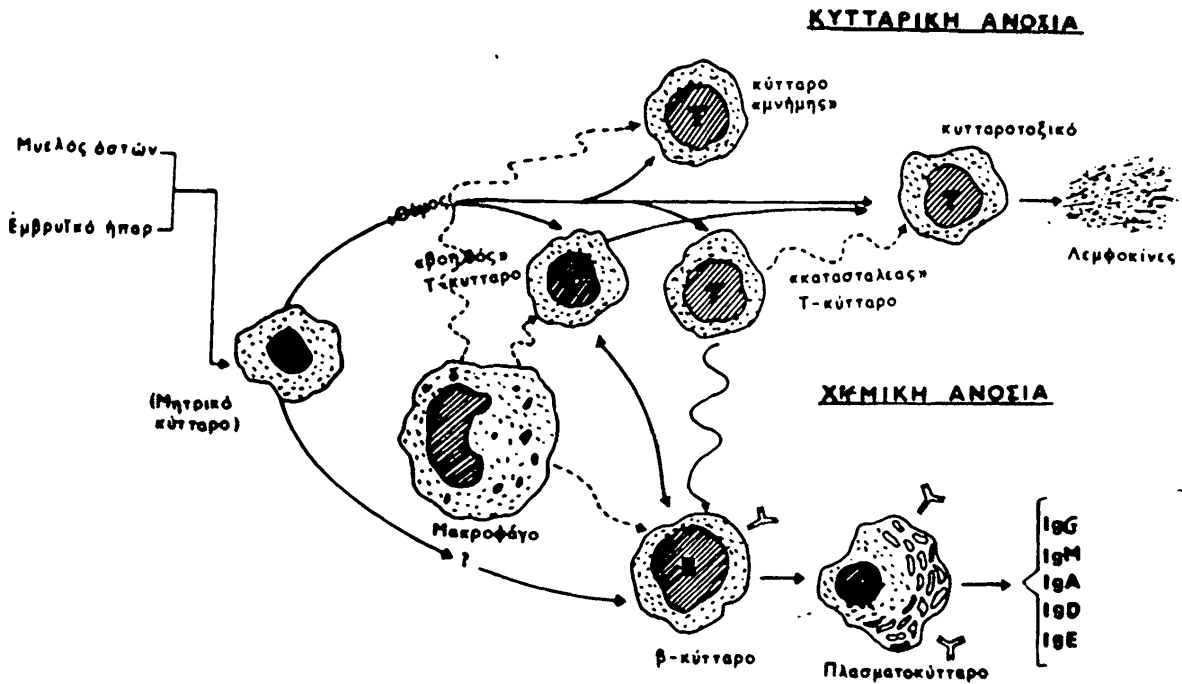


λο στην ευαισθησία τους στην αντιαιζητική δράση της IFN λχ. τα κύτταρα παιδιών με σύνδρομο Down είναι πολύ ευαίσθητα^{37, 39, 40}.

Οι δράσεις της IFN στην κυτταρική μεμβράνη και στον κυτταρικό μεταβολισμό

Η IFN αυξάνει την έκφραση ορισμένων αντιγόνων του κύριου συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (H₂, Ia κ.λπ.) της B₂ μικροσφαιρίνης και των υποδοχέων των ανοσοσφαιρινών στα λεμφοκύτταρα. Επίσης επηρεάζει τη μορφολογία των κυττάρων, την κινητικότητα και την οργάνωση του κυτταροσκελετού τους^{33α}.

Η δράση της IFN στα κύτταρα του αρθρικού υμένα έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της παραγωγής του υαλουρονικού οξέος³⁴. Ακόμα η IFN αυξάνει την παραγωγή της PGE που είναι πολύ ισχυρός φλεγμονογόνος παράγοντας⁴²⁻⁴³.



Σχήμα 7: Το ανοσολογικό σύστημα του ανθρώπου. (Χ.Μ. Μουτσόπουλος: Βασικές αρχές Παθοφυσιολογίας, Λίτσας, 1983).



• *Ανοσορυθμιστικές ιδιότητες*

Η δράση της IFN στο ανοσολογικό σύστημα είναι συνάρτηση του χρόνου και της ποσότητας που χορηγείται^{33α, 44}. Έτσι αυξάνει^{31α, 33α,ε}.

- Την φαγοκυτταρική ικανότητα των μακροφάγων για ξένα ή κακοήθη κύτταρα, ανοσολογική μέσω δηλ. ειδικών αντισωμάτων (Κ κύτταρα ή φονικά) ή μη ανοσολογική (μέσω των NK κυττάρων).
- Την κυτταροτοξικότητα των Τ- λεμφοκυττάρων για τα κύτταρα στόχος και
- Τη μέσω της IgE έκλυση ισταμίνης και την χημειοταξία των βασεόφιλων του αίματος⁴⁵

Αντίστοιχα η IFN ελαττώνει^(33β):

- Την ένταση της επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας και την απόκριση των λεμφοκυττάρων σε αντιγόνα ή μιτογόνα.
- Την αντίδραση επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας σε αλλομοσχεύματα και την απόκριση των λεμφοκυττάρων στη μικτή λευκοκυτταρική αντίδραση.

Αυξάνει ή ελαττώνει^{33α, β}.

- Την παραγωγή αντισωμάτων.

IFN και αυτοάνοσα νοσήματα

Η IFN έχει βρεθεί στον ορό αρρώστων με συστηματικό ερυθματώδη λύκο, σκληρόδερμα, ρευματοειδή αρθρίτιδα, σύνδρομο του Sjögren και αγγειίτιδες^{46, 47}. Η IFN που βρέθηκε, ήταν κυρίως τύπου - α, όπως δηλ. συμβαίνει στις ιώσεις. Το γεγονός αυτό είναι ένα έμμεσο στοιχείο για την παρουσία ιού σαν παθογενετικού παράγοντα α' αυτές τις νόσους⁴⁶. IFN - γ έχει βρεθεί σε αρρώστους με νόσο του Bechet.

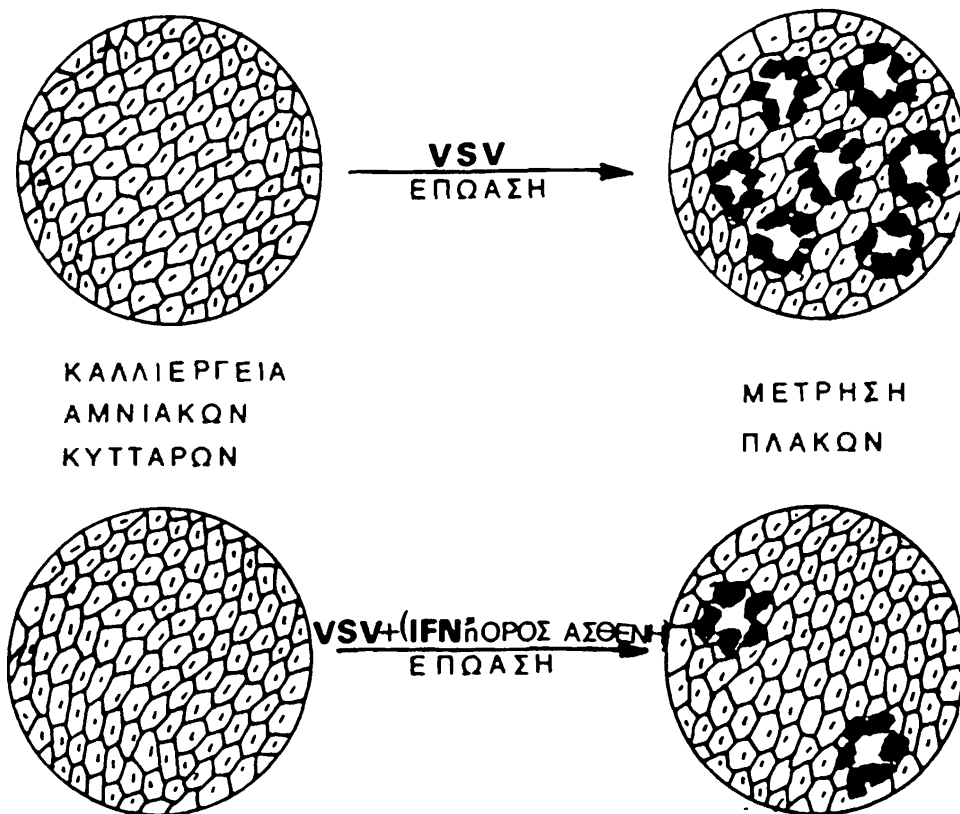
Ο ρόλος της IFN στα αυτοάνοσα νοσήματα δεν είναι απόλυτα ξεκαθαρισμένος. Φαίνεται ότι, ορισμένες από τις ανοσολογικές διαταραχές που παρατηρούνται σ' αυτές τις αρρώστιες, όπως είναι η υπεργαμμασφαιριναιμία, η παραγωγή αυτοαντισωμάτων, η κυ-



κλοφορία ανοσοσυμπλεγμάτων και η πολυκλωνική ενεργοποίηση των Β-λεμφοκυττάρων, προκαλούνται ή επιτείνονται από την IFN^{46, 47}

III. Η Μέτρηση της Ιντερφερόνης

Η πιο διαδεδομένη μέθοδος για τη μέτρηση της IFN στηρίζεται στην αντιϊκή της δράση. Σε γενικές γραμμές είναι η παρακάτω: Σε ειδικές καλλιέργειες ανθρώπινων κυττάρων προστίθεται γνωστή ποσότητα ιού. Κάθε σωματίδιο ιού καταστρέφει τα γειτονικά κύτταρα σχηματίζοντας μια πλάκα. Αν προηγουμένα, στην καλλιέργεια των κυττάρων προστεθεί IFN, μειώνεται ο αριθμός των πλακών που σχηματίζονται. Σα μονάδα IFN ορίζεται το αντίστροφο της μεγαλύτερης αραιώσης του ορού που προκαλεί μείωση κατά 50% του αριθμού των πλακών³⁴ (Σχήμα 8).



Σχήμα 8: Η αρχή της μεθόδου της ιντερφερόνης που στηρίζεται στην αντιική της δραστηριότητα.

Τελευταία ανακοινώθηκε μια ανοσοενζυματική μέθοδος για τη μέτρηση της IFN που χρησιμοποιεί δύο μονοκλωνικά αντισώματα το ένα από τα οποία είναι ομοιολογικά συνδεδεμένο με υπεροξειδάση. Η υπεροξειδάση αντιδρά με ο-φαιλυλενοδιαμίνη και το χρώμα διαβάζεται σε φωτόμετρο στα 492 nm. Η μέθοδος είναι απλή, γρήγορη και ευαίσθητη⁴⁸.

Κλινικές εφαρμογές της μέτρησης της ιντερφερόνης

Αυτές είναι βασικά τρεις:

1. Στο συστηματικό ερυθματώδη λύκο μαζί με το συμπλήρωμα και τα αντισώματα κατά DNA, η IFN είναι ένας δείκτης της κλινικής δραστηριότητας της αρρώστιας. Έτσι, στην έξαρση της νόσου η συγκέντρωση της είναι αυξημένη ενώ στην ύφεση μειώνεται⁴⁶.

2. Η IFN- γ που παράγεται από τα T-λεμφοκύτταρα είναι ένας καλός δείκτης της λειτουργίας των T-λεμφοκυττάρων και των μακροφάγων. Λεμφοκύτταρα του αρρώστου διεγείρονται με μιτογόνα όπως η φυτοαιμοσυγκολλητίνη ή η κονκοβαλαμίνη και μετριέται η IFN- γ που παράγεται. Άρρωστοι με ανωμαλίες στη λειτουργία των μακροφάγων ή των T-λεμφοκυττάρων, όπως συμβαίνει στο συστηματικό ερυθματώδη λύκο, τη μελαγχρωματική αμφιβληστοειδοπάθεια, ή το σύνδρομο της οξείας επίκτητης ανοσοανεπάρκειας παράγουν, μειωμένες ποσότητες IFN- γ μετά από αντιγονικό ερεθισμό.

3. Στη θεραπεία του καρκίνου με IFN για την παρακολούθηση της στάθμης του φαρμάκου στο αίμα.

IV. Θεραπευτικές εφαρμογές Ιντερφερόνης *Φαρμακοκινητική*

Η IFN που παράγεται από τα κύτταρα του σώματος ή που δίνεται εξωγενώς, εξαφανίζεται γρήγορα από την κυκλοφορία και τους ιστούς. Έτσι, μέσα σε μια ώρα περίπου η συγκέντρωσή της



μειώνεται σε λιγότερο από το 10% της αρχικής. Ο χρόνος ημιζωής για την IFN – α είναι περίπου 10 λεπτά^{37 - 39}.

Ο καταβολισμός της γίνεται κυρίως στο ήπαρ με απόσπαση σιαλικών οξέων αρχικά και στη συνέχεια αποδόμηση των εκτεθιμένων γαλακτοζών στα άκρα των αλύσεων. Σε πολύ μικρότερο ποσοστό η IFN απεκκρίνεται από τους νεφρούς και το έντερο.

Δύο είναι οι κύριοι δρόμοι χορήγησης IFN για θεραπευτικούς σκοπούς: α) Τοπικά, όπως λ.χ. στο μάτι για τη θεραπεία της κερατίτιδας από αδενοϊούς ή στην υπεζωκοτική κοιλότητα, όταν πρόκειται για μεσοθηλιώματα και β) Συστηματικά, που μπορεί να είναι υποδόρια, ενδομυϊκά ή ενδοφλέβια. Επειδή η IFN δεν περνά τον αιμοτοεγκεφαλικό φραγμό, γι' αυτό σε νευρολογικές αρρώστιες, όπως η σκλήρυνση κατά πλάκας, χορηγείται στο νωτιαίο μυελό με οσφυνωτιαία παρακέντηση³⁷.

Οι κυριότερες παρενέργειες από τη συστηματική χορήγηση IFN είναι: πυρετός, ρίγη, μυαλγίες, πονοκέφαλος, κακουχία και αναστρέψιμη καταστολή του μυελού των οστών που συνήθως είναι πολύ ήπια³⁹. Αξίζει να σημειωθεί η ομοιότητα των συμπτωμάτων από χορήγηση IFN, με αυτά του συστηματικού ερυθρηματώδη λύκου και των ψωσεων. Είναι πιθανό ότι τα συμπτώματα, σ' αυτές τις αρρώστιες, οφείλονται στην IFN³³ (Πίνακας 2).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Συχνότητα παρενεργειών θεραπείας με IFN σε καρκινοπαθείς.

ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ	ΠΟΣΟΣΤΟ (%)
Καταστολή μυελού των οστών	90
Πυρετός	80
Απώλεια βάρους	50
Πόνος στο σημείο της ένεσης	30
Αλωπεκία	30
Ρίγη	20
Πονοκέφαλος	10
Εξανθήματα	10



Η Ιντερφερόνη σαν αντικαρκινικό φάρμακο

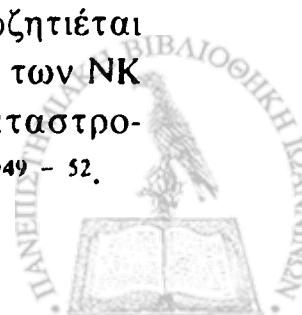
Η ιδέα για τη χρησιμοποίηση της IFN στη θεραπεία του καρκίνου ξεκίνησε από τις αρχές της δεκαετίας του 1970, όταν άρχισε να συζητιέται έντονα ο ρόλος των ιών στην καρκινογένεση. Τα πρώτα πειράματα έγιναν σε πειραματόζωα και μετά τα πρώτα ενθαρρυντικά αποτελέσματα, η IFN άρχισε να χορηγείται σε ανθρώπους. Η επιλογή των κακοηθειών που εφαρμόστηκε η IFN, έγινε μάλλον τυχαία και δε στηρίχτηκε σε ορισμένες βιολογικές ιδιότητες του όγκου που θα τον έκαναν πιο ευαίσθητο στη δράση της³⁸.

Σήμερα δεχόμαστε τουλάχιστον τρεις πιθανούς μηχανισμούς για την αντικαρκινική δράση της IFN^{39a}

1. Όπως έχει αναφερθεί, η IFN αναστέλλει την αύξηση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Ο ακριβής μηχανισμός αυτής της δράσης της IFN δεν είναι γνωστός. Πρόσφατα όμως βρέθηκε ότι η IFN καταστέλλει την έκφραση διαφόρων ογκογονιδίων όπως του *c-myc*, του *c-myb* και του *c-fos*. Τα πρωτεϊνικά παράγωγα αυτών των ογκογονιδίων σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων^{39b}. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι τα κακοήθη κύτταρα είναι πιο ευαίσθητα από τα φυσιολογικά στη δράση της IFN. Πάντως, υπάρχουν κύτταρα που είναι λιγότερο ή περισσότερο ευαίσθητα χωρίς να ανήκουν υποχρεωτικά στα καρκινικά ή στα φυσιολογικά.

2. Η IFN προκαλεί μορφολογικές και λειτουργικές αλλαγές στην κυτταρική μεμβράνη. Επίσης αυξάνει την έκφραση ορισμένων αντιγόνων του κύριου συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (H_2 , Ia κ.λπ.). Πιθανολογείται ότι μ' αυτό τον τρόπο τα καρκινικά κύτταρα γίνονται πιο αντιγονικά.

3. Η IFN, όπως αναφέρθηκε, έχει ανοσορυθμιστικές ιδιότητες. Με δεδομένο ότι είναι γνωστός ο ρόλος του ανοσολογικού συστήματος στην άμυνα του οργανισμού ενάντια στην κακοήθεια, η σημασία της παρουσίας της IFN είναι φανερή. Σήμερα συζητιέται έντονα η αύξηση που προκαλεί η IFN στη δραστηριότητα των NK κυττάρων που, όπως είναι γνωστό, προκαλούν μη ειδική καταστροφή κυττάρων προσβλημένων με ιό ή καρκινικών κυττάρων^{49 - 52}.



Όσον αφορά τις αντικαρκινικές της ιδιότητες, σίγουρα η IFN δεν είναι το φάρμακο που θεραπεύει τον καρκίνο, όπως θεωρήθηκε αρχικά. Παρόλα αυτά δεν παύει να είναι ένα πολύ καλό χημειοθεραπευτικό, που όταν δίνεται μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλα χημειοθεραπευτικά, βελτιώνει την πρόγνωση σε ορισμένες κακοήθειες όπως είναι κακοήθειες του αίματος, ο καρκίνος του μαστού και το μεσοθηλίωμα^{37 - 39, 40α, β}.

Η Ιντερφερόνη σαν φάρμακο για τις ιώσεις

Η ιντερφερόνη δοκιμάστηκε για τη θεραπεία ιώσεων ιδίως σε ανοσοκατασταλεμένους ασθενείς. Μέχρι τώρα οι μόνες ιώσεις όπου η IFN έχει αποδεδειγμένη χρησιμότητα είναι ο έρπητας ζωστήρας, η ηπατίτιδα Β και η λύσσα, όπου τα θεραπευτικά αποτελέσματα είναι ομολογουμένως ενθαρρυντικά^{40, 53 - 56}, ενώ για το θήλωμα του λάρυγγα τα αποτελέσματα είναι λιγότερο ενθαρρυντικά³⁷.



III. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



Α. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ι. Πληθυσμός

Σ' αυτή την εργασία μελετήθηκαν δύο ομάδες αρρώστων. Την πρώτη ομάδα αποτελούσαν 47 ασθενείς (29 αγόρια, 18 κορίτσια ηλικίας μικρότερης από 2 χρονών) που εισήχθησαν στην Πανεπιστημιακή Παιδιατρική Κλινική του Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων «Γ. Χατζηκώστα», την περίοδο 1980 – 1981 με την κλινική διάγνωση της βρογχολίτιδας. Τα κριτήρια για τη διάγνωση της βρογχολίτιδας περιλάμβαναν, ηλικία μικρότερη από δύο χρόνια, ταχύπνοια και εισολκή των μεσοπλεύριων διαστημάτων στην επισκόπηση, εκπνευστικό συριγμό, υγρούς ή ξηρούς ρόγχους και παράταση της εκπνοής στην ακρόαση και τέλος περιπυλαία πνευμονικά διηθήματα και υπεραερισμό των πνευμόνων στην ακτινογραφία θώρακα. Τη μέρα της εισαγωγής στο νοσοκομείο πάρθηκε αίμα και ο ορός αφού αποχωρίστηκε, φυλάχτηκε στους -20°C μέχρι τη μέρα της μέτρησης της IFN. Την ίδια περίοδο πάρθηκε αίμα από 8 φυσιολογικά παιδιά ανάλογης ηλικίας που ήρθαν στο νοσοκομείο για οδηγίες διατροφής, μετά από συγκατάθεση των γονέων τους. Δεκατέσσερις ασθενείς είχαν οικογενειακό ή ατομικό ιστορικό αλλεργίας ενώ 6 είχαν προηγούμενα επεισόδια βρογχολίτιδας. Ο μέσος χρόνος νοσηλείας στο νοσοκομείο ήταν 3 – 5 μέρες. Οι περιπτώσεις ήταν σποραδικές και κάλυπταν κυρίως την περίοδο Οκτωβρίου – Μαΐου.

Η δεύτερη ομάδα αποτελούνταν από 52 ασθενείς (30 αγόρια και 22 κορίτσια, ηλικίας μικρότερης από 2 χρόνων) που εισήχθησαν στο ίδιο Νοσοκομείο με την κλινική διάγνωση της βρογχολίτιδας. Αίμα πάρθηκε (α) τη μέρα της εισαγωγής στο νοσοκομείο, (β) κατά την έξοδο (συνήθως 4 – 6 μέρες μετά την εισαγωγή) και (γ) 10 μέρες μετά την έξοδο. Την ίδια περίοδο πάρθηκε αίμα από 32 φυσιολογικά



παιδιά, τα περισσότερα από τα οποία είχαν έρθει στο νοσοκομείο για οδηγίες διατροφής και δεν είχαν ενδείξεις για ιϊκή, βακτηριδιακή, αυτοάνοση ή αλλεργική νόσο. Σε όλους τους παραπάνω ορούς (δηλ. των παιδιών με βρογχιολίτιδα και των φυσιολογικών παιδιών) μετρήθηκαν α) Η IFN, β) η ανοσοσφαιρίνη E και γ) τα αντισώματα που συνδέουν το συμπλήρωμα κατά του ιού του αναπνευστικού συγκύτιου και των αδενοϊών. Δεκαπέντε ασθενείς είχαν οικογενειακό ή ατομικό ιστορικό αλλεργίας ενώ 6 είχαν προηγούμενα επεισόδια βρογχιολίτιδας. Ο μέσος όρος νοσηλείας ήταν 4–6 μέρες. Οι περιπτώσεις ήταν και πάλι σποραδικές και κάλυπταν την περίοδο Οκτωβρίου – Μαΐου.

II. Η Μέτρηση της Ιντερφερόνης

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση της Ιντερφερόνης στηρίζεται στην αντιϊκή της δράση. Σε γενικές γραμμές είναι η παρακάτω: Σε ειδικές καλλιέργειες ανθρώπινων κυττάρων προστίθεται γνωστή ποσότητα ιού. Κάθε σωματίδιο ιού καταστρέφει τα γειτονικά κύτταρα σχηματίζοντας μια πλάκα. Αν προηγούμενα, στην καλλιέργεια των κυττάρων προστεθεί IFN ή ο ορός του αίματος του ασθενή που υποτίθεται ότι έχει IFN, μειώνεται ο αριθμός των πλακών που σχηματίζονται. Σα μονάδα IFN ορίζεται το αντίστροφο της μεγαλύτερης αραίωσης του ορού που προκαλεί μείωση κατά 50% του αριθμού των πλακών³⁴.

Ειδικότερα η μέτρηση της IFN περιλαμβάνει τα παρακάτω τρία στοιχεία: 1. τις κυτταροκαλλιέργειες, 2. τον πολλαπλασιασμό και την τιτλοποίηση του ιού και 3. τη μέτρηση και ταυτοποίηση της IFN.

Οι κυτταροκαλλιέργειες

Για τη μέτρηση της IFN στο εργαστήριό μας χρησιμοποιήσαμε αμνιακά κύτταρα ανθρώπου (Wish cells, Flow Laboratories, Inc., Rockville, MD) καλλιεργημένα σε θρεπτικό υλικό Eagle's minimal es-



essential medium (MEM) εμπλουτισμένο με πενικιλίνη (1000 U/ml), στρεπτομυκίνη (100 µg/ml) και 2 – 10% ορού αίματος εμβρύου αγελάδας (Fetal calf serum, FCS) που προηγούμενα αδρανοποιήθηκε στους 56° C για 30 λεπτά.

Τα κύτταρα καλλιεργούνται και διατηρούνται σε πλαστικές φιάλες καλλιέργειας κυττάρων των 75 cm² που επωάζονται στους 37° C σε ατμόσφαιρα 5% CO₂. Όταν τα κύτταρα συρρέουν, ανακαλλιεργούνται είτε σε νέες φιάλες, για να υπάρχει παρακαταθήκη κυττάρων, είτε σε πλακίδια κυτταροκαλλιέργειών με 96 «φρεάτια» (wells) για να χρησιμεύσουν στην τιτλοποίηση του ιού και τη μέτρηση της IFN. Η ανακαλλιέργεια των κυττάρων γίνεται αφαιρώντας το θρεπτικό υλικό, πλένοντας τα κύτταρα μια φορά με 5 – 10 ml μίγματος τρυψίνης και 0,02% αιθυλενοδιαμινοτετραοξεικού οξέος (EDTA, versene) και επωάζοντάς τα στους 37 °C μέχρι που ν' αρχίσουν να αποκολλώνται από τον πυθμένα των πλαστικών φιαλών (περίπου 4 – 5 λεπτά). Στη συνέχεια προστίθενται 4 – 6 ml φρέσκου θρεπτικού υλικού MEM με 10% FCS. και αναδεύονται τα κύτταρα προσεκτικά έτσι ώστε να σχηματιστεί ομοιογενές εναιώρημα που περιέχει περίπου 4.8X10⁵ κύτταρα/ ml.

Σε κάθε πλαστική φιάλη προστίθενται 15 ml από το εναιώρημα ενώ σε κάθε φρεάτιο των μικροπλακιδίων 0,1 ml.

Σε κάθε μέτρηση χρησιμοποιείται διάλυμα IFN με γνωστό τίτλο σε διεθνείς μονάδες (IU) που μπορεί κανείς να το προμηθευτεί από το Research Reagent Bureau, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD. Η χρησιμοποίηση αυτού του διαλύματος έχει αποφασιστική σημασία για την αξιοπιστία της μέτρησης γιατί τα κύτταρα των καλλιέργειών διαφέρουν στην ικανότητά τους να αναπτύσσουν αντιϊκή κατάσταση, οι ιοί ποικίλλουν ως προς την ευαισθησία τους στην αντιϊκή δράση της IFN και τέλος πολλοί άλλοι παράγοντες μπορούν να μεταβάλλουν την ευαισθησία του συστήματος μέτρησης της IFN.



Ο πολλαπλασιασμός και η τιτλοποίηση του ιού

Η εκλογή του κατάλληλου ιού για τη μέτρηση της IFN γίνεται με βάση τα παρακάτω τρία κριτήρια: 1. Εύκολη τιτλοποίηση 2. Ευαισθησία στη αντιϊκή δράση της IFN και 3. Ασφάλεια για το προσωπικό του εργαστηρίου. Ο ιός της φυσαλιδώδους στοματίτιδας, στέλεχος της Ινδιάνας (Vesicular stomatitis virus, V.S.V., Indiana strain) που διατίθεται από την American Type Culture Collection (A.T.C.C.) στο Rockville, MD πληρεί όλα τα παραπάνω κριτήρια.

Η μέτρηση της IFN προϋποθέτει την ύπαρξη μιας παρακαταθήκης (stock) ιού. Αυτό γίνεται με τον παρακάτω τρόπο: 5ml διαλύματος V.S.V. (1:100 ως 1:1.000) προστίθεται σε καλλιέργεια κυττάρων wish σε πλαστικές φιάλες των 75cm² κι επωάζονται στους 37° C για 1 ώρα. Στη συνέχεια αφαιρείται το υπερκείμενο υγρό και προστίθεται 15ml θρεπτικού υλικού MEM. με 2% FCS. Όταν περίπου, τα 75% των κυττάρων προσβληθούν από τον ιό (αυτό φαίνεται στο μικροσκόπιο κι εκδηλώνεται με αλλαγή του σχήματος των κυττάρων από ρομβοειδές σε κυκλικό) τα κύτταρα καταψύχονται και στη συνέχεια τήκονται για να σπάσει η κυτταρική τους μεμβράνη και να βγουν τα σωματίδια του ιού που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα. Αυτό το εναιώρημα των κυττάρων φυγοκεντρείται στις 2000 rpm για 15 λεπτά και το υπερκείμενο που περιέχει τον ιό τοποθετείται σε πλαστικά σωληνάρια (1ml/σωληνάριο) και διατηρείται στους -70° C.

Η τιτλοποίηση του ιού ακολουθεί την παρακάτω διαδικασία:

1. Σε κάθε φρεάτιο ενός μικροπλακίδιου κυτταροκαλλιέργειας των 96 φρεατίων, προστίθενται 0,1 ml εναιωρήματος κυττάρων wish που περιέχει περίπου 4.8×10^5 κύτταρα/ml σε θρεπτικό υλικό MEM εμπλουτισμένο με πενικιλίνη, στρεπτομυκίνη, και FCS στις δόσεις που προαναφέρθηκε κι επωάζονται για 24 ώρες περίπου μέχρι τα κύτταρα να καταλάβουν όλο τον πυθμένα του φρεατίου.

2. Αφαιρείται το θρεπτικό υλικό και μολύνονται τα κύτταρα με διαδοχικές αραιώσεις του δέκα (10, 100, 1.000 κ.ο.κ) του ιού της φυσαλιδώδους στοματίτιδας (V.S.V.). Τα μικροπλακίδια τοποθε-



τούνται πάνω σε ταλαντωτή (rocker) που βρίσκεται μέσα στον επωαστήρα για 45 λεπτά. Τα σωματίδια του ιού προσροφούνται στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων.

3. Αφαιρείται ο ιός που δεν προσροφήθηκε (χύνοντας το υπερκείμενο υγρό των κυττάρων), πλένονται τα κύτταρα με θρεπτικό υλικό MEM. κι επικαλύπτονται με 0,1 ml διαλύματος 0,7% μεθυλοσέλουλόζης (Laboratory Grade 4.000 centipose, Fisher Scientific Co, Fair Lawn N.J. (M-281) σε MEM και 0,1 ml MEM με 2% FCS.

4. Τα κύτταρα επώάζονται για 24 ώρες.

5. Χύνεται το θρεπτικό υλικό που καλύπτει τα κύτταρα και πλένονται τα κύτταρα με P.B.S. (phosphate Buffered saline). Τα κύτταρα μονιμοποιούνται με απόλυτη αλκοόλη (για 2-5 λεπτά).

6. Αφαιρείται η αιθανόλη. Πλένονται τα κύτταρα δύο φορές με νερό βρύσης και χρωματίζονται με χρώση Giemsa.

7. Αφαιρείται η χρωστική και πλένονται τα κύτταρα δύο φορές με νερό βρύσης.

8. Αφήνονται να στεγνώσουν τα μικροπλακίδια για 1-2 μέρες και στη συνέχεια μετρούνται οι πλάκες σε μετρητή πλακών. (Plaque Viewer, Bellco Glass, Inc. Vineland, N.J.). Υπολογίζεται η αραιώση του διαλύματος του ιού που σχηματίζει 60-100 πλάκες ανά φρεάτιο για να χρησιμοποιηθεί στη μέτρηση της IFN που ακολουθεί.

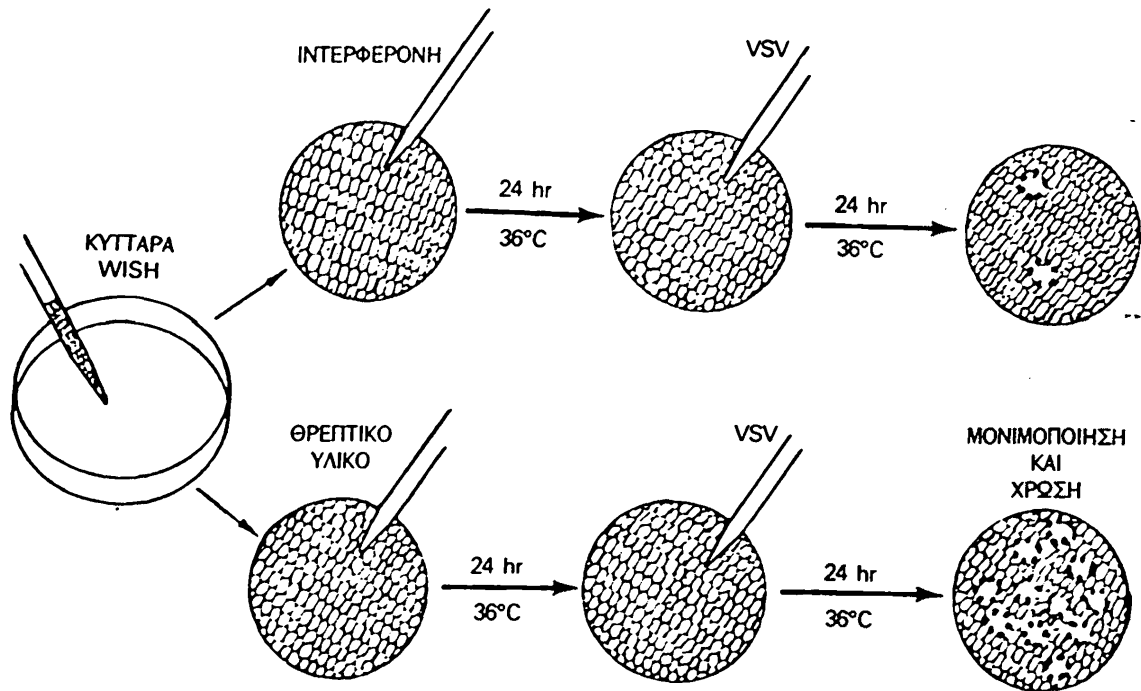
Η μέτρηση της IFN

Γίνεται σταδιακά με τον παρακάτω τρόπο:

1. Ετοιμάζονται καλλιέργειες κυττάρων wish σε μικροπλακίδια των 96 φρεατίων, όπως περιγράφηκε στην τιτλοποίηση του ιού. Επώάζονται τα κύτταρα για 24 ώρες περίπου ώσπου να καταλάβουν ολόκληρο τον πυθμένα του φρεατίου. (Σχήμα 9).

2. Αφαιρείται το θρεπτικό υλικό και προστίθενται στα φρεάτια τα εξής: (το καθένα φυσικά σε διαφορετικά φρεάτια) 0,1 ml από διαδοχικές αραιώσεις του δύο (2, 4, 8 κλπ.) του πρότυπου διαλύματος IFN = IFN control, 0,1 ml από διαδοχικές αραιώσεις του δύο,





Σχήμα 9. Η μέθοδος μέτρησης της Ιντερφερόνης

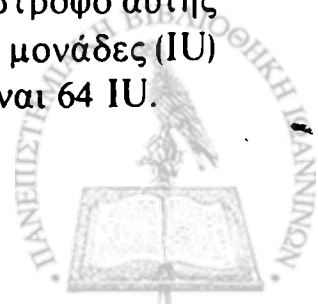
του δείγματος προς εξέταση και 0,1 θρεπτικού υλικού = VSV control και control θρεπτικού υλικού.

3. Επωάζονται τα κύτταρα για 18 – 24 ώρες.

4. Αφαιρείται το θρεπτικό υλικό και πλένονται τα κύτταρα τρεις φορές με θρεπτικό υλικό MEM.

5. Προστίθενται 60 – 100 PFU (plaque forming units) του VSV σε όγκο 0,1 ml στα φρεάτια με το control της IFN, με το προς εξέταση δείγμα και με το control του VSV. Στα φρεάτια με το control του θρεπτικού υλικού προστίθενται 0,1 ml θρεπτικού υλικού MEM.

6. Στη συνέχεια γίνεται ότι και στην τιτλοποίηση του VSV (στάδια 3 ως 8) και βρίσκεται η μεγαλύτερη αραιώση του δείγματος που μειώνει στο μισό τον αριθμό των πλακών. Το αντίστροφο αυτής της αραιώσης είναι η συγκέντρωση της IFN σε διεθνείς μονάδες (IU) λχ. αν η αραιώση αυτή ήταν 1:64 ο τίτλος της IFN είναι 64 IU.



Η ταυτοποίηση της IFN

Για να θεωρηθεί μια ουσία με αντική δράση IFN, πρέπει να εκπληρώνει ορισμένα κριτήρια που έχουν ήδη αναφερθεί. Αυτό συμβαίνει επειδή στα βιολογικά υγρά που μετρείται η IFN (ορός αίματος, αμνιακό, αρθρικό και εγκεφαλονωτιαίο υγρό κλπ.) μπορεί να περιέχονται ορισμένες ουσίες που καταστέλλουν μη ειδικά τον πολλαπλασιασμό των ιών, μιμούνται τη δράση της IFN ή επάγουν τη σύνθεσή της⁵⁷. Με μια σειρά απλών σχετικά δοκιμασιών μπορεί να ελεγχθεί αν ένα βιολογικό υγρό περιέχει ή όχι IFN.

Το πρώτο κριτήριο για να είναι ανθρώπινη IFN μια ουσία, είναι να μην είναι τοξική για τα κύτταρα των κυτταροκαλλιιεργειών. Δεύτερο, δεν πρέπει να αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των ιών σε κύτταρα ποντικίου L (Americal Type Culture Collection), όταν αυτά αντικαταστήσουν τα κύτταρα wish κατά τη μέτρηση της IFN. Τρίτο, το βιολογικό δείγμα πρέπει να χάσει την αντική του ικανότητα μετά από επώαση για 1 ώρα με 10 μg/ml τρυψίνης. Τέλος, όταν η ουσία του δείγματος αντιδράσει με ένα από τους τρεις ειδικούς αντιορούς για κάθε τύπο ανθρώπινης IFN πρέπει να χάνει την αντική της δραστηριότητα.

III. Οι αντιδράσεις σύνδεσης του συμπληρώματος

Η αντίδραση σύνδεσης του συμπληρώματος είναι μια *in vitro* δοκιμασία για την ανίχνευση και μέτρηση αντισωμάτων, αντιγόνων ή και των δύο. Στηρίζεται στην ιδιότητα του συμπληρώματος να συνδέεται με το σύμπλεγμα αντιγόνου – αντισώματος⁵⁸. Η δοκιμασία περιλαμβάνει δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο ενώνονται αντιγόνο και αντίσωμα με την παρουσία γνωστής ποσότητας συμπληρώματος με αποτέλεσμα τη σύνδεση και κατανάλωση του συμπληρώματος. Στο δεύτερο στάδιο, προστίθεται μίγμα ερυθρών αιμοσφαιρίων προβάτου με αντιπροβάτεια αιμολυσίνη (συνήθως από κουνέλι) και υπολογίζεται το ποσοστό των ερυθρών αιμοσφαιρίων του προβάτου που αιμολύεται από το συμπλήρωμα που περίσσεψε

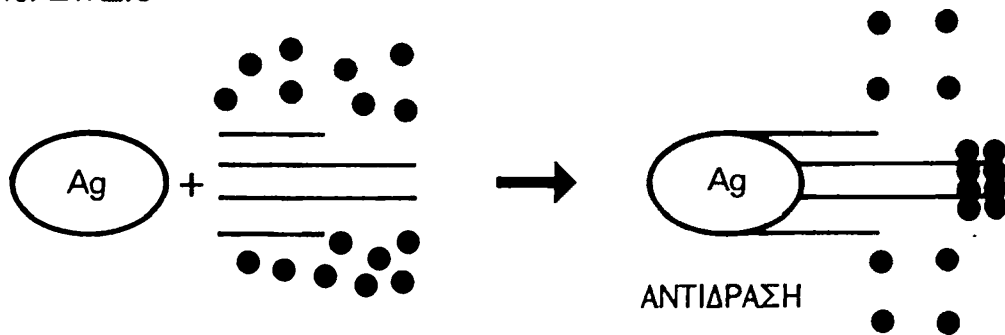


από την πρώτη αντίδραση. Η αιμόλυση βαθμολογείται σε κλίμακα με 4 βαθμούς ως εξής:

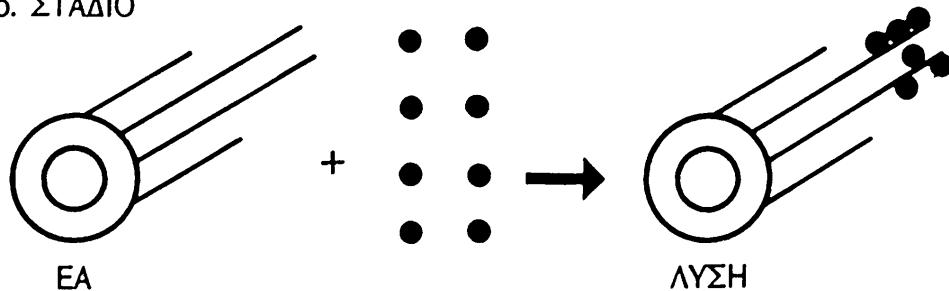
4+ = 0% αιμόλυση	100% των ερυθρών άθικτα
3+ = 25 % αιμόλυση	75% των ερυθρών άθικτα
2+ = 50% αιμόλυση	50% των ερυθρών άθικτα
1+ = 75% αιμόλυση	25% των ερυθρών άθικτα
0 = 100% αιμόλυση	0% των ερυθρών άθικτα

Όταν μετριούνται αντισώματα με την αντίδραση σύνδεσης του συμπληρώματος (που σημαίνει ότι η ποσότητα του συμπληρώ-

1ο. ΣΤΑΔΙΟ



2ο. ΣΤΑΔΙΟ



Σχήμα 10. Η αρχή της αντίδρασης σύνδεσης του συμπληρώματος. Στο πρώτο στάδιο το αντιγόνο (Ag) και το αντίσωμα (Ab) αντιδρούν με την παρουσία συμπληρώματος (.). Η αντίδραση αντιγόνου - αντισώματος συνδέει μέρος του διαθέσιμου συμπληρώματος.

Στο δεύτερο στάδιο, το συμπλήρωμα που περίσσεψε μετριέται προσθέτοντας ερυθρά αιμοσφαίρια προβάτου με αντιπροβάτεια αιμολυσίνη (EA) που αιμολύονται με την παρουσία του ασύνδετου συμπληρώματος. Έτσι, υπάρχει μια αντίστροφα ανάλογη σχέση μεταξύ του βαθμού της αιμόλυσης στο δεύτερο στάδιο και της ποσότητας του αντιγόνου ή του συμπληρώματος στο πρώτο στάδιο. (*Basic Immunology*, σελ. 379, Lange, 1980).



ματός και του αντιγόνου που αντιδρούν είναι εκ των προτέρων γνωστές), η ποσότητα των αντισωμάτων είναι αντίστροφα ανάλογη προς το βαθμό αιμόλυσης. Ο τίτλος των αντισωμάτων είναι κατά συνθήκη ίσος προς τη μεγαλύτερη αραιώση του ορού που παρουσιάζει αιμόλυση $\geq 2^+$ (Σχήμα 10).

Μικροτεχνική της αντίδρασης σύνδεσης του συμπληρώματος

Τα αντισώματα που συνδέουν το συμπλήρωμα κατά του ιού του αναπνευστικού συγκύτιου και κατά των αδενοϊών, μετρήθηκαν σύμφωνα με τη μικροτεχνική του Takatsy, όπως τροποποιήθηκε από τον Sever^{59, 60}. Σε γενικές γραμμές περιλαμβάνει τα παρακάτω στάδια:

1. Τιτλοποίηση της αιμολυσίνης
2. Τιτλοποίηση του συμπληρώματος.
3. Αδρανοποίηση του ορού (56° C για 30' λεπτά)
4. Προσθήκη 2 σταγόνων VBS. (Veronal Buffered Saline) σε κάθε φρεάτιο. Προσθήκη 0,025 ml ορού στα αντίστοιχα φρεάτια.
5. Πρόσθεση 0,05 ml διαλύματος συμπληρώματος σε VBS που περιέχει δύο μονάδες συμπληρώματος.
6. Προσθήκη 0,025 ml από το διάλυμα των αντιγόνων στα αντίστοιχα φρεάτια.
7. Ανάδευση. Επώαση στους 4° C για 16 – 18 ώρες.
8. Ευαισθητοποίηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων προβάτου. Ταυτόχρονα επώαση των πλακιδίων στους 37° C για 15 λεπτά.
9. Προσθήκη των ευαισθητοποιημένων ερυθρών αιμοσφαιρίων προβάτου (0,05 ml) σε κάθε φρεάτιο.
10. Αγάδευση.
11. Επώαση στους 37° C για 30 λεπτά. Ανάδευση 3 φορές ανά 15 λεπτά.
12. Ανάγνωση των αποτελεσμάτων.

Χρησιμοποιήθηκαν 4 μονάδες αντιγόνου, 2 μονάδες συμπληρώματος κι εναιώρημα 2% ευαισθητοποιημένων ερυθρών αιμοσφαιρίων προβάτου. Για τον R.S.V χρησιμοποιήθηκε αντιγόνο από το



στέλεχος Long ενώ για του αδενοϊούς ο τύπος 4. (και τα δύο αντιγόνα καθώς επίσης και το λυοφιλοποιημένο συμπλήρωμα ποντικίου αγοράστηκαν από την εταιρεία Flow Laboratories Inc). Θεωρήσαμε, ότι ένα βρέφος έχει ενεργό λοίμωξη από ιό του αναπνευστικού συγκύτιου ή αδενοϊού, όταν ο τίτλος των αντισωμάτων του αυξήθηκε 4 φορές ή περισσότερο, σε δύο διαδοχικά δείγματα αίματος.

IV. Η μέτρηση της ανοσοσφαιρίνης E (IgE)

Η μέτρηση της IgE έγινε με τη μέθοδο Phadebas Pris test (pharmacia Diagnostics) από τον Dr. W. Hook NIDR, N.I.H. Η μέθοδος είναι ραδιοανοσολογική και χρησιμοποιεί δύο αντισώματα (τεχνική Sandwich). Σε χάρτινα δισκία συνδέονται αντισώματα της IgE και αφήνονται να ενωθούν με την IgE του ορού.

Στη συνέχεια προστίθεται γνωστή ποσότητα αντισωμάτων κατά της IgE που είναι σημασμένα με ραδιενεργό ιώδιο (^{125}I) και αφήνονται να αντιδράσουν με την IgE που συνδέθηκε στα χάρτινα δισκία. Αυτά αφού πλυθούν για να αποχωριστούν από την ελεύθερη ραδιενέργεια μετριοούνται σε μετρητή γ -ακτονοβολίας. Η ποσότητα της ραδιενέργειας είναι ευθέως ανάλογη με την συγκέντρωση της IgE.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΟΜΑΔΑ Ι. (1980 – 1981)

Η ομάδα αυτή, όπως αναφέρθηκε, περιλάμβανε 47 παιδιά με βρογχολίτιδα. Ως μάρτυρες χρησίμευσαν 8 υγιή παιδιά. IFN σε τίτλο 16 – 24 διεθνείς μονάδες (IU) βρέθηκε σε 57% (20/35) των βρεφών ηλικίας μικρότερης από 1 χρόνο, ενώ σε 25% (3/9) των παιδιών που ήταν μεγαλύτερα από 1 χρόνο. Η γενική συχνότητα ήταν 49% (23/47). IFN βρέθηκε σ' ένα βρέφος από την ομάδα των μαρτύρων 12% (1/8). Τόσο η διεθνής βιβλιογραφία, όσο και τα δικά μας ευρήματα δείχνουν ότι στον ορό του αίματος φυσιολογικών παιδιών ή ενηλίκων δεν κυκλοφορεί ιντερφερόνη σε ποσότητα που να ανιχνεύεται με τις σημερινές βιολογικές μεθόδους. Πιθανόν το φυσιολογικό παιδί με IFN στον ορό του να διέτρεχε μια υποκλινική ίωση. (Πίνακας 3).

ΠΙΝΑΚΑΣ 3:

IFN ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΒΡΕΦΩΝ ΜΕ ΒΡΟΓΧΙΟΛΙΤΙΔΑ (1980 – 81)						
Ηλικία (μήνες)	Αριθμός αρρώστων με IFN στον ορό (μονάδες/ml)				% IFN Θετικά	
	0	16	32	64		
Βρέφη με βρογχολίτιδα						
0 – 12	15	7	12	1	57	
12 – 36	9	3	0	0	25	
Μάρτυρες						
0 – 24	7	1			12	

Η αντική δραστηριότητα του ορού ήταν χαρακτηριστική για την IFN. Έτσι:

1. Ο ορός δεν ήταν τοξικός για τα κύτταρα των κυτταροκαλλιέργειών.



2. Δεν ανέστειλλε τον πολλαπλασιασμό του ιού σε L-κύτταρα ποντικού.

3. Η αντική δραστηριότητα του ορού εξαφανίστηκε μετά από επώαση του ορού για 1 ώρα με 10 μg/ml τρυψίνης (Sigma) (πίνακας 4).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.

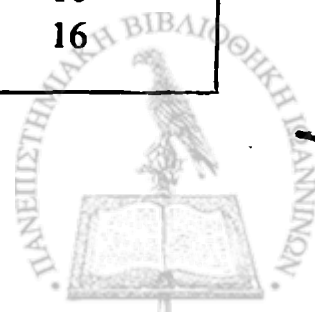
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΡΥΨΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΟΡΟΥ		
Ορός (A/A)	Τίτλος IFN	
	Χωρίς θρυψίνη	Με θρυψίνη
13	32	<8*
21	16	<8
23	16	<8
25	32	<8
37	16	<8
IFN control	32	<2

* Σημ: Τίτλοι <8 θεωρούνται αρνητικοί.

4. Για να εκδηλωθεί η αντική δράση του ορού χρειάστηκε χρόνος επώασης με τα κύτταρα περίπου 18 ωρών (πίνακας 5)

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.

ΣΧΕΣΗ ΕΠΩΑΣΗΣ ΚΑΙ ΤΙΤΛΟΥ IFN			
Πηγή IFN	Επώαση		
	30 λεπτά	2 ώρες	18 ώρες
IFN - γ	0	4 ±	32
Ορός (A/A)			
16	0	0	16
18	0	0	16
23	0	0	16
25	0	0	16



• 5. Η αντική δράση δε χάθηκε όταν ο ορός διαπηδήθηκε από ημιδιαπερατή μεμβράνη.

6. Η αντική δράση αφορούσε ιούς που ανήκαν σε διαφορετικά είδη. Έτσι, όταν χρησιμοποιήθηκε και ο ιός της εγκεφαλομυελίτιδας των αλόγων εκτός από τον ιό της αφθώδους στοματίτιδας, τα αποτελέσματα ήταν τα ίδια.

Στη συνέχεια έγινε χαρακτηρισμός της IFN σε μερικούς ορούς. Έτσι, βρέθηκε ότι 1.) Η αντική δραστηριότητα του ορού εξαφανίστηκε σε $pH = 2$ (πίνακας 6) και 2.) Η αντική δραστηριότητα του ορού δεν αδρανοποιήθηκε από αντισώματα κατά των IFN - α και - β (πίνακας 7).

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ pH ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΟΡΟΥ		
Ορός	Τίτλος IFN	
(A/A)	pH 7,2	pH 2
13	32	<8*
21	16	<8
22	16	<8
24	16	<8
28	32	<8
35	16	<8
40	16	<8
44	16	<8
IFN control (IFN - β)	64	64

*. Τίτλοι <8 θεωρούνται αρνητικοί.



ΠΙΝΑΚΑΣ 7.

ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ IFN		
Αντική δραστηριότητα που εξουδετερώθηκε %		
Πηγή IFN	Αντί - άλφα 1:100	Αντί - βήτα 1:50
IFN - α	100	0
IFN - β	0	86
IFN - γ	0	0
Ορός (Α/Α)		
44	0	0
22	3	0
24	9	0
39	16	0
42	8	23
40	33	13

Με βάση τα παραπάνω δύο ευρήματα βγαίνει το συμπέρασμα, ότι πρόκειται για IFN - γ με μόνη εξαίρεση τον ορό Νο 40 που φαίνεται ότι περιέχει μίγμα IFN α - και - γ.

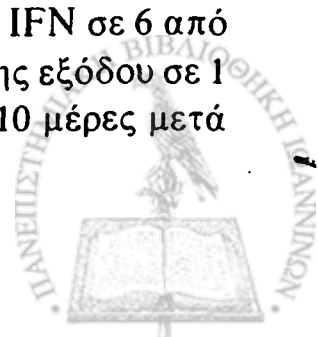
Δε βρέθηκε καμμία συσχέτιση μεταξύ IFN και φύλου, αριθμού προηγούμενων επεισοδίων βρογχολίτιδας, διάρκειας της νόσου, πυρετού, ακτινολογικών ευρημάτων και οικογενειακού ή ατομικού ιστορικού αλλεργίας.

ΟΜΑΔΑ II. (1981 - 1982)

Η ομάδα αυτή, όπως αναφέρθηκε, περιλάμβανε 52 παιδιά με βρογχολίτιδα. Ως μάρτυρες χρησίμευσαν 32 υγιή παιδιά.

α. Η μέτρηση της IFN

Την ημέρα εισαγωγής στο νοσοκομείο βρέθηκε IFN σε 6 από τα 52 παιδιά με βρογχολίτιδα (12%), ενώ την ημέρα της εξόδου σε 1 από τα 49 (2%). Από τα 36 παιδιά που εξετάστηκαν 10 μέρες μετά



την έξοδό τους, μόνο 1 είχε IFN στον ορό. Σε όλες τις περιπτώσεις ο τίτλος της IFN ήταν 16 IU. Δεν βρέθηκε IFN σε κανένα από τα 32 φυσιολογικά παιδιά (πίνακας 8).

ΠΙΝΑΚΑΣ 8.

IFN ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΒΡΕΦΩΝ ΜΕ ΒΡΟΓΧΙΟΛΙΤΙΔΑ (1981 - 82)			
Βρέφη με Βρογχολίτιδα (Ημέρες μετά την εισαγωγή)			Μάρτυρες
1 - 3	7 - 10	20	
6/52	1/49	1/35	0/32

β. Οι αντιδράσεις σύνδεσης του συμπληρώματος

Δέκα πέντε (15) από τα 33 παιδιά για τα οποία υπήρχαν διαθέσιμα διαδοχικά δείγματα ορού (45%) έδειξαν 4 φορές αύξηση του τίτλου των αντισωμάτων που συνδέουν το συμπλήρωμα κατά του ιού RSV, γεγονός που αποδεικνύει ότι η βρογχολίτιδα τους οφείλονταν σ' αυτό τον ιό. Για τους αδενοϊούς, το αντίστοιχο ποσοστό ήταν 29% (9/31). Τέλος, σε 4 από τα 31 βρέφη (13%) η λοίμωξη οφείλονταν και στους δύο ιούς (πίνακας 9).

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.

ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΒΡΟΓΧΙΟΛΙΤΙΔΑΣ (1981 - 82)			
Ιός	Ν ^ο εξετασθέντων	Ν ^ο Θετικών	Θετικά (%)
RSV	33	15	45
Αδενοϊοί	31	9	29
RSV και Αδενοϊοί	31	4	13



Όσον αφορά την κατανομή των ιών ανάλογα με την ηλικία, οι λοιμώξεις με ιό RSV σημειώθηκαν κυρίως στην ηλικία των 0–6 μηνών, ενώ για τους αδενοϊούς δε σημειώθηκε καμμία ιδιαίτερη κατανομή, σε μια ορισμένη ηλικία (πίνακας 10).

ΠΙΝΑΚΑΣ 10

ΣΧΕΣΗ ΗΛΙΚΙΑΣ ΚΑΙ ΙΩΝ ΣΕ ΒΡΕΦΗ ΜΕ ΒΡΟΓΧΙΟΛΙΤΙΔΑ (1981 – 82)			
Ηλικία (μήνες)	Αριθμός εξετασθέντων	Αριθμός αρρώστων	
		Ορολογικά θετικοί για RSV	Ορολογικά θετικοί για Αδενοϊούς
0 – 16	16	13	4
6 – 12	8	0	1
12 – 24	9	2	4

γ. Η συγκέντρωση της ανοσοσφαιρίνης E (IgE)

Κατά καιρούς έχουν δημοσιευθεί εργασίες που δείχνουν ότι η αυξημένη συγκέντρωση της IgE στον ορό είναι ένας έμμεσος δείκτης για αλλεργική προδιάθεση ενός ατόμου^{61, 62}. Με αυτό το σκεπτικό μετρήθηκε στα παιδιά με βρογχιολίτιδα και τα φυσιολογικά παιδιά αλλά δεν βρέθηκε καμμία στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσά τους.



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σ' αυτή την εργασία βρέθηκε, ότι η βρογχιολίτιδα στην Ελλάδα, συνήθως οφείλεται στον ιό του αναπνευστικού συγκύτιου. Παρόμοια είναι τα ευρήματα ερευνητών σε άλλα μέρη του κόσμου. Βρέθηκε επίσης ότι 29% των περιπτώσεων βρογχιολίτιδας οφείλονται σε αδενοϊούς. Στις Η.Π.Α., οι αδενοϊοί είναι υπεύθυνοι για λιγότερο από 5% των περιπτώσεων βρογχιολίτιδας αλλά εκεί έχουν αναφερθεί μεμονωμένες περιπτώσεις βαριάς και συχνά θανατηφόρας αρρώστιας⁸. Μέχρι τώρα έχουν ανακοινωθεί δύο ομάδες παιδιών που είναι ιδιαίτερα επιρρεπή στους αδενοϊούς, οι Πολυνήσιοι της Νέας Ζηλανδίας και οι αυτόχθονες κάτοικοι (Ινδοί και Μέτις) του Κεντρικού Καναδά. Είναι γνωστό ότι οι λοιμώξεις των νεογνών με αδενοϊούς, μπορούν να προκαλέσουν βαριά μη αναστρέψιμη βλάβη του πνευμονικού παρεγχύματος και χρόνια πνευμονοπάθεια. Περίπου 60%, των παιδιών με βρογχιολίτιδα από αδενοϊούς εμφανίζουν στοιχεία χρόνιας πνευμονοπάθειας. Επίσης, η αποφρακτική βρογχιολίτιδα, μια χρόνια μορφή βρογχιολίτιδας, εμφανίζεται συχνότερα μετά από λοιμώξεις με αδενοϊούς^{63 - 65} (Σχήμα 11). Για τους παραπάνω λόγους νομίζουμε ότι τα ευρήματά αυτής της μελέτης είναι σημαντικά όσον αφορά την πρόγνωση της αρρώστιας και τη μελλοντική εξέλιξη αυτών των παιδιών.

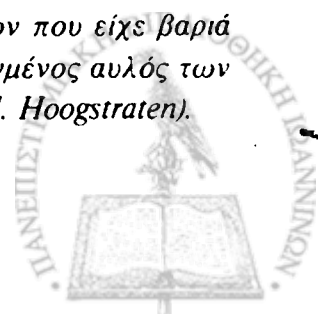
Οι παθογενετικοί μηχανισμοί της βρογχιολίτιδας δεν είναι ακόμα γνωστοί. Όμως, όπως ήδη έχει αναφερθεί, υπάρχουν πολλά στοιχεία για το ότι η βρογχιολίτιδα δεν είναι μια απλή ίωση αλλά έχει δύο σκέλη: ένα ιικό κι ένα ανοσολογικό. Η παράδοξη επιδείνωση της νόσου μετά από ευαισθητοποίηση των παιδιών με εμβόλιο νεκρού ιού αναπνευστικού συγκύτιου, η ομοιότητα της κλινικής της εικόνας με αυτή του άσθματος και η μεγαλύτερη συχνότητα άσματος σε παιδιά με βρογχιολίτιδα είναι οι πρώτες κλινικές παρατηρήσεις που ενισχύουν αυτή την άποψη².

Οι Welliver και συν. έδειξαν⁴, ότι, στα ρινοφαρυγγικά εκκρίματα παιδιών με λοίμωξη του αναπνευστικού από ιό RSV υπάρχει α-





Σχήμα 11. Αποφρακτική βρογχιολίτιδα σε παιδί 1,5 χρόνων που είχε βαριά βρογχιολίτιδα από αδενοϊό και πνευμονία πριν 1 χρόνο. Ο αποφραγμένος αυλός των βρογχιολίων είναι γεμάτος από συνδετικό ιστό με αγγείωση (Dr. J. Hoogstraten).



νοσοσφαιρίνη Ε που στρέφεται ειδικά εναντίον του. Η συγκέντρωση αυτής της ανοσοσφαιρίνης είναι μεγαλύτερη στα παιδιά που έχουν συριγμό απ' ό,τι στα παιδιά με λοίμωξη από τον ίδιο ιό που δεν έχουν συριγμό^{4, 66}. Επιπλέον οι ίδιοι ερευνητές έχουν βρεί ότι, η κυτταρική ανοσία όταν μετρείται *in vitro*, είναι σημαντικά αυξημένη σε παιδιά με βρογχιολίτιδα από ιό RSV σε σχέση με παιδιά που έχουν πνευμονία ή νόσο του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος οφειλόμενη στον ίδιο ιό. Τέλος, έχουν δείξει, ότι, υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της βαρύτητας της αρρώστειας, της τάσης για υποτροπή του συριγμού και της έντασης της απόκρισης της κυτταρικής ανοσίας^{15, 67}.

Είναι γενικά παραδεκτό σήμερα ότι, η IFN είναι μια ουσία με σημαντικές ανοσορυθμιστικές ιδιότητες. Η IFN μπορεί να τροποποιήσει πολλές ανοσολογικές αντιδράσεις, όπως είναι η παραγωγή των αντισωμάτων, η κυτταρική ανοσία, οι κυτταροτοξικές λειτουργίες των λεμφοκυττάρων, οι λειτουργίες των μακροφάγων και η αναφυλακτική αντίδραση³³. Η IFN - γ που βρέθηκε να υπάρχει στη βρογχιολίτιδα, είναι μια λεμφοκίνη που παράγεται μετά από ερεθισμό ευαισθητοποιημένων Τ - λεμφοκυττάρων και είναι η πιο δραστική από όλες τις IFN. Μελέτες *in vitro* έδειξαν ότι η IFN αυξάνει την μέσω IgE έκλυση ισταμίνης και τη χημειοταξία των βασεόφιλων του αίματος⁶. Άλλες μελέτες έδειξαν ότι η IFN αυξάνει την παραγωγή της προσταγλαδίνης Ε (PGE) που είναι ισχυρός φλεγμονογόνος παράγοντας σε ανθρώπινα κύτταρα^{42, 43}.

Το γεγονός ότι βρέθηκε IFN στον ορό παιδιών με βρογχιολίτιδα σε ποσοστό 12 - 49% δείχνει ότι, υπάρχει πολύ πιο συχνά στη θέση παραγωγής της, δηλ. στο αναπνευστικό επιθήλιο. Είναι γνωστό ότι, μόνο εφόσον η συγκέντρωσή της στο σημείο παραγωγής της είναι πολύ μεγάλη, διαχέεται στη κυκλοφορία³¹. Σ' αυτή την εργασία δείχνεται ότι υπάρχει IFN σε ασθενείς με βρογχιολίτιδα. Γι αυτό είναι πιθανό ότι η IFN ίσως αυξάνει τις ανοσολογικές και φλεγμονώδεις αντιδράσεις στο αναπνευστικό επιθήλιο.

Η μεγάλη διαφορά στα ποσοστά των παιδιών με IFN στον ορό, ανάμεσα στις δύο ομάδες παιδιών που εξετάστηκαν, νομίζουμε



ότι οφείλεται στο ότι τα στελέχη των ιών ήταν διαφορετικά· είναι γνωστό ότι κάθε ιός έχει στελέχη που είναι λιγότερο ή περισσότερο αντιγονικά και παράγουν, επομένως, μικρότερες ή μεγαλύτερες ποσότητες IFN³⁵.

Η ανεύρεση IFN – γ που παράγεται, από ευαισθητοποιημένα T – λεμφοκύτταρα και όχι IFN – α όπως συμβαίνει στη συντριπτική πλειοψηφία των ιώσεων, είναι ένα ισχυρό στοιχείο που συνηγορεί για τη συμμετοχή ανοσολογικής αντίδρασης τύπου IV στην παθογένεια της νόσου. Τα ευαισθητοποιημένα T – λεμφοκύτταρα μπορεί να προέρχονται από τη μητέρα μέσω του γάλακτος⁶⁸, ή μπορεί να οφείλονται σε προηγούμενη λοίμωξη με τους ίδιους ιούς.

Η ηλικία φαίνεται επίσης ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη βρογχολίτιδα. Η βρογχολίτιδα είναι συχνότερη και συνήθως πιο βαριά στα νεογνά και στα μικρά βρέφη, ενώ είναι πολύ σπάνια στην παιδική ηλικία. Σ' αυτό φαίνεται ότι ευθύνονται εκτός απ' τους άλλους και ανατομικοί παράγοντες. Όπως προαναφέρθηκε οι περιφερικές αεροφόροι οδοί στα βρέφη (και ιδίως στα νεογνά) είναι δυσανάλογα στενές σε σχέση με τους ενήλικες⁷⁰. Επομένως, κάθε ανωμαλία στο ύψος των μικρών αεραγωγών όπως λχ. οίδημα, βύσματα από ινική ή επιθηλιακά κύτταρα ή βρογχόσπασμος, αυξάνει κατά πολύ περισσότερο τις αντιστάσεις τη ροή του αέρα στα βρέφη σε σχέση με τους ενήλικες. Εκτός όμως από ανατομικούς λόγους, είναι γνωστό ότι μεγάλες ποσότητες IFN σε νεογέννητα ποντίκια, που είτε δίνονται εξωγενώς είτε παράγοντα ενδογενώς σαν αποτέλεσμα λοίμωξης με ιό λεμφοκυτταρικής χοριομηνιγγίτιδας, προκαλούν σπειραματονεφρίτιδα και αναστολή της αύξησης των σπλάχνων⁶⁹. Όπως αναφέρθηκε, IFN βρέθηκε κυρίως σε μικρότερα βρέφη (57% σε βρέφη 1 χρόνου, 25% σε βρέφη 1 χρόνου). Είναι πιθανό ότι μεγάλες ποσότητες IFN σε μικρές ηλικίες παιδιών με βρογχολίτιδα ευθύνονται, εν μέρει τουλάχιστον, για τις παθολογικές λειτουργικές δοκιμασίες των πνευμόνων που έχουν αυτά τα παιδιά πολλά χρόνια μετά τη βρογχολίτιδα²⁷.

Με βάση τα όσα ήδη έχουν αναφερθεί, αν θελήσουμε να δώσουμε ένα καθαρά θεωρητικό πρότυπο για την παθογένεια της βρογ-



χιολίτιδας κάτω από το φως των παλιών και νέων ευρημάτων της έρευνας αυτό θα μπορούσε να είναι το παρακάτω: Τα παιδιά που παθαίνουν βρογχιολίτιδα έχουν κάποια ανωμαλία στους ρυθμιστικούς μηχανισμούς των Β και Τ – λεμφοκυττάρων με αποτέλεσμα ν' αντιδρούν στους ιούς (α) με παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων IgE (τουλάχιστον τοπικά στο αναπνευστικό επιθήλιο) και (β) με παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων λεμφοκινών μια από τις οποίες είναι και η IFN – γ. Η IFN – γ αυξάνει την μέσω της IgE έκλυση της ισταμίνης και των άλλων αγγειοδραστικών ουσιών των βασεόφιλων και των μαστοκυττάρων καθώς επίσης και την παραγωγή PGE. Έτσι προκαλεί ή επιτείνει τη φλεγμονή και το βρογχόσπασμο.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Η βρογχιολίτιδα στην Ελλάδα οφείλεται κυρίως στον ιό του αναπνευστικού συγκύτιου (ποσοστό 45%).

2. Η συχνότητα της βρογχιολίτιδας από αδενοϊούς στην Ελλάδα είναι σημαντικά αυξημένη (29% έναντι 5% των Η.Π.Α.). Με δεδομένο ότι η βρογχιολίτιδα από αδενοϊούς έχει βαρύτερη κλινική εικόνα και συχνότερα μακροχρόνιες επιπλοκές, η σημασία του ευρήματος είναι φανερή.

3. Στη βρογχιολίτιδα υπάρχει IFN στον ορό του αίματος των αρρώστων σε ποσοτό 12 – 49%. Γι αυτό είναι πιθανό ότι βρίσκεται πολύ πιο συχνά στο σημείο της λοίμωξης, δηλ. στο αναπνευστικό επιθήλιο.

4. Η IFN ανευρίσκεται μόνο στην οξεία φάση της νόσου και είναι τύπου – γ.

5. Πιθανά η IFN προκαλεί ή επιτείνει μερικές από τις ανοσολογικές και φλεγμονώδεις αντιδράσεις που παρατηρούνται στη βρογχιολίτιδα.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σ' αυτή την εργασία μελετήθηκαν δύο ομάδες παιδιών με βρογχολίτιδα. Η πρώτη ομάδα (1980 – 1981) περιλάμβανε 47 παιδιά με βρογχολίτιδα και μετρήθηκε η IFN στον ορό του αίματος την ημέρα εισαγωγής τους στο νοσοκομείο. Ως μάρτυρες χρησίμευσαν 8 φυσιολογικά παιδιά. Η δεύτερη ομάδα (1981 – 1982) περιλάμβανε 52 παιδιά με βρογχολίτιδα και μετρήθηκαν (α) Η IFN, (β) αντισώματα που συνδέουν το συμπλήρωμα κατά του ιού του αναπνευστικού συγκύτιου και αδενοϊών και (γ) IgE την ημέρα εισαγωγής στο νοσοκομείο, κατά την έξοδο και 10 μέρες μετά την έξοδο. Ως μάρτυρες χρησίμευσαν 32 υγιή παιδιά. Στην πρώτη ομάδα βρέθηκε ιντερφερόνη σε 23 από τα 47 παιδιά με βρογχολίτιδα (49%) και σε 1 από τα 8 υγιή παιδιά (12%). Η ιντερφερόνη ήταν τύπου γ . Στη δεύτερη ομάδα βρέθηκε ιντερφερόνη σε ποσοστό 12% (6/52) στη βρογχολίτιδα στην οξεία φάση της νόσου και 1/49 (2%) κατά την έξοδο από το νοσοκομείο. Σαράντα πέντε στα εκατό (45%) (15/33) των αρρώστων παρουσίασε ορολογικές ενδείξεις για λοίμωξη με ιό του αναπνευστικού συγκύτιου, 29% (9/31) για αδενοϊούς και 13% (4/31) και για τους δύο ιούς. Συζητιέται η παθογενετική σημασία της παρουσίας της IFN στη βρογχολίτιδα και η σημασία του ψηλού ποσοστού λοιμώξεων από αδενοϊούς σε βρέφη με βρογχολίτιδα.



S U M M A R Y

In this study, two groups of infants with bronchiolitis were studied. The first group (1980–1981) included 47 infants with bronchiolitis and the IFN was measured in their sera on the day of hospital admission. Eight(8) normal infants were used as normal controls. The second group (1981 – 1982) included 52 infants with bronchiolitis and the substances measured in their sera were a) IFN, b) complement fixating antibodies against Respiratory Syncytial Virus (RSV) and adenoviruses and (c) IgE level on the day of hospital admission, on the day of discharge and 10 days after their discharge. Thirty–two (32) normal infants were used as normal controls. In the first group 23 out of 47 infants (49%) with bronchiolitis had IFN in their sera, while that was observed in 1 out of 8 normal controls (12%). Serologic characterization showed that IFN was type γ . In the second group IFN was found in 6 out of 52 (12%) infants during the acute phase of the disease and in 1 out of 49 (2%) on the day of discharge from the hospital. No IFN was found among the 32 normal controls. Forty–five per cent (45%) (15/33) of the patients had serological evidence for RSV infection, 29% (9/31) for adenoviruses infection and 13% (4/31) for both.

The pathogenetic importance of the presence of IFN in bronchiolitis is discussed as well as the importance of the high incidence of adenoviruses infections in Greek infants with bronchiolitis.



IV ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Editorial: Bronchiolitis in infancy and childhood. *Brit. Med. J.* 16: 428, 1980.
2. McIntosh K. and Fishaut J.M: Immunopathologic mechanisms in lower respiratory tract disease of infants due to respiratory syncytial virus. *Prog. Med. Virol.* 26: 94, 1980.
3. McIntosh K.: Bronchiolitis and asthma: Possible common pathogenic pathways. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 57 (6): 595, 1976.
4. Welliver R., Wong D., Sun M., Middleton E., Vaughan, R. and Ogra, P.: The development of respiratory syncytial virus – specific IgE and the release of histamine, in nasopharyngeal secretions after infection. *N. Engl. J. Med.* 305: 15, 1981.
5. Hooks J.J., Moutsopoulos H.M., and Notkins A.L.: The role of Interferon in immediate hypersensitivity and autoimmune diseases. *Ann. N.Y.A.S.*, 350: 21, 1980.
6. Ida S., Hooks J.J., Siraganian R.P., and Notkins A.L.: Enhancement of IgE – mediated histamine release from human basophils by viruses: Role of interferon. *J. Exp. Med.* 145: 892, 1977.
7. Gardner P.S., and McQuillin, J.: Application of immunofluorescent antibody technique in rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infection. *Br. Med. J.* 3: 340, 1968.
8. Wohl M.E.B., and Chernick V.: Bronchiolitis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 118: 759, 1978.
9. Lennette E.H., and Schmidt N.J.: Diagnostic procedures for Viral and Rickettsial infections. Fourth Edition, 1969. American Public Health Association, N.Y.
10. Hall C.B., Geiman J.M., Biggar R., Kotok D.J., Hogan, P.M. and Douglas R.G.Jr.: Respiratory syncytial virus infection within families. *N. Engl. J. Med.* 294: 414, 1976.
11. Gardner P.S.: Respiratory syncytial virus infections. *Postgrad. Med. J.* 49: 788, 1973.



12. Glezen W.P., Loda F.A., Clyde W.A. Jr., Senior R.S., Sheaffer C.I. Conley W.G. and Denney F.W.: Epidemiologic patterns of acute lower respiratory tract disease of children in a pediatric group practice. *J. Pediatr.* 78: 379, 1971.

13. Aherne W., Bird T., Court S.D.M., Gardner P.S., and McQuillin J.: Pathological changes in virus infections of the lower respiratory tract in children. *J. Clin. Pathol.* 23:7, 1970.

14. Kim H.W., Leikin S.L., Arrobio J., Brandt C.D., Chanock R. M., and Parrott R.H.: Cell – mediated immunity to respiratory syncytial virus induced by inactivated vaccine or by infection. *Ped. Res.* 10: 75, 1967.

15. Welliver R.C., Kaul A., and Ogra P.L.: Cell – mediated immune response to respiratory syncytial virus infection: Relationship to the development of reactive airway disease. *J. Pediatr.* 94: 370, 1979.

16. Macklin C.C.: Alveolar pores and their significance in the human lung. *Arch. Pathol.* 21: 202, 1936.

17. Gardner P.S.: Diagnosis of bronchiolitis: How etiologic, pathologic and clinical diagnosis can be made in a correlated fashion. *Ped. Res.*, 11: 254, 1977.

18. Current Pediatric diagnosis and treatment. Lange 1982.

19. Mellins R.B.: Bronchiolitis: Comments on pathogenesis and treatment. *Ped. Res.*, 11: 268, 1977.

20. Bruhn F.W., Mokrohisky S.T., and McIntosh K.: Apnea associated with respiratory syncytial virus infections in young infants. *J. Pediatr.*, 90: 382, 1977.

21. Simpson W., Hacking P.M. Court S.D.M., and Gardner P.S.: The radiological findings in respiratory syncytial virus infections in children. I. Definitions and interobservations in the assesment of abnormalities on the chest x – ray. *Ped. Radiol.* 2: 97, 1974.

22. Simpson W. Hacking P.M., Court S.D.M. and Gardner P.S.: The radiological findings in respiratory syncytial virus infections in children. II. The correlation of radiological categories with clinical and virological findings. *Ped. Radiol.* 2: 155, 1974.



• 23. Gurwitz D., Mindorff C. and Levison H.: Increased incidence of bronchial reactivity in children with a history of bronchiolitis. *J. Pediatr.* 98 (4): 551, 1981.

24. Eisen A.H., and Bacal H.L.: The relationship of acute bronchiolitis to bronchial asthma – a 4-to-14 year follow-up. *Pediatrics* 31: 859, 1963.

25. Witting H., Cranford N., and Glaser J.: The relationship between bronchiolitis and childhood asthma. *J. Allergy.* 30 (1): 19, 1959.

26. Rooney J.C., and Williams, R: The relationship between proven viral bronchiolitis and subsequent wheezing. *J. Pediatr.* 79: 744, 1971.

27. Kattan M., Keens T., Lapierre J., Levison H., Bryan C. and Reilly B.: Pulmonary function abnormalities in symptom free children after bronchiolitis. *Pediatrics*, 59: 683, 1977.

28. Smith T.: Long-term significance of bronchiolitis. *J. Pediatr.* 99 (6): 1001, 1981.

29. Wohl M.E.B., Stigol, L.C. and Mead J.: Resistance of the total respiratory system in healthy infants and infants with bronchiolitis. *Pediatrics*, 43: 495, 1969.

30. Isaacs A., and Lindenmann J.: Virus interferon. I. The interferon. *Proc. R. Soc. Ser. B.*, 147: 258, 1957.

31a. Boumpas D.T. and Tsokos G.C. Pathophysiologic aspects of lymphokines. *Clinical Immunology Reviews*, 4: 201, 1985.

31b. Bocci Velio.: Production and role of interferon in physiological conditions. *Biol. Rev.*, 56: 49, 1981.

32. Baron S.: The interferon system. *A.S.M. News*, 45 (7): 385, 1979.

33a. Hooks J. and Detrick – Hooks, J.: Immunoregulatory actions of interferon. *Molec. Aspects. Med.*, 5:183, 1982.

33b. Preble O and Friedman R. Interferon induced alterations in cells relevance to viral and non viral diseases. *Lab. Investig* 49, 4, 1983.

33c. Μπούμπας Δ.Τ. και Τσώκος Γ.Χ.: Λεμφοκίνες, *Materia Medica Greca* 12(5), 413, 1984.

34. Hooks J. and Detrick – Hooks, B.: Interferon: Identification and assay. *Lab. Mgt.*, 18: 36, 1980.



35a. Baron S., Howie V., Langford E., MacDonald E., Stanton, G., Reitmeyer J. and Weigent, D.: Induction of interferon by bacteria, protozoa, and viruses: Defensive role. *Tex. Rep. Biol. Med.*, 41: 150, 1981 – 1982.

35b. Samuel LE Mechanism of Interferon action *Proc. Ntl. Acad. Sci USA*. 7. 600.1975.

36. Notkins A.L.: Viral infections: Mechanisms of immunologic defence and injury. *Hosp. Pract.*, Sept: 65, 1974.

37. Billiau A.: The clinical value of interferons as antitumor agents. *Eur. J. Carcer Clin. Oncol.*, 17 (9): 949, 1981.

38. Pollard R.B.: Interferons and Interferon Inducers: Development of clirical usefulness and theurapeutic promise. *Drugs* 23:37, 1982.

39a. Priestman T.J.: Interferon: An anti – cancer agent? *Cancer treatment Reviews* 6: 223, 1979.

39b. Boumpas D.T. Tsokos G.C: Oncogenes and Autoimmunity. *Anticancer Res* 1986.

40a. Stiehm E.R.: Interferon: Immunobiology and clinical significance. *UCLA Conference. Ann. Int. Med.*, 96: 80, 1982.

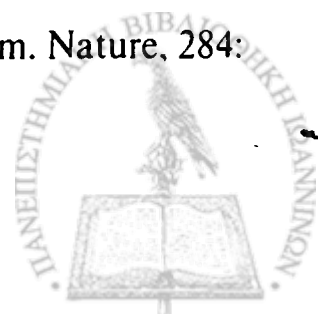
40b. Quasade J. Revben J. Gutterman J: Alpha interferon for induction of remission in hairy cell laukemia. *N. Engl. J. Med.* 310, 15. 1984.

41. Yaron M., Yaron I., Wiletzki C., and Zor U.: Interrelationship between stimulation of PGE and hyaluronate production by poly(I) – poly(C) and interferon in synovial fibroblast culture. *Arthritis Rheum.*, 21: 694, 1977.

42. Yaron M., Yaron I., Gurari – Rotman D., Revel M., Linder H.R. and Zor, U.: Stimulation of Prostaglandin E productions in cultured fibroblasts by poly (I) – poly(C) and human interferon. *Nature* 267: 457, 1977.

43. Fitzpatrick F.A., and Stringfellow D.A.: Virus and interferon effects on cellural prostaglandin biosynthesis. *J. Immunol.*, 125: 431, 1980.

44. Bloom B.R: Interferons and the immune system. *Nature*, 284: 593, 1980.



45. Lett – Brown M.A., Aelvoet M., Hooks J.J., Georgiades J.A., Thueson D.O., and Grant J.A.: Enhancement of basophil chemotaxis in vitro by virus – induced interferon. *J. Clin. Invest.* 67: 547, 1981.

46. Hooks J.J., Moutsopoulos H.M., Geis S.A., Stahl, N.I., Decker J.L., Notkins A.L.: Immune Interferon in the circulation of patients with autoimmune disease. *N. Engl. J. Med.* 301: 5, 1979.

47. Moutsopoulos H.M., Hooks J.J.: Interferon and Autoimmunity. *Clin. Exper. Rheumatol.* 1: 81, 1983.

48. Trown P., Dennin R., Kramer M., Connell E.: Antibodies to human leucocyte interferon in cancer patients. *Lancet.* 15: 81. 1983.

49. Cunningham – Rundles S., McCravey J.W., Krown S.E., Steward W.W., Oettgen H.F., Good R.A. and Dupont B.: Increased natural killer (NK) activity in vitro during interferon therapy in lung cancer. *Am. Fed. Clin. Res. (Oncology) (Abstr)* 413 A.

50. Gresser I.: Antitumor effects of interferon. In Becker, F. (Ed) *Cancer: a comprehensive treatise.* Vol. 5. Plenum Press. New York, 1977.

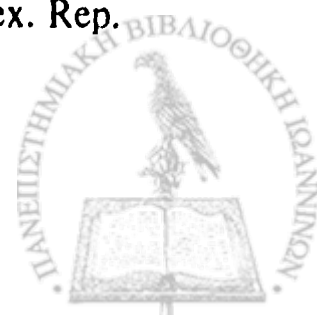
51. Kadish A.S., Doyle A.T., Steinhauer E.H. and Ghossein N. A.: Natural cytotoxicity and interferon production in human cancer: Deficient natural killer activity and normal interferon production in patients with advanced disease. *J. Immunol.* 127(5): 1817, 1981.

52. Herberman R.R., Ortaldo J.R. and Bonnard G.D.: Augmentation by interferon of human natural and anti – body – dependent cell – mediated cytotoxicity. *Nature.* 277: 222, 1979.

53. Scullard G.H., Pollard R.B., Smith L.J.: Antiviral treatment of chronic hepatitis B virus infection. I. Changes in viral markers with interferon combined with adenine arabinoside. *J. Infect. Dis.* 143: 772, 1981.

54. Baer G.M., Shaddock J.H., Moore S.A., Yager P.A. and Baron S.: Successful prophylaxis against rabies in mice and rhesus monkeys: the interferon system and vaccine. *J. Infect. Dis.* 136: 28, 1977.

55. Emodi G. and Rulli Th.: Antiviral action of interferon in man: use of interferon in varicella – zoster infections in man. *Tex. Rep. Biol. Med.* 35: 511, 1977.



56. Merigan T.C., Rand K.H., Pollard R.B., Abdallah P.S., Jordan G.W., and Fried R.P.: Human leucocyte interferon for the treatment of herpes zoster in patients with cancer. *N. Engl. J. Med.* 298: 981, 1978.

57. Kumar S., and Baron S.: Non interferon cellural products capable of virus inhibition. *Tex. Rep. Biol. Med.* 41:395, 1981 – 82.

58. Stites D.P.: Complement fixation, in *Basic and Clinical Immunology*. Third Edition. Lange 1980, pp. 379 – 380.

59. A Guide to performance of the "Standardized Complement Fixation Method and Adaptation to Micro test". First Edition. July 1969, USDHEW – PHS, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia 30333.

60. Sever J.L., Huebner R.J., Castellano A. and Bell J.A.: Serologic diagnosis "en masse" with multiple antigens. *Am. Rev. Resp. Dis.* 88(2): 342, 1963.

61. Kjellman N.: Predictive value of high IgE levels in children. *Acta Paediatr. Scand.* 65: 465, 1976.

62. Hill H.R., Quie P.G.: Raised serum IgE levels and defective neutrophil chemotaxis in three children with eczema and recurrent bacterial infections. *Lancet* 1: 183, 1974.

63. Gold R., Wilt J.C., Adhikari P.K. and Macphson R.I.: Adenoviral pneumonia and its complications in infancy and childhood. *J. Can. Assoc. Radiol.* 20: 218, 1969.

64. Becroft D.M.O.: Bronchiolitis obliterans, brochiectasis, and other sequelae of adenovirus type 21 infection in young children. *J. Clin. Pathol.* 24: 72, 1971.

65. Azizirad H., Polyas G., Borns P.F., and Chaten J.: Bronchiolitis obliterans. *Clin. Ped.* 14: 572, 1975.

66. Welliver R., Kaul T. and Ogra P.: The appearance of cell bound IgE in respiratory tract epithelium after respiratory syncytial virus infection. *N. Engl. J. Med.* 303 (21): 1198, 1980.

67. Bertorero A., Stagni G., Caprino D., Sonaglia F., Velardi A.: Cell – mediated immunity in RSV bronchiolitis. *J. Pediatr.* 97 (2): 334, 1980.



• 68. Ogra S.S., and Ogra P.L.: Immunology aspects of human colostrum and milk II. *J. Pediatr.* 92: 550, 1978.

69. Gresser I., Morel-Maroger L., Riviere Y., Guillon J-C., Tovey M.G., Woodrow D., Dloper J.C. and Moss J.: Interferon-induced disease in mice and rats. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 350: 12, 1980.

70. Hogg J.C., Williams J., Richardson J.B., Macklem P.T., and Thurlbeck W.M.: Age as a factor in the distribution of lower airway conductance and in the pathologic anatomy of obstructive lung disease. *N.Engl. J. Med.* 282: 1283, 1970.

